口腔扁平上皮癌に対する Etretinate (ビタミン A 酸誘導体) の
臨床使用経験
——作用機序に関する考察——

小林一光*・中井道明*・築谷康二*・山上隆裕*
二宮富久*・森 昌彦*・相楽貞文*,**・大草幸夫**,**
太田豊彦***・立松憲親***・岡 伸光***

Clinical experiences of Etretinate (retinoic acid analog)
in oral squamous cell carcinoma
——References for mechanisms of anti-tumor activity——

Kazumitsu KOBAYASHI*・Michiaki NAKAI*・Kouji TSUKITANI*
Takahiro YAMAGAMI*・Tomihisa NINOMIYA*・Masahiko MORI*
Sadafumi SAGARA*,**・Yukio OOGUSA*,**・Toyohiko OOTA***
Noritaka TATEMATSU***・Nobumitsu OKA***

Abstract: Etretinate, retinoic acid analog, was administered to oral squamous cell carcinoma (16 cases) with combination chemotherapy; bleomycin or pepleomycin, radiation and radical operation. Clinically, neoplastic masses disappeared or tumor growth markedly inhibited with Etretinate therapy as compared to conventional chemotherapy. Tumors in six cases almost disappeared and did not grow in nine cases.

The effects of Etretinate administration were characterized by the existense of necrotic defects starting from tumor surfaces. Histopathologic features in the tumor tissues administered with Etretinate showed an intene vacuolization and extending intercellular spaces in treated tumor cells. Etretinate administration was more effective in the well keratinized type of the squamous cell carcinoma, and it was recognized wide variations to anti-tumor functions and side effects. Dermatological disorders, itchness and epidermis abrasion were usual side effects and were improved by stopping administration. Combination chemotherapy with Etretinate was useful to reduce or inhibite tumor growth in oral squamous cell carcinoma.

Key words: vitamin A, etretinate, squamous cell carcinoma

* 朝日大学歯学部口腔外科第1講座

(主任: 森 昌彦教授)

** 住友病院歯科口腔外科

(主任: 木村二郎部長)

*** 岐阜大学医学部口腔外科学教室

(主任: 岡 伸光教授)

* First Department of Oral Surgery, School of Dentistry, Asahi University (Chief: Prof.

Masahiko Mori)

** The Section of Dental and Oral Surgery, Sumitomo Hospital (Chief: Dr. Jirou Kimura)

*** Department of Oral Surgery, Faculty of Medicine, Gifu University (Chief: Prof. Nobumitsu Oka)

受付日: 昭和60年5月15日

緒 言

悪性腫瘍に対する制癌剤療法は近年著しい発展をとげているが^{1,2)}、その中でビタミンAならびにビタミンA酸誘導体が人の角化病変や動物の扁平上皮癌に対して有効であることが報告された^{3~11)}。ビタミンAは制癌剤・放射線治療と併用して頭頸部癌の治療に用いられている^{12~14)}。これらの角化病変に対する効果やさらに実験扁平上皮癌に対する作用は不明の点が多いものの、その効果については大変興味もたれている。われわれの施設においてビタミンA酸誘導体である Retinoid (Ro 10-1670), Etretinate (Ro 10-9359) を実験上皮癌に使用して、単独投与によりその腫瘍増殖抑制効果が確認された^{15~18)}。これはマウス皮膚癌に対して全身投与、局所塗布において腫瘍は著明に縮小、脱落を示し^{15,16,18)}、ハムスター頬嚢癌に対しても変性崩壊が著しかった¹⁷⁾。一方ビタミンA酸誘導体は人の皮膚過角化病変、白板症等の口腔粘膜角化病変に対しても有効性が認められている^{7~11)}。

以上の経過からわれわれは昭和55年より特定の進展口腔癌に Etretinate の多剤併用療法を試み著しい腫瘍縮小効果が認められたのでこれらをまとめて報告する。

症 例

表1のごとく16例の扁平上皮癌患者に併用療法として用いた。これらの癌は上顎洞原発のものを含めすべてその大きさが肉眼的あるいはX線的に経時的に観察可能な

表 1 Etretinate 使用症例

症 例	年齢	性別	原発巣	T. N. M. 分類
1	75	♂	歯 肉	T 2. N 0. M 0.
2	59	♂	上顎洞	T 3. N 1. M 0.
3	68	♂	舌	T 3. N 1. M 0.
4	48	♀	歯 肉	T 2. N 0. M 0.
5	72	♂	歯 肉	T 3. N 0. M 0.
6	82	♂	歯 肉	T 3. N 1. M 0.
7	61	♀	舌	T 2. N 0. M 0.
8	67	♂	舌	T 2. N 0. M 0.
9	46	♂	歯 肉	T 3. N 1. M 0.
10	39	♂	上顎洞	T 3. N 2. M 0.
11	51	♂	上顎洞	T 2. N 0. M 0.
12	87	♂	舌	T 3. N 2. M 0.
13	74	♀	歯 肉	T 3. N 2. M 0.
14	63	♂	口腔底	T 3. N 2. M 0.
15	76	♂	頬粘膜	T 3. N 2. M 0.
16	36	♂	歯 肉	T 3. N 0. M 0.

表 2 併用療法と併用効果

症 例	Etretinate 総投与量 (mg)	併用療法	臨床効果*	副作用
1	6100	BLM 270 mg PSK 204 g	著 効	痒 疹
2	1200	BLM 120 mg PSK 72 g Ope	不 変	表皮剥離
3	1750	⁶⁰ Co 2000 rad PEP 60 mg 5-FU 2000 mg Ope	有 効	痒 疹
4	700	BLM 45 mg 5-FU 2000 mg Ope	不 変	痒 疹
5	1050	PEP 60 mg Ope	不 変	
6	750	PEP 30 mg	著 効	
7	1350	BLM 225 mg イオン導入	有 効	
8	400	PEP 20 mg Ope	不 変	
9	3450	BLM 150 mg PSK 180 g Ope	不 変	表皮剥離
10	4350	BLM 150 mg PSK 159 g Ope	著 効	表皮剥離
11	2625	BLM 150 mg Ope	有 効	
12	650	PEP 45 mg	著 効	
13	1650	PEP 60 mg Ope	著 効	表皮剥離
14	975	PEP 25 mg	有 効	
15	2750	⁶⁰ Co 1200 rad OK 432 24.8 KE PSK 222 g Ope	不 変	
16	1700	PEP 105 mg Ope	著 効	表皮剥離

* 臨床効果は 頭頸部癌治療効果判定基準 (案) による。

ものである。患者の年齢は36~87歳であり、高齢者や種々な基礎疾患を有している者もあった。原発巣は歯肉7例、舌4例、上顎洞3例、口底、頬粘膜各1例であり、TNM 分類ではT2、5例、T3、11例、N0、7例、N1、4例、N2、5例でMはすべて認めなかった。

1. Etretinate の投与方法および併用療法

Etretinate は日本ロシュ社より供与されたものを使用した。投与量は原則として1日量50mg(25mgカプセル、朝・夕)とし、副作用の出現するまで可及的長期連続投与をした。多剤併用療法のため投与量の基準はなく口腔癌に対する一般的な療法にEtretinateを併用した。このため投与量合計は最低400mgから最大6,100mg

写真 1 (症例15) 腫瘍脱落後の組織欠損

写真 2 (症例 2) Etretnate 投与の肉眼的経過

Bone Scintigraphy (^{99}Tc)

図 1 (症例 2) 投与前の骨シンチグラフ

の範囲内にあり、平均約 2,000 mg であるが、表 2 のごとく 1,000 mg 以下が 5 例あり、これは早期に手術が可能な例であった。ついで 1,000 mg 台が 6 例、2,000 mg から 4,000 mg 台が 4 例、6,000 mg 1 例であった。併用療法としてはすべてプレオマイシンあるいはペブプレオマイシンを併用し、5-FU との併用は 2 例、PSK との併用は 5 例であった。放射線療法との併用は 2 例であった(表 2)。

2. Etretnate 投与患者の腫瘍の変化

扁平上皮癌に対する Etretnate と多剤併用療法中における腫瘍病変の推移を臨床的に症例により X 線および骨シンチグラフにより観察するとともに、適当な時期に生検を行い病理組織学的にその変化をみた。全般的な肉眼的印象としては癌が表層より融解をはじめある時期に到

Bone Scintigraphy (^{57}Co Bleomycin)

図 2 (症例 2) 投与前の骨シンチグラフ

Bone Scintigraphy (^{57}Co Bleomycin)

図 3 (症例 2) 投与後の骨シンチグラフ

写真 3 (症例 2) A: 投与前の中等度角化型扁平上皮癌

B: 投与後の組織像, 腫瘍細胞の著しい空胞変性がみられる

ると一塊として脱落することであり, そのため大きな組織欠損を示すことがある (写真 1 A, B)。

症例 2 は上顎洞原発癌の症例で写真 2 の石膏模型に示すように口蓋, 歯槽部の腫瘍は著しく縮小しついにはほとんど消失し大きい穿孔を残すに至る。この経過を骨シンチグラフでみると, 図 1, 2 のごとく術前の ^{99}Tc と ^{57}Co プレオマイシンのシンチグラフが術後 (写真 2 C) においては図 3 の ^{57}Co プレオマイシンシンチグラフのごとく腫瘍領域がたいへん縮小しているのが分かる。この腫瘍縮小効果はプレオマイシン単独投与の経験例において認めている以上に著しいものである。当症例

の組織学的所見は写真 3 A のごとく術前は中等度角化扁平上皮癌で, 癌病巣には間質に細胞浸潤が多い。治療中 (写真 2 B) の生検材料の所見が写真 3 B のものであり扁平上皮癌細胞の空胞変性が著しく中央部は壊死化している。

症例 9 は下顎小臼歯部の歯肉癌で, 初診時の病変 X 線像は写真 4 A のごとく下顎骨への癌の浸潤が認められ, ^{99}Tc シンチグラフにおいて図 4 のごとく病巣に著明な反応が認められる。写真 4 B は下顎切除手術材料の X 線像で比較的限局された病変を認め, この時期の骨シンチグラフは著明な減少を認めている。病理学的所見は

治療前のものが写真 5 A のごとく非角化扁平上皮癌で腫瘍細胞は周囲の結合組織へ浸潤しており、その部位に多数の細胞浸潤を認める。治療後の摘出材料の病理所見が写真 5 B で、この扁平上皮癌細胞は全般に崩壊して

いるがそのなかに残存増殖している腫瘍細胞が認められ細胞浸潤は同様に著しい。

症例12は Etretinate 650 mg, PEP 45 mg の投与にて写真 6 C のごとくほぼ完全に消失した例であり、写真 6 B は Etretinate 350 mg の投与にて肉眼的に約1/3に縮小した著効の1例である。

肉眼的に完全あるいはほぼ癌が消失したものは7例あり、このうち手術症例は4例である。これらの摘出標本中には癌細胞の残存を認めるもののそれらの細胞はすべて空胞化し壊死が著しい。また非手術症例3例のうち癌の消失後経過観察中に2例が他の疾患にて死亡、この時

写真 4 (症例 9) A: 下顎歯肉癌のX線像
B: 投与後のX線像

Bone Scintigraphy (^{99}Tc)

図 4 (症例 9) 投与前の骨シンチグラフィ

写真 5 (症例 9) A: 非角化型扁平上皮癌
B: 腫瘍細胞の崩壊とともに残存腫瘍細胞がみられる

写真 6 (症例12) 短期間にみられた腫瘍の脱落経過

増強することではなくこれらの症例では Etretinate を含めた化学療法のみでは完全に治療可能であると判断はできなかった。

われわれが今回治療した扁平上皮癌は高分化型が多く、Tにかかわらずその投与量と癌の縮小率にはとくに関係はなく、強い個体差が認められた。しかし Etretinate に関して結果的に非常に感受性の強いと思われた4例に関しては投与後まもなく癌が融解、脱落した結果、薬物の投与量は少量であった。所属リンパ節の転移に関して治療中に N0 から pN1 に移行するものはなかった。またリンパ節転移の摘出標本についてみると、癌細胞は同様に壊死化しており残存する腫瘍細胞も原発巣と同様の組織所見を示していた。

副作用は16例のうち8例に痒疹、表皮剝離が認められた。このうち3例は 3,000 mg 以上の投与であり、この場合14日間投与 (700 mg) ですでに副作用が認められ一時投与中止、副作用消失後再投与開始したが副作用の発現はより早くなり Etretinate の蓄積が副作用消失後もあることが示唆された。症例4では 300 mg の投与で副作用の出現を認め一時投与中止後再投与ではただちに副作用が出現し、総量 700 mg が限度であった。しかし 2,000 mg を連続投与しても副作用の出現しない症例もあり、副作用の点についても強い個体差がうかがわれた。癌の縮小と副作用の出現との関連はなく、Etretinate 投与基準の困難さがうかがわれ、患者自身の感受性あるいはその癌の特性をいかにして把握するかが今後の問題点となろう。また一般臨床検査においても Etretinate 投与によると思われる異常値は認めず、さらに risk 患者においてもその疾患等を増悪させることはなかった。

考 察

ビタミンA (VA) は卵黄より抽出された脂溶性の生命維持に必要な物質として発見されて以来、今日に至るまで多岐にわたる生化学的研究があるが、それらの中でビタミンA酸誘導体で過ビタミンA症としての副作用の少ない Retinoid が合成された。VA は天然に存在する trans-vitamin A alcohol または trans-retinol が酸化されそれぞれ trans-retinal (vitamin A aldehyde) と trans-retinoic acid (vitamin A acid) となる。ビタミンA酸誘導体は (1) cyclic end group である trimethyl-cyclohexonyl ring, (2) polyene chain である dimethyl-substituted, all-trans, tetraene chain と (3) polar end group である hydroxyl, aldehyde, carboxyl end group の3群から成り立っている。VA の上皮細胞に対する作用や制癌作用は主としてこの polyene chain に由来するといわれている。

VA の上皮細胞に対する作用、とくに角化病変や癌に関する VA の影響については古くから多くの報告に接

点で肉眼的な再発は認めなかった。また1例は 1,350 mg の内服と BLM 225 mg のイオン導入にて治療したが、潰瘍、硬結の完全消失を認めたため治療を終了し、経過観察中1年6か月後に同じ部位に硬結を触知した。このため舌の部分切除を行いその摘出標本によると、組織像は初診時と同様に扁平上皮癌であり、一度臨床的に消失したものが再発した1例である。他の9例についても Etretinate 投与後 (併用療法も同時に開始) 癌の急激な増大はいずれも認めず、しかも癌表層からの融解が著明にみられ比較的早期に手術適応時期に達する症例もあった。しかし全体的にこの効果は投与量 700~1,000 mg (2~3週) で最も著しく、さらに投与しても効果を

するが、それらの経緯については遠藤¹⁾, Lotan¹⁹⁾, Elias²⁾の報告に詳しく述べられている。口腔粘膜の発癌がVAにより抑制されることはRowe²⁰⁾によりハムスター頬囊の実験的粘膜癌形成がVA欠乏時に増加し、VAの投与により抑制されることが報告された。Levij²¹⁾によるとハムスター頬囊癌の発生はDMBAとVA palmitateの併用使用により異形性の強いものの発生が増加し、さらにLevij²²⁾はハムスター頬囊癌の実験形成に関して発癌剤の局所塗布より前にVA palmitateを塗布すると発癌が促進すると述べている。Shamberger²³⁾, Prutkin²⁴⁾, Shklar^{25, 26)}, Gilmore²⁷⁾, Ito²⁸⁾ならびにわれわれの研究は、いずれも口腔粘膜の実験癌やShope papillomaがRetinoid投与によりその発生頻度が低下し、癌が縮小、または治癒することを示している。VAと発癌剤の併用使用による発癌の促進についてはVAのpolyene groupが膜透過性を促進させる結果と考えられている。癌に対するVAの使用療法は広戸¹³⁾, 小宮山¹⁴⁾のFAR療法、Evard⁶⁾によるVA併用治療、基底細胞癌に対するBollag^{4, 5)}, その他各種の皮膚角化病変についてのEtretnateによる治療結果が報告され、口腔粘膜の角化病変である白板症や扁平紅色苔癬にも有効である⁹⁻¹¹⁾。

以上の多くの報告は人または動物の扁平上皮由来の上皮性腫瘍ならびに過角化病変に対して、VAまたはその誘導体の単独投与によりそれらの病変を治癒または軽減させることを示している。本論文は上皮癌に対してEtretnateと既知の制癌剤の併用療法を行いその有効性の機序につきわれわれの実験結果とあわせ考察を加える。

VAとその誘導体の発癌抑制作用と抗癌作用については多くの仮説があるが、VAの抗癌作用 anti-carcinogenic effects と抗癌作用と anti-tumor effects は必ずしも一致しない。本論文については主としてVAの抗癌作用について検討してみたい。(1) retinol-binding protein (RBP) と retinoic acid-binding protein (RABP). Retinoid はすべての腫瘍に対して抗癌作用を示さず、これは細胞のもつRABPのためと考えられている。(2) VAと細胞膜のglycoconjugate生合成。(3) 上皮細胞相互の接合 gap junction は悪性腫瘍や発癌に対して消失または変化するが、Retinoid投与によりこのgap junctionの増殖がみられ、このため細胞情報の改善により抗癌作用がみられる。この現象は上皮細胞間のdesmosomeの減少や消失と細胞間に多糖体の蓄積を認める所見と一致し実験的発癌や過角化症において病変が表層から脱落する所見と一致している。(4) ライソゾーム膜の不安定化。VAの重要な生体膜に対する作用としてライソゾーム膜の不安定化によりacid phosphataseや β -glucuronidase等のlysosomal enzymeを放出する。このため自己融解を起こし細胞壊死に到る。(5) ornithine decarboxylaseの抑制をする。発癌 promoterとしての tetra-

decanoylphorbol acetate (TPA) は皮膚腫瘍においてpolyamineの生合成と関係し ornithine decarboxylaseにより急速に増加するが、Retinoidはこの酵素の作用を著しく抑制するため腫瘍の promoter 形成が停止される。(6) 免疫能を高める。VAにはadjuvant activityがあり、VAの投与により抗体産生の増加や抗体産生細胞を刺激する作用があるといわれている。生理的なretinoic acidの投与によりkiller T cellの産生や細胞性免疫能を高めるといわれている。以上の諸説の中で本論文による臨床的所見と従来の動物の上皮性腫瘍に対するEtretnate, Retinoidの効果からさらに考察を加えたい。

1. RBP (retinol-binding protein) または RABP (retinoic acid-binding protein)

retinyl esterは肝細胞に貯蔵されretinyl ester hydro-laseにより水解され血液中に分泌され、prealbuminと結合したretinol-binding protein (21,000 dalton)により運ばれる。このようにして末梢組織、主として上皮細胞に運ばれたretinolは特異的なglycoprotein cell membrane receptorと結合し細胞障害(毒性)が現れる。retinolやretinoic acidは末梢細胞においてcytosol proteinと結合しcytosol retinol-binding protein(CRBP)とcytosol retinoic acid-binding protein(CRABP)となる。これらのCRBPとCRABPが上皮細胞の膜構造と結合し作用を示すものと考えられる。一般にCRBPは幼若細胞と成熟細胞に分布するが、CRABPは成熟した組織になると消失(脳、眼、皮膚は例外)するといわれている。RABPは³H-retinoic acidを用いて生化学的に定量できる。人の腫瘍や実験腫瘍のRABPについては正常な乳腺、肺組織において認めず、乳癌、肺癌になると出現する²⁹⁻³³⁾。Huber³²⁾の人乳腺組織のRABPの定量結果によると人の正常乳腺組織にはないが、異形性増殖を示すと出現する。Ong³⁴⁾はラットの大腸癌についてのRBPとRABPの結果は、実験腺癌においてはRABPは低い値で周囲の正常大腸粘膜と差はないが、RBPは著しく高い値を認めている。Sani³⁰⁾によるとRABPは上皮に存在するが結合組織には認めていない。Rattanapanone³⁵⁾はShope papillomaのCRABPを測定し家兎の正常皮膚と比較すると乳頭腫において著明に高い値を得ている。人の咽頭癌についてのRABPの結果は37例のうち28例に認められ、一部の咽頭、喉頭粘膜にも存在している³⁶⁾。以上の報告は上皮由来の腫瘍はこの結合蛋白が存在し、かつ角化傾向を示す腫瘍において他の上皮性腫瘍に比べRABP量が多いものと推測される。皮膚におけるVA, carotene (pro-vitamin A), retinol, dehydrorretinolを高速液体クロマトグラフィーにより分析すると、これらは身体の皮膚部位により個人差はあるもののその平均値はおおの carotene ($13 \pm 5 \mu\text{g/g}$), retinol ($1.7 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$), dehydrorretinol ($0.4 \pm 0.2 \mu\text{g/g protein}$) であり年齢や性別による差は

認められていない^{37,38)}。

2. VA と細胞膜の glycoconjugate 生合成

VA が上皮細胞の糖蛋白合成に関与していることは古くから VA 欠乏動物に対する VA 投与の結果等から知られていた。Cavalieri ら³⁹⁾によるハムスター頬囊粘膜に VA alcohol の局所塗布による粘液形成を認めている。VA の糖蛋白合成には3つの段階がある。(1) retinol の phosphorylation. これは多分 ATP と phosphokinase が関与するものと考えられている。retinyl phosphate は生体膜の構成成分である。(2) retinyl phosphate は glycosyltransferase により糖 (mannose, galactose) donor へ転移する。(3) 糖鎖をもった glycosyl-retinyl-phosphate から糖蛋白が生合成される^{19,40)}。 ¹⁴C-glucosamine を用いた培養線維芽細胞において retinol は2~4倍の glucosamine 合成を認め⁴¹⁾、豚の皮膚における ³H-glucosamine 取り込みは主として上皮成分にあり trans-retinoic acid により増加され、上皮細胞外の glycosaminoglycan の形成を認めている^{42~44)}。

3. VA と細胞相互の接合

実験上皮性腫瘍や人の乳頭腫または角化病変に対し VA を全身的または局所的に投与すると、腫瘍は壊死をきたし崩壊消失し過角化病変においては角質層の融解がみられる。retinoic acid の上皮剝離現象は培養細胞においても認められ、Milstone ら⁴⁵⁾の研究によると retinoic acid は重層扁平上皮の幼若剝離を示すという。これらの病理学的変化を光顕的、電顕的、組織化学的ならびに freeze fracture 法によって観察すると細胞破壊に先立ち細胞内糖質の貯留、細胞間における分泌貯留の結果細胞接合の障害が起こることが報告されている。Barnett ら⁴⁶⁾によるとモルモット表皮細胞は VA の投与により角化の抑制、tonofilament や desmosome の大きさと数の減少、tight-junction 様構造物の出現を認め、Prutkin⁴⁷⁾は VA acid は家兎皮膚において mucous metaplasia の起こる前に gap junction がみられるという。Woo-sam⁴⁸⁾も家兎外耳道皮膚を用いた実験において desmosome の減少を認めている。人の皮膚病変に対する Retinoid の影響についての報告は、一般に desmosome と tonofilament の消失、上皮細胞間に粘液性物質の貯留を認めている^{49~56)}。しかし日高⁵⁷⁾の電顕的所見によると口腔白板症に Etretinate を投与しても desmosome には変化はみられず、棘細胞では tonofilament と keratohyalin の減少を認めている。細胞間の貯留物質の詳細については明らかにされていないが、上皮細胞内で合成された糖蛋白と考えられ過剰分泌による細胞間蓄積の結果上皮細胞間橋、desmosome の減少、消失を示すことが考えられる。Freeze fracture 法により VA が上皮細胞表面構造に及ぼす影響について Elias らの実験的ならびに人の腫瘍材料を用いた報告がある^{58~60)}。鶏胚皮膚を用いた組織培養の実験によると VA (20 u/ml) 投与により tight

junction 形成と gap junction の増加を認め、人の基底細胞癌においても gap junction の増加、desmosome や hemidesmosome の減少を認めている。Kitajima ら⁶¹⁾も psoriasis 患者に Etretinate を投与した場合に認められる最も著明な変化は desmosome の大きさの減少であり、同時に keratinocyte の原形質膜に多数の pinocytotic vesicle を認め、これが上皮細胞間に出現した粘液様物質であろうと述べている。これに反して Caputo ら⁶²⁾によると psoriasis の患者に Retinoid (Tigason) を投与しても gap junction の増加はとくに認めず、上皮細胞間の空隙の拡大と細胞内空胞化が著明に認められたと報告している。以上の成績はわれわれがすでに報告しているようにハムスター頬囊癌に対する Etretinate 全身投与¹⁷⁾やマウス皮膚癌に対する Etretinate の全身投与や局所塗布¹⁸⁾における病理学的変化は、細胞間の空隙の増大を示しており本論文における人の扁平上皮癌の組織所見ともほぼ一致している。

4. ライソゾーム膜 lysosomal membrane の不安定化

VA の作用の1つに lysosomal membrane の不安定化があげられ、この作用は VA の構造 polyene chain にある^{63~65)}。類似の作用は polyene 化合物の抗生物質 filipin においても認められ、polyene antibiotic filipin は発癌を抑制し、lysosomal stabilizer である hydrocortisone, chloroquine は発癌を促進させる²³⁾。また多くの電顕的研究によると VA を投与した乳頭腫上皮細胞においてライソゾームの数の増加を認め、われわれの実験腫瘍に対するライソゾーム標識酵素である acid phosphatase の組織化学的所見においても著明な増加を認めている。Brandes ら⁶⁶⁾は L 1210 細胞表面の糖蛋白は VA の投与により消失し、これは VA が細胞の lysosomal neuraminidase の分泌を抑制しその結果膜の糖蛋白の喪失をみたものと推測されている。VA のライソゾーム膜の不安定化によるライソゾーム酵素の放出による細胞破壊は抗腫瘍作用の一端と考えることができるが、正常な上皮細胞は強く障害されず、なぜ角化傾向にある癌細胞においてこの現象が出現するかについては不明である。この選択作用については RABP が正常細胞に比べ癌細胞に多く含まれているためとも考えられる。マウス皮膚癌に関する実験において腫瘍間質にも強いライソゾーム酵素の活性を認めているので、このため腫瘍が一塊として脱落したものと考えられ、これとはほぼ同様の肉眼的所見が人の扁平上皮癌の治療時においても認められた。

5. ornithine decarboxylase (ODC) 活性の抑制

この酵素は核酸合成に必要な polyamine 形成に関与し、細胞の増殖や角化に深い関係のある酵素で実験的皮膚癌の発癌過程において増加している。Retinoid の投与によりこの酵素活性が著明に抑制されるので腫瘍 promoter の抑制効果を認め、したがって発癌の抑制が認め

られる。マウスの実験的皮膚癌の発生過程において ODC 活性の上昇は Brien⁶⁷⁾により指摘され、その後この ODC 活性の抑制は VA のうち retinoic acid が最も強いことが分かった^{68,69)}。Verma ら^{70,71)}は多種類の VA 誘導体 Retinoid を用いて TPA induced epidermal ODC 活性の抑制効果を比較検討し、皮膚癌の発生予防に役立つと述べている。発癌 promoter の抑制による制癌効果は癌に対する抗癌作用とは別のものであるが、VA の発癌抑制作用機序の 1 つに数えられるものである。

Etretnate の副作用として経験したものは主として表皮剥離と痒疹であり、これらの副作用の出現した時点で投与を一時中止したために他の副作用は認められなかった。副作用は軽度のものを含めるとほとんどの症例に発現し、これは VA の特性である上皮細胞における糖蛋白合成と細胞相互の接合に関係していると思われる。正常上皮においても VA 投与により細胞内糖質の貯留、さらにこれが細胞間に分泌貯留する結果細胞相互の接着に障害^{42~45)}が生ずるために当然の結果として表皮剥離現象が起こるものと考えられる。また tonofilament や desmosome の変化^{46~48)}も正常細胞にみられるために細胞接合に影響を与えるものであろう。しかし投与量と副作用の出現、ならびに抗癌作用と副作用の程度には何ら相関がなく RBP や RABP の存在に必ずしも一致するとはいえない。これらの点より考えると表皮剥離等の変化が出現するのは当然のことであり、その程度は VA に対する個体の感受性に強く影響されると思われる。

結 語

われわれの施設において ビタミンA酸誘導体の Etretnate を臨床的に16例の扁平上皮癌に併用療法として用いた。次の結論を得た。

1. 16例中7例が Etretnate と他剤の併用療法ではほぼ臨床的に腫瘍は消失した。また他の症例においても拡大傾向はなく、Etretnate の併用効果は急速な腫瘍病巣の縮小であり病変表層から組織の融解脱落を主とするのが特徴である。

2. 組織学的には癌細胞の空胞変性と細胞間隙の拡大である。

3. 投与量に関してはその効果および副作用に強い個体差があり、癌の進展度あるいは組織型による一定した基準となるものはなかった。しかし角化型扁平上皮癌に対し Etretnate の効果はより著明であった。

4. 総投与量 700~1,000 mg までに最大の効果が得られ、これ以上の投与により効果の増強が認められる症例は少なかった。

5. 副作用は痒疹、表皮剥離が主体であり他の重要な機能的変化は認めなかった。投与の中止によりこれらの症状は改善した。

6. 以上により Etretnate は従来の制癌剤との併用療法として十分利用価値のある薬剤であるが、癌に対する作用機序に不明な点が多く、効果、副作用ともに個体差が強く使用に際しては十分な臨床的観察下に行う必要があるが、700~1,000 mg の投与で Etretnate の有効性の有無をおよそ判定できると思われる。

われわれの教室で行ってきた系統的な実験的研究の結果や、この臨床例で示された効果から判断して Etretnate は人の上皮癌に対して制癌効果を期待できることが示唆された。

引用文献

- 1) 遠藤英也: Vitamin A と癌。癌と化学療法 6: 203-212 1979.
- 2) Elias, P.M. and Williams, M.L.: Retinoid, Cancer, and the skin. Arch Dermatol 117: 160-180 1981.
- 3) Bollag, W.: Antitumor effect of new retinoic acid analog. Experientia 30: 1198-1199 1974.
- 4) Bollag, W. and Ott, F.: Therapy of actinic keratoses and basal cell carcinoma with local application of vitamin A acid. Cancer Chemother Rep 55: 59-60 1971.
- 5) Bollag, W. and Ott, F.: Vitamin-A-Saure in der Tumorthherapie. Lokalbehandlung von Praeakanerosen und Basalzellkarzinomen der Haut mit Vitamin-A-Saure. Schweiz Med Wochenschr 101: 17-18 1971.
- 6) Evard, J.P. and Bollag, W.: Konservative Behandlung der rezidivierenden Harnblasenpapillomatose mit Vitamin-A-Saure. Schweiz Med Wochenschr 102: 1880-1883.
- 7) Koch, H.: Biochemical treatment of precancerous oral lesions: the effectiveness of various analogues of retinoic acid. J Maxillofac Surg 6: 59-63 1978.
- 8) Koch, H.F.: Effect of retinoids on precancerous lesions of oral mucosa. Ed Orfanos CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 307-312.
- 9) Cordero, A.A., Allevato, M.A.J., et al.: Treatment of lichen planus and leukoplakia with the oral retinoid Ro 10-9359. Ed, Orfanos CE, Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 273-278.
- 10) 松浦正朗, 瀬戸院一, 他: 扁平上皮癌に対する芳香族レチノイド Etretnate (Ro 10-9359) の治療効果について。日口外誌 27: 668-676 1981.
- 11) 松浦正朗, 瀬戸院一, 他: ビタミンA酸誘導体 Etretnate (Ro 10-9359) の口腔白斑症, 扁平苔癬および乳頭腫に対する治療効果。日口外誌 29: 379-389 1983.

- 12) Thatcher, N., Blackledge G., et al.: Advanced recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck: Results of a chemotherapeutic regimen with Adrimaycin, Bleomycin, 5-Fluorouracil, Methotrexate and vitamin A. *Cancer* 46: 1324-1328 1980.
- 13) 広戸幾一郎: 上顎癌に対する三者併用療法の実際とその効果. *耳鼻臨床* 68: 809-811 1975.
- 14) 小宮山莊太郎, 広戸幾一郎, 他: 5-FU, Vitamin A, Radiation 併用療法 (FAR 療法) に関する研究. *耳鼻と臨床* 22: 388-394 1976.
- 15) Mori, M. and Kobayashi, K.: Histochemical studies on the effect of anti-tumor retinoid (Ro 10-9359) on chemically-induced epithelial tumors of the mouse skin. *Cellular & Molecular Biology* 27-37: 1981.
- 16) 小林一光, 二宮富久, 他: ビタミンA酸誘導体 (Ro 10-9359) の実験上皮癌に対する腫瘍増殖抑制効果. *癌と化学療法* 9: 457-466 1982.
- 17) 二宮富久, 小林一光, 他: 実験上皮癌に対する Etretnate (Ro 10-9359) の制癌効果. *日口外誌* 29: 829-835 1983.
- 18) 森田悦弥: 実験上皮癌に対する Retinoid (Ro 10-1670), Bleomycin および 5-Fluorouracil の局所塗布制癌効果に関する研究. *日口外誌* 29: 1806-1825 1983.
- 19) Lotan, R.: Effect of vitamin A and it's analogus (retinoid) in normal and neoplastic cells. *Biochim Biophys Acta* 605: 33-91 1980.
- 20) Rowe, N.H. and Gorlin, R.J.: The effect of vitamin A deficiency upon experimental oral carcinogenesis. *J Dent Res* 38: 72-83 1959.
- 21) Levij, I.S. and Polliack, A.: Potentiating effect of vitamin A on 9-10, dimethyl 1-2, benzanthrane carcinogenesis in hamster cheek pouch. *Cancer* 22: 300-306 1968.
- 22) Levij, I.S., Rwomushana, J.W., et al.: Enhancement of chemical carcinogenesis in the hamster cheek pouch by prior topical application of vitamin A palmitate. *J Invest Dermatol* 53: 228-231 1969.
- 23) Shamberger, R.J.: Inhibitory effect of vitamin A on carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 47: 667-673 1971.
- 24) Prutkin, L.: Antitumor activity of vitamin A acid and fluorouracil used in combination on the skin tumor, keratoacanthoma. *Cancer Res* 33: 128-133 1973.
- 25) Shklar, G., Kornhauser, A., et al.: Retinoid inhibition of lingual carcinogenesis. *Oral Surg* 49: 325-332 1980.
- 26) Shklar, G., Schwartz, J., et al.: Inhibition of hamster buccal pouch carcinogenesis by 13-cis-retinoic acid. *Oral Surg* 50: 45-52 1980.
- 27) Gilmore, W., Giunta, J.L., et al.: The effect of 13-cis-retinoic acid on hamster buccal pouch carcinogenesis. *Oral Surg* 51: 256-265 1981.
- 28) Ito, Y.: Effect of an aromatic retinoic acid analog (Ro 10-9359) on growth of virus-induced papilloma (shope) and related Neoplasia of rabbits. *Europ J Cancer* 17: 35-42 1981.
- 29) Ong, D.E., Page, D.L., et al.: Retinoic acid binding protein: Occurrence in human tumors. *Science* 190: 60-61 1975.
- 30) Sani, B.P. and Corbett, T.H.: Retinoic acid-binding protein in normal tissues and experimental tumors. *Cancer Res* 37: 209-213 1977.
- 31) Sani, B.P. and Titus, B.C.: Retinoic acid-binding protein in experimental tumors and in tissues with metastatic tumor foci. *Cancer Res* 37: 4031-4034 1977.
- 32) Huber, P.R., Geyer, E., et al.: Retinoic acid-binding protein in human breast cancer and dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 61: 1375-1378 1978.
- 33) Mehta, R.G., Cerny, W.L., et al.: Distribution of retinoic acid-binding proteins in normal and neoplastic mammary tissues. *Cancer Res* 40: 47-49 1980.
- 34) Ong, D.E., Market, C., et al.: Cellular binding proteins for vitamin A in colorectal adenocarcinoma of rat. *Cancer Res* 38: 4422-4426 1978.
- 35) Rattanapanone, V., Tashiro, S., et al.: Cellular retinoic acid-binding protein in virus-induced Shope papilloma of rabbit skin. *Cancer Res* 41: 1483-1487 1981.
- 36) Bichler, E. and Daxenbichler, G.: Retinoic acid-binding protein in human squamous cell carcinomas of the oral resion. *Cancer* 49: 619-622 1982.
- 37) Vahlquist, A.: Vitamin A in human skin: I. Detection and identification of retinoids in normal epidermis. *J Invest Dermatol* 79: 89-93 1982.
- 38) Vahlquist, A., Lee, J.B., et al.: Vitamin A in human skin: II. Concentration of carotene, retinol and dehydroretinol in various components of normal skin. *J Invest Dermatol* 79: 94-97 1982.
- 39) Cavalaris, C.J., Matukas, V.J., et al.: Histochemistry of the mucins of vitamin A produced mucous metaplasia in hamsters. *Arch Oral Biol* 14: 1313-1322 1969.
- 40) Adamo, S., De Luca, L.M., et al.: Mode of action of retinol. *J Biol Chem* 254: 3279-3287 1979.
- 41) Kochhar, D.M., Dingle, J.T., et al.: The effects of vitamin A (retinol) on cell growth and incorporation of labelled glucosamine and

- proline by mouse fibroblasts in culture. *Exp Cell Res* 52: 591-601 1968.
- 42) King, I.A. and Tabiowo, A.: The dermis is required for the synthesis of extracellular glycosaminoglycans in cultured pig epidermis. *Biochim Biophys Acta* 632: 234-243 1980.
- 43) King, I.A. and Tabiowo, A.: The effect of all-trans-retinoic acid on the synthesis of epidermal cell-surface-associated carbohydrates. *Biochem J* 194: 341-350 1981.
- 44) King, I.A. and Tabiowo, A.: Long-term effects of all-trans-retinoic acid on epidermal glycosaminoglycan, glycoprotein and protein synthesis in vitro. Ed Orfanos, CE Retinoid Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 473-477.
- 45) Milstone, L.M., McGnire, J., et al.: Retinoic acid causes premature desquamation of cells from confluent cultures of stratified squamous epithelia. *J Invest Dermatol* 79: 253-260 1982.
- 46) Barnett, M.L. and Szabo, G.: Effect of vitamin A on epithelial morphogenesis in vitro. Fine structural changes in explants of adult mammalian skin. *Exp Cell Res* 76: 118-126 1973.
- 47) Prutkin, L.: Mucous metaplasia and gap junctions in the vitamin A acid-treated skin tumor, keratoacanthoma. *Cancer Res* 35: 364-369 1975.
- 48) Woo-Sam, P.C.: The effect of vitamin A acid on experimentally induced comedones: an electron microscope study. *Brit J Dermatol* 100: 267-276 1979.
- 49) Williams, M.L. and Elias, P.M.: Nature of skin fragility in patients receiving retinoids for systemic effect. *Arch Dermatol* 117: 611-619 1981.
- 50) Marks, R., Finlay, A., et al.: The effects of retinoids on stratum corneum. Structure and function. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 77-83.
- 51) Shuliz-Ehrenburg, U. and Orfanos, C.E.: Light and electronmicroscopic changes of human epidermis under oral retinoid treatment. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 85-92.
- 52) Ellis, Ch. N., Cold, R.C., et al.: Retinoid-stimulated material in psoriatic epidermis during Ro 10-9359 therapy. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 93-98.
- 53) Jablonska, S., Wolska, H., et al.: Aromatic retinoids in psoriasis: Clinical, histological, histochemical, electronmicroscopic and immunological investigations. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 165-173.
- 54) Blancket-Bardon, C. and Puissant, A.: Ultrastructural study of the four main types of ichthyosis after one month's treatment with Ro 10-9359. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 303-306.
- 55) Kamino-Kamino, O., Gomez-Estrella, S., et al.: Light and electronmicroscopy studies in psoriasis before and after treatment with retinoids (Ro 10-9359). Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 457-466.
- 56) Kanerva, L., Niemi, K.M., et al.: Electron microscopic characterization of the mucus-like material of the epidermis before and after retinoid and retinoid-PUVA (RePUVA) treatment of psoriasis. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 467-472.
- 57) 日高淑樹, 田中誠孝, 他: Etretinate (Ro 10-9359) 投与による口腔白板症の微細構造に関する研究. *日口外誌* 29: 253-265 1983.
- 58) Elias, P.M. and Friend, D.S.: Vitamin A-induced mucous metaplasia. An in vitro system for modulating tight and gap junction differentiation. *J Cell Biol* 68: 173-188 1976.
- 59) Elias, P.M., Grayson, S., et al.: Gap junction proliferation in retinoic acid-treated human basal cell carcinoma. *Lab Invest* 42: 469-474 1980.
- 60) Elias, P.M., Grayson, S., et al.: Influence of topical and systemic retinoids on basal cell carcinoma cell membranes. *Cancer* 48: 932-938 1981.
- 61) Kitajima, Y. and Mori, S.: Effect of retinoid (Ro 10-9358) on the plasma membrane of keratinocytes in patients with psoriasis. A freeze-fracture analysis. *J Invest Dermatol* 80: 174-180 1983.
- 62) Caputo, R., Gasparini, G., et al.: Freeze-fracture study of psoriatic lesions after oral administration of retinoids. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 325-329.
- 63) Dingle, J.T. and Lucy, J.A.: Vitamin A, carotenoids and function. *Biol Rev* 40: 422-461 1965.
- 64) Richard, J.J.: Vitamin A and lysosome. *Nutr Rev* 24: 240-244 1966.
- 65) Rundell, J.O., Sato, T., et al.: Lysosomal enzyme release by vitamin A in L 1210 leukemia cells. *J Natl Cancer Inst* 52: 1237-1244 1974.
- 66) Brandes, D., Sato, T., et al.: Effect of vitamin A alcohol on the surface coat and charges of L 1210 leukemic cells. *Cancer Res* 34: 2151-

- 2158 1974.
- 67) Brien, T.G.O.: The induction of ornithine decarboxylase as an early, possibly obligatory, event in mouse skin carcinogenesis. *Cancer Res* 36: 2644-2653 1976.
- 68) Verma, A.K. and Boutwell, R.K.: Vitamin A acid (retinoic acid), a potent inhibitor of 12-o-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate-induced ornithine decarboxylase activity in mouse epidermis. *Cancer Res* 37: 2196-2201 1977.
- 69) Verma, A.K.: Biochemical mechanism of modulation of skin carcinogenesis by retinoids. Ed Orfanos, CE Retinoid, Springer-Verlag, Berlin, 1981, p 117-131.
- 70) Verma, A.K., Rice, H.M., et al.: Inhibition of 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ornithine decarboxylase activity in mouse epidermis by vitamin A analogs (Retinoids). *Cancer Res* 38: 793-801 1978.
- 71) Verma, A.K., Shapas, B.G., et al.: Correlation of the inhibition by retinoids of tumor promoter-induced mouse epidermal ornithine decarboxylase activity and of skin tumor promotion. *Cancer Res* 39: 419-425 1979.
-