各種抗癌剤によるヒト歯肉由来悪性黒色腫細胞における 微細構造の変化と抗腫瘍効果に関する実験的研究

岩 崎 均

Experimental study as to the change of micro-structure in Human malignant melanoma from gingiva cell by various antitumor agents and the antitumor effect

Hitoshi IWASAKI

Abstract: H.M.G. cell strained from the tumor cell in the pleural fluid of a patient with malignant melanoma was transplanted in a nude mouse and the tumor formed was given various drugs to examine their respective effects macroscopically, light- and electron microscopically.

Drugs used are MPL, DTIC, TA-077 and CDDP as alkylating agent, FT-207 as metabolic antagonist and PSK as immunological preparation. These drugs were administered singly or combinedly (MPL+TA-077, CDDP+MPL, DTIC+FT-207 and PSK+MPL). MPL, TA-077 and CDDP showed tumorstatic effect and MPL+TA-077 and CDDP+MPL, tumor retracting effect. PSK+MPL showed greater effect compared with single administration. However, none of the other drugs had any tumorstatic effect, with no great difference from the control.

In terms of the fine structure, some changes were observed in the nucleus and intracellular organelle; specific change in mitochondria and characteristic appearance of intranuclear corpuscle were seen with CDDP and with MPL+TA-077 and CDDP+MPL, respectively.

Tumor cell became larger and smaller with CDDP, MPL+TA-077 and CDDP+MPL and with TA-077, PSK and PSK+MPL, respectively.

These changes proved to be related obviously to the antitumor effect.

Key words: malignant melanoma (悪性黒色腫), antitumor agent (抗腫瘍剤), electron microscopy (電子顕微鏡)

緒 言

悪性黒色腫は、melanin 産生細胞である melanocyte の増殖により生じる悪性腫瘍で、皮膚に好発するが¹⁾、口腔領域では比較的まれな疾患である²⁾。本腫瘍は、再発あるいは、所属リンパ節をはじめとして、全身組織へ転移しやすい傾向がある。なお原発部位が melanotic で

あっても、転移巣は、amelanotic であることが報告されている。また悪性度の高い疾患で、化学療法、放射線療法などに抵抗性を示す予後の悪い腫瘍の1つであり、いまだ、確固たる治療法は確立されていない。

すでに教室の田川ら³⁾が、悪性黒色腫患者胸水より H.M.G. (Human malignant Melanoma cell from Gingiva) を樹立し、続いて乾ら^{4,5)}が同株の担癌ヌードマウスに、抗腫瘍剤、免疫療法剤を投与し、肉眼的および光学顕微鏡的に、腫瘍増大抑制効果、組織学的所見、生存率および薬剤の副作用について報告した。肉眼的、ならびに光学顕微鏡の変化により、各種抗腫瘍剤の効果判定を検討した報告は数多くみられる。しかし電子顕微鏡により、同一試料の各種薬剤による微細構造の変化を

三重大大学医学部口腔外科学教室
(主任：村田睦男教授)
Department of Oral Surgery, School of Medicine,
Mie University (Chief: Prof. Mutsuo Murata)
受付日：昭和63年9月22日

比較観察したものはほとんどみられない。そこで、電子顕微鏡により H.M.G. 細胞の、各種薬剤による微細構造の変化を観察し、薬剤の作用部位、作用機序などについて検討した。

実験材料ならびに方法

1. 実験動物および飼育法

実験動物は BALB/C-nu/nu の遺伝子背景をもつヌードマウス、6 週齢・♀(日本クレア社製)を用いた。飼育は三重大学医学部附属動物実験施設内の Laminar Flow Iso-Rack 中で行い、滅菌した水道水および飼料を与え自由摂取とした。床敷・ゲージは週 1 回滅菌・交換した。飼育管理は可及的に滅菌状態で行い、実験操作はすべて無菌的に施行した。約 1 週間無処理のまま飼育観察した後(体重 21 ± 1.0 g)、累代操作を行った。なお観察した試料は 1 実験群 10 匹より 2 匹自由選択し、対照群として 2 匹を自由選択し試料を作成した。

2. 移植材料および累代方法

20%子牛血清加 Eagle's MEM で継代された H.M.G. 細胞 159 代目を、 1×10^6 個ヌードマウス右側肩部皮下に接種後、形成された H.M.G. 腫瘍の累代 2~8 代を用いた。累代移植は形成された H.M.G. 腫瘍を無菌的に摘出し、生理的食塩水で洗浄し、附着している血液成分、中心部の壊死部分を除いた後、抗生物質を含む洗浄液中にて 1~2 mm 大に細切した。細切した腫瘍塊を癌細胞移植針にて、ヌードマウスの右側肩部に移植、創部はミシュルのクリップで閉鎖した。移植後 3 週間で、腫瘍の大きさは、約 7×7 mm となり、実験可能な大きさになったため、移植後 4 週目から薬剤投与を始めた。

3. 使用薬剤および投与方法

薬剤は抗癌剤のうちアルキル化剤に分類されているものとしては、nitrogen mustard 系の Melphalan (以下 MPL), triazen 系として 5-(3, 3-dimethyl-1-triozeno)-imidazole-4-carboxamide (以下 DTIC), nitrosourea 系は 1-(2-chloroethyl)-3-isobutyl-3-(β -maltosyl)-1-nitrosourea (以下 TA-077), その他のアルキル化剤として cis-dichlorodiammine platinum (以下 CDDP), 代謝拮抗剤としては、1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (以下 FT-207)。免疫療法剤としては、多糖類製剤 PSK を用いた。

薬剤の併用療法としては多くの組み合わせが考えられるが、単剤投与により効果を認めた薬剤として、MPL+TA-077, CDDP+MPL, 単剤としては効果が明らかでなかった DTIC+FT-207, 免疫療法剤との組み合わせとして PSK+MPL などについて行った。

薬剤の 1 回投与量は、おのおのの抗癌剤で conventional mouse LD₅₀ の 1/4 量、PSK は 100 mg/kg とした。各薬剤は 0.05~0.10 ml の蒸留水または、生理的食

塩水に溶解して投与した。

薬剤の投与経路は抗癌剤の臨床使用に準じ、免疫療法剤は i.p. で行った。薬剤の投与間隔および投与期間は原則として N.C.I. でのヌードマウスを使用したスクリーニング方法に準じた⁶⁾。すなわち、q4d で薬剤を投与し、計 8 回・ $2 \times \text{LD}_{50}$ 量投与した。免疫療法剤は 30 日間連続投与した。対照群も同様の条件下にて、飼育、移植、屠殺、および組織採取を行った。

4. 電子顕微鏡用試料作製法および電子顕微鏡観察法

薬剤投与開始後 12, 20, 30 日目にそれぞれ屠殺し、ヌードマウス肩部より採取した腫瘍を試料とした。

腫瘍部より採取した試料を、ただちに 1 mm^3 に細切し 2.5% グルタルアルデヒド溶液で 2 時間固定、5.4% グルコース加リン酸緩衝液で 24 時間洗浄、次いで 1.0% オスミウム酸溶液で 1 時間 30 分固定後、濃度上昇アルコールおよびアセトンで脱水した。その後、通法に従いエポン 812 で包埋し、超薄切片作製後、酢酸ウラニールとクエン酸鉛で 2 重染色を施し、日立社製 H-700 型電子顕微鏡で写真撮影を行った。おのおのの試料から摘出した組織のうち、それぞれ観察した細胞は、光学顕微鏡的に中心壊死を呈していない比較的腫瘍の表層に近い部分の組織で、血管壁より数層離れてほぼ 10 層目までに存在し、核を有する細胞を、無作為に 100 個抽出し、観察した所見を対照群と比較した。

腫瘍細胞の微細構造は個々の細胞で若干の差異があり、細胞周期によっても薬剤感受性が異なるため、すべての腫瘍細胞が薬剤投与によって同じ反応を呈し、構造上の変化を示すとは限らない。したがって微細構造の立場から、腫瘍細胞 100 個の傾向的变化を対照群と比較し、また特異な構造について検討した。

実験結果

1. 対照群

12 日目(腫瘍移植後 33 日目)の H.M.G. 細胞の微細構造は、核の形態はほぼ円形または卵円形を呈し、核膜は平滑で、一部に穹入するものもあった。また核周囲腔は約 10~30 nm の範囲内にあり、開大している細胞はほとんど観察されなかった。核小体はほぼ円形で、顆粒成分と細線維成分からなる仁糸が網状構造を呈し、位置は核の中央部にみられるものが多く、周辺部には少なかった。また核小体と核質との境界は比較的明瞭で、核小体にヘテロクロマチンが接着していた。核小体の数は 1 個が大部分で、2 個以上有するものはほとんどみられなかった。核内小体は simple type が認められた。核内に細胞質を取り囲んだ核ポケットが散見され、核内に細胞質の一部が深く陥入してできる核内偽封入体はみられたが、核内封入体は認めなかった。核内全体に一樣に染色質顆粒が分布しており、微細な網状構造を呈していた。核

膜内層に接してヘテロクロマチンが明瞭に観察された。細胞質においては、ミトコンドリアは外膜・内膜およびクリステもほぼ明瞭に認められた。またゴルジ装置が数個みられるものもあり、ゴルジ装置の肥大・ゴルジ層板の拡張が認められ、ミトコンドリアとゴルジ装置の発達は良好であった。プレメラノゾームはゴルジ装置の近くに散在していた。粗面小胞体は短冊状の小さなものが細胞質内に少数みられる程度で、層状構造および小胞状のものはほとんどなかった。遊離リボゾームは細胞質全体にほぼ均一に分布しており、ポリゾームも観察された。なお分裂細胞は細胞1,000個のうち数個みられる程度であった。

20日目（腫瘍移植後41日目）の H.M.G. 細胞は、12日目と同様の核の形態を呈し、核内では核膜内層に接してヘテロクロマチンがよくみられるが、12日目に比べオイクロマチンよりもヘテロクロマチンが若干増加した。核小体も12日目の所見と同様であり、細胞質内においては、ミトコンドリアの膨化が散見できた。

30日目（腫瘍移植後51日目）の H.M.G. 細胞は20日目とはほとんど同様な像を呈していた。腫瘍は増大して毛細血管が多くなっているが、個々の細胞、細胞内小器官や核の大きさ・形態に著変はなかった。

2. 単剤投与

1) MPL 投与群

投与後12日目の H.M.G. 細胞は、ほとんどの細胞の核は円形または卵円形を示すが、不規則な弯入をもつ核も散見された。核小体は網状構造を示すものが多かった。細胞質においては、ミトコンドリアの基質の濃縮が認められた以外、特記すべき所見はなかった。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、核については、投与12日目と比べ、核膜内層に接するヘテロクロマチンが減少していた。細胞質ではミトコンドリアは膨化し基質密度の低下が起こり、クリステが部分的に消失しているものや、外膜・内膜が一部欠除しているものがあつた。またゴルジ装置は層板の拡張がみられた。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、核の弯入は12、20日目とはほぼ同じ程度に観察された。核膜内層に接するヘテロクロマチンは、20日目に比較しやや減少し、核周囲腔は開大する傾向がみられた。核小体の網状構造がやや不鮮明になり、顆粒成分と線維成分が分離する像が一部に認められた。細胞質では、ミトコンドリアが膨化し、基質電子密度の低下をきたし、クリステは断裂し不規則な網状を呈して残存していた。リボゾームが減少し、ゴルジ層板の拡張が増加していた。

以上の所見から、MPL 投与群は核においては核小体に変化がみられ、ミトコンドリアは12日目に濃縮し、20、30日目には膨化し、リボゾームの減少が認められた。腫瘍は対照に比べ肉眼的に軽度の増大抑制があり、腫瘍細胞は若干縮小していた。

2) DTIC 投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、核の形態は円形または卵円形と不整形のものとが観察された。また弯入が深く核内偽封入体を示すものや、核膜付近に細胞質の入り込んだ核ポケットもみられた。核周囲腔の広さはほぼ正常値範囲内であったが、核外膜が部分的に不明瞭な細胞も認められた。核小体は円形で網状構造を呈していた。核内クロマチンはオイクロマチンが多く、核内小体は simple type のものが少数みられた。細胞質においては、ミトコンドリアは外膜・内膜そしてクリステの明瞭なものと基質の電子密度が少し高くなったものがあつた。同時に細胞質内に多くのリボゾームが観察された。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、核は大きな弯入を呈するものが増加し、核内偽封入体も増加した。核小体は顆粒成分がやや減少し、網状構造が若干不規則になっていた。核内小体は12日目と同様に simple type のものがみられた。細胞質においては、ゴルジ装置の層板が12日目より拡張していた。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、核では核小体は20日目と大差なく、核内小体は simple type と complex type がみられた。核内偽封入体も多く観察され、また核内小体も散見された。細胞質内にはあまり変化がなかった。

以上の所見から、対照群に比較して、核の形態は弯入が増加し、それと並行して核ポケット、核内偽封入体も増加する傾向にあつた。しかし、肉眼的には腫瘍は対照と同様に増大していた。H.M.G. 細胞は患者胸水より採取した amelanotic cell であり、臨床的にも腫瘍の amelanotic な部位には DTIC は効果がなかったもので、ヌードマウスにおいても同様の結果になったものと思われる。

3) TA-077 投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、核膜の弯入、核内偽封入体が散見され外形にあまり変化はないが、核小体は顆粒成分が減少し網状構造がやや不規則になっていた。ヘテロクロマチンが核小体に付着しているものもみられた。細胞質においては、ミトコンドリアは膨化し外膜・内膜は明瞭にみられるが、内部の電子密度は低下し、クリステはやや不明瞭になっているものと、そうでないものとが混在していた。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、12日目と同様な所見がみられたが、核小体は網状構造を呈し核中央部と周辺部に位置しているのが増加していた。核内クロマチンは12日目よりヘテロクロマチンが増加した。細胞質ではゴルジ層板の拡大がみられた。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、核膜には軽度の凹凸がみられ、核内偽封入体、核ポケットの増加があり、核膜内層に接するヘテロクロマチンはほとんど認められず、小集団をなして核内に散在していた。細胞質ではミトコンドリアは膨化しているものが多く、リボゾームは

減少し、ゴルジ層板の拡大がみられた。

以上の所見から、核小体は顆粒成分が減少して網状構造が乱れ、核膜内層に接するヘテロクロマチンが少なくなり、小集塊をなして核内に散在していた。細胞質ではミトコンドリアの膨化やリボゾームの減少がみられた。腫瘍は肉眼的に30日目には増大抑制がみられ、腫瘍細胞も縮小する傾向にあった。

4) CDDP 投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は核の形態は対照群と類似していた。核小体は網状構造を呈し、核の中央部と周辺部にあるものが散見された。細胞質では、ミトコンドリアは膨化し外膜・内膜は認められるが、クリステを明瞭に識別できるものは少なかった。また細胞膜は対照と比較して変入が少なく平滑化していた。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、核の形態は12日目と同様で、核内クロマチンは核膜周辺にヘテロクロマチンが増加していた。核小体には顆粒成分が偏在した核小体分離がみられる。細胞質においては、ミトコンドリアは12日目よりさらに膨化し、外膜・内膜は明瞭であるが、クリステはほとんど消失し、細線維様構造を呈していた。また二重膜構造をもたないミトコンドリアとは異なった空胞も散見された。リボゾームが若干減少していた。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、投与20日目の所見より核膜に著明な変入はないが全体として小さい凹凸が増加していた。核小体は顆粒成分が消失し網状構造が不明瞭になり、核内小体が増加し、核内クロマチンも20日目と異なり核膜内層に接するヘテロクロマチンが減少し、小集塊をなして核内に散在するヘテロクロマチンが増加していた。ミトコンドリアは膨化し外膜・内膜は明瞭にみられるが、クリステは消失し、基質の電子密度は低下していた。細胞質ではリボゾームの減少が明らかに認められた。

以上の所見から、核の形態では対照より小さな凹凸が経時的に増加した。核小体は12日目は網状構造を示していたが、20、30日目には、顆粒成分が消失し網状構造が不鮮明になっていた。ミトコンドリアは、12日目は、クリステが認められるが、20、30日目には消失したが、二重膜構造はいずれも明瞭に認められた。このようなミトコンドリアの変化は、他の薬剤投与群とかなり異なった所見であった。個々の腫瘍細胞は増大して大型化する傾向にあったが、肉眼的には対照に比べて12、20日目では腫瘍増大が遅延し、30日目には縮小が認められた。

5) FT-207投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、核の形態がゆるやかな凹凸のある円形または卵円形を呈し、核周囲腔の広さは正常範囲内にあるものや、開大しているものがあり、核内クロマチンはオイクロマチンが多く、核膜内層に接してクロマチンの凝集を示す細胞もみられ、核ポケ

ットも散見された。核小体は網状構造を呈するものが多く、核内小体は simple type と complex type の両方が出現しており、核内偽封入体も認められる。細胞質においては、ミトコンドリアは対照群と大差がなかった。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、核の形態は12日目とほとんど同様であるが、核小体は網状構造のやや不鮮明なものもあるが顆粒は明瞭に認められた。また核内小体は simple type のものが散見された。細胞質は12日目に比べ変化はみられなかった。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、核の形態や、核内クロマチンは20日目の所見に類似していた。核小体は網状構造を呈しているが、少数ではあるが顆粒成分が消失し網状構造の不規則なものもみられた。核内小体は simple type のものが散見された。細胞質において、ミトコンドリアは12、20日目と異なりクリステは明瞭なものと、膨化し不明瞭になり基質の電子密度が低下しているものもあった。リボゾームには特に変化はなかった。

以上の所見により、核小体は12、20日目は顆粒成分が一側に集合して解離を示すものがみられたが、30日目においては、網状構造を示すものが増加した。ミトコンドリアは、12、20日目は濃縮を示したが、30日目ではクリステが明瞭なものと膨化をしているものが混在していた。腫瘍細胞は対照と著変なく、肉眼的にも腫瘍の増殖遅延は認められなかった。

6) PSK 投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、核の形態が円形または楕円形で、核膜内層に接するヘテロクロマチンは乏しく、核小体は1～2個で網状構造が明瞭であり、核内小体は simple type のものが少数みられるものがあり、核の変入が著明で核内偽封入体も認められた。ミトコンドリアは外膜・内膜およびクリステはいずれも明瞭なものが多かった。ゴルジ装置に著変なく、粗面小胞体は短冊形の短いものが少数みられ、また、リボゾームが散在するかロゼット状を呈し細胞質内に豊富に認められた。

投与20日目の H.M.G. 細胞は12日目と大差はないが、細胞内に小空胞が若干増加していた。

投与30日目の H.M.G. 細胞は核の変入が増加し simple type の核内小体が増加している程度で12、20日目と大差がなかった。しかし腫瘍細胞は対照群に比べて、やや縮小して小型化しているが、肉眼的には腫瘍増大抑制の効果は認められなかった。

3. 2剤投与

1) MPL+TA-077投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、核の形態は円形または卵円形で平滑な核膜であるが、場所によっては小さな変入が数多くみられ、変入に伴って核内偽封入体も多かった。核小体は円形で、網状構造を呈していた。核膜内層に接して核内小体が多数認められ、核内にも多種多様

な形態のものが数多く存在したが、simple type のものが多かった。細胞質においては、ミトコンドリアは小さく、外膜・内膜およびクリステが明瞭なものと、基質部の電子密度が増加し濃縮しているものがみられた。ゴルジ装置は小さく萎縮しており、粗面小胞体は短冊状のものが散見された。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、核は小さな弯入が多く、形態が不整形であり、核内偽封入体も多くみられる。また核内小体も同様であった。核膜内層に接したヘテロクロマチンが減少していた。細胞質においては、ミトコンドリアが減少し空胞が増加していた。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、核膜の凹凸が増加し、核小体は部分的に網状構造が消失し、顆粒成分が一側に偏在する核小体成分の解離を起こしている。細胞質においてはミトコンドリアの膨化がみられた。

以上の所見より、核小体は12日目の網状構造のものから顆粒成分が消失し、経時的に核小体成分が解離していた。核膜内層に接した核内小体や各種の核内小体が多数みられるのが特異な所見であった。核膜は12日目は小さな弯入を示したが、20、30日目になると弯入が増加していた。ミトコンドリアは12、20日目では濃縮傾向を示したが、30日目では膨化していた。また細胞質には空胞が経時的に増加し、リボゾームが減少する傾向にあった。腫瘍細胞は大型化し、肉眼的に腫瘍は縮小し抗腫瘍効果が明瞭に認められた。

2) CDDP+MPL 投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、対照群に比べて核は不整形のものが増加している。また核膜の弯入もみられ、核ポケットが散見される。核内においては、ヘテロクロマチンが小集塊をなして散在していた。核小体はほぼ円形で網状構造を呈し、核小体付属クロマチンがみられた。核内小体は、simple type と complex type とがあった。細胞質においては、ミトコンドリアは膨化し二重膜構造は明瞭であるが、クリステは確認できるものとできないものがあった。またゴルジ装置は所々に散見された。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、核膜に小さな弯入があり、核小体は網状構造の不鮮明なものがみられるようになり、核内小体も多数認められた。細胞質においては、12日目と同様の所見を呈した。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、核は核膜の小さな弯入が20日目より増加し、核小体の網状構造の不規則なものが増加し核内小体も多数認められた。細胞質内においては、ミトコンドリアが膨化してクリステがほとんど消失し、ゴルジ層板の拡大、リボゾームの減少がみられた。

以上の所見から、12日目から30日目と経時的に核膜の弯入は増加していた。また核小体の網状構造の変化、核内小体の増加がみられた。ミトコンドリアは12、20日目に比べて30日目は膨化して、クリステがかなり消失して

いた。腫瘍細胞は大型化する傾向にあり、肉眼的に腫瘍は増殖抑制が認められた。

3) DTIC+FT-207投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、核膜の弯入はあまりみられなかった。核内においては、オイクロマチンが多く、核小体は円形で網状構造を呈していた。細胞質においては、ミトコンドリアが膨化している所見がみられた。

投与20日目の H.M.G. 細胞は、核小体は核の周囲に偏在し、核内クロマチンは核膜内層に接して濃縮していた。細胞質内においては、ミトコンドリアの膨化は多くなり、また多数の空胞もみられた。

投与30日目の細胞においては、核は20日目とほとんど変化はなく、細胞質内においては、ミトコンドリアが膨化しているが、ゴルジ装置は萎縮していた。

以上の所見より、核膜の小さな弯入は観察されたが、数は少なく、20、30日目ではほとんどみられなかった。細胞質においては、各群ともにミトコンドリアは膨化していた。20日目には空胞が多くみられた。全体として対照群と大差なく、腫瘍細胞の大きさも変わらず、肉眼的に腫瘍増大は抑制されなかった。DTIC、FT-207は単剤使用でほとんど効果がみられなかったが、2剤を併用しても抗腫瘍効果はなく、相加作用、相乗作用などは期待できなかった。

4) PSK+MPL 投与群

投与12日目の H.M.G. 細胞は、核の形態は円形を呈するものと、不整形のものとがあり弯入もみられた。核は核膜内層に接するヘテロクロマチンが少なく、小集塊をなして核内に分散していた。核小体は網状構造を呈しており、核内小体も散見された。細胞質においては、ミトコンドリアの二重膜構造は明瞭にみられ、クリステも確認できた。また小さな空胞やライソゾームが散見された。

投与20日目には、核は不整形のものが多くみられた。核小体は顆粒成分が一側に偏在し、網状構造が不規則になっている。細胞質においては、空胞が目立ち、ミトコンドリアは減少していた。

投与30日目の H.M.G. 細胞は、核小体は網状構造が不明瞭になり、細胞質内においては、ミトコンドリアの濃縮がみられ、ゴルジ装置も萎縮していた。リボゾームの減少は比較的軽度であった。

以上の所見により、12日目はミトコンドリア、ゴルジ装置、粗面小胞体に特に変化なく核小体の網状構造も認められるが、20日目からは核小体の構造は一部不鮮明になり、空胞は増加して細胞内情報もわかりにくくなっている。

腫瘍細胞は小型化する傾向にあり、肉眼的に腫瘍は増大抑制から若干縮小する方向にあり、PSKは単剤ではほとんど効果が認められなかったが、MPLと併用する

と MPL 単剤使用より効果があった。

考 察

抗腫瘍剤、免疫製剤は腫瘍の治療において手術療法、放射線療法とともに重要な位置を占め集学的治療の分野を荷っているばかりでなく、多くの悪性腫瘍において初期には抗腫瘍剤、免疫製剤のみでコントロール可能の場合もあり、放射線療法の併用によってかなりの有効性を増してきている。また末期癌療法における患者の苦痛軽減や延命に役立つ場合も多い。しかし抗腫瘍剤に対する腫瘍の反応は一律ではなく、使用する薬剤の選択、投与方法、多剤併用の組み合わせなどによって効果にかなりの差異が生じ、現状では個々の腫瘍に対し、または患者個人に対し薬剤の使用法が考えられなければならない。

著者は H.M.G. 細胞をヌードマウスに移植し、形成された悪性黒色腫に対し、抗腫瘍剤、免疫製剤およびそれらの2剤併用を行い、肉眼的、光顕的に効果を判定するとともに電子顕微鏡所見より微細構造を追求し、その変化と薬剤投与との間に何らかの関係があるか否かを検討した。

抗腫瘍剤投与による微細構造の変化としては核の変化が最も重要視され⁷⁻¹¹⁾、核膜湾入の増加または減少、核膜内層に接するヘテロクロマチン^{12,13)}や核内のオイクロマチン¹⁴⁾、核小体の数¹⁵⁻¹⁸⁾と網状構造の変化、核内小体の多少とその構造¹⁹⁻²²⁾などがあげられている²³⁻²⁶⁾。細胞質においてはゴルジ装置やリボゾームの減少、粗面小胞体²⁷⁾、ミトコンドリアの変化²⁸⁾、ライソゾームの出現、細胞膜では細胞間隙の開大、デスモゾームの減少^{29,30)}、微絨毛様突起の増加、基底膜の変化³¹⁾などが述べられている。

使用した抗腫瘍剤はアルキル化剤として、MPL、TA-077、DTIC、CDDP、代謝拮抗剤として FT-207、および免疫製剤として PSK を用いた。2剤併用としては MPL+TA-077、CDDP+MPL、FT-207+DTIC、PSK+MPL の組み合わせで行った。アルキル化剤はアルキル反応によって細胞内の種々の受容体にアルキル基を導入して細胞に障害を与えるとされているが、薬剤の種類によってその作用機序は異なっている。

1) MPL^{32,33)} は nitrogen mustard 系に属し、DNA のアルキル化、特にグアニンの N-7 に結合し、DNA の複製と転写を抑制するとされている。MPL 投与による H.M.G. 細胞の微細構造の変化は、核小体の顆粒成分が減少し網状構造が不鮮明になること、ミトコンドリアが12日目では濃縮するが20、30日目には膨化しクリステの断裂がみられることで、核小体やミトコンドリアにおける DNA 合成を阻害しているのではないかと考えられ、リボゾームが減少し、H.M.G. 細胞は若干縮小し、腫瘍も増大が抑制されていた。

2) DTIC^{33,34)} は triazene 系に属するアルキル化剤で、DNA 合成阻害による抗腫瘍効果があり、臨床的には現在悪性黒色腫に対して最も有効な薬剤の1つとしてあげられている。しかし DTIC 投与による H.M.G. 細胞の微細構造の変化は対照と大差なく、肉眼的にも腫瘍増大抑制効果は認められなかった。

H.M.G. 細胞は患者胸水中のメラノーマ細胞 (amelanotic melanoma cell) を株化したもので、患者の黒色腫は DTIC 投与により黒色部は縮小したが、無色部は縮小せず、転移部位もほとんどが amelanotic melanoma であったことから、H.M.G. 細胞には DTIC が無効であると思われる²⁾。

3) TA-077³⁵⁾ は、nitorosourea 系のアルキル化剤で masked compound であるが、マルターゼの作用によりグルコース 1 分子が離脱して活性代謝物 TA-G となり、DNA 合成を阻害するとされている^{36,37)}。

TA-077 投与による H.M.G. 細胞の微細構造の変化は、核小体の顆粒成分の減少により網状構造が不規則になり、核膜内層に接するヘテロクロマチンが減少し、核内に小集塊となって散在していた。腫瘍細胞は経時的に縮小する傾向があり、肉眼的にも30日目には明らかに腫瘍抑制効果が認められた。

4) CDDP³⁸⁻⁴⁰⁾ は、白金を有する特異なアルキル化剤系の抗腫瘍剤として近年その有効性が認められているが、DNA の1本鎖あるいは2本鎖間に架橋を形成して DNA の複製を阻害する。他の抗腫瘍剤と交叉耐性を示さない特徴がある⁴¹⁻⁴³⁾とされている。

CDDP 投与により H.M.G. 細胞の微細構造は、核の外形に小さな凹凸が増加し、核小体では顆粒成分が減少して網状構造が不鮮明になった。ミトコンドリアは12日目よりクリステの消失が著しく、20日目以降にはほとんど消失するが、外膜・内膜はともによく保存されきわめて特異な変化を示した。このような所見は他の抗腫瘍剤ではみられなかった。腫瘍細胞は増大して大型化しているが、腫瘍は肉眼的には12、20日目までは増大抑制、30日目には縮小傾向にあった。

5) FT-207⁴⁴⁻⁴⁷⁾ は、ピリミジン代謝拮抗剤で、生体内ではおもに肝薬物代謝酵素により代謝されて 5-FU を徐々に遊離する。dUMP→dTMP を阻止して DNA 合成を阻害し、また RNA に取り込まれて RNA のプロセッシングを妨げ RNA 機能^{48,49)}をも障害する。主として S 期に作用する^{50,51)}が G₂ 期、M 期にも影響するとされている。

H.M.G. 細胞の微細構造では、核小体の一部解離、ミトコンドリアのクリステの膨化などの所見は観察されるが、腫瘍細胞の大きさは対照と大差なく、肉眼的に腫瘍増大抑制効果も認められなかった。

6) PSK⁵²⁾ は非特異的な免疫賦活剤で生体機能の低下を防ぎ、宿主を介して腫瘍増大抑制効果を発揮すると

されている。

本実験に使用したヌードマウスはT細胞機能を欠いているので、マクロファージ中のリボゾームが蛋白分解酵素を生成し、酸性フォスファターゼ活性を高め、腫瘍細胞の増殖を抑制すると思われる。

しかし、PSK を H.M.G. 腫瘍に投与しても微細構造では対照と大差なく、わずかに腫瘍細胞が小型化する程度で、肉眼的にも腫瘍増大抑制効果は認められなかった。

2 剤併用について

各種の抗腫瘍剤や他の薬剤を組み合わせ使用することによって種々の利点があると考えられ、臨床上多くの試みがなされてきた。

1) 抗腫瘍剤の相加効果または相乗効果

一般に抗腫瘍剤は細胞周期の G₀ 期には作用せず、G₁ 期、S 期、G₂ 期、M 期のそれぞれまたは複数の周期に作用⁵³⁾する。したがって作用する周期の異なるものを併用したり、第1の薬剤で細胞周期を同調させ、第2の薬剤で効果を充める方法などがとられている⁵⁴⁾

また作用機転の異なる薬剤の併用により効果をあげようとする試みもある。

2) 抗腫瘍剤の副作用を分散させる

骨髄抑制のある薬剤とない薬剤を併用し、副作用を分散させてより長期に大量投与の可能性を求める。

3) 薬剤耐性発現を防止する⁵⁵⁻⁵⁸⁾

第1剤に耐性が発現しても、第2剤には耐性がないかわしる感受性が充っていることがある。また併用によって耐性の発現を阻止しうる可能性も考えられる

4) 抗腫瘍剤と他の薬剤の併用

i) 生体の免疫能を増強する

ii) 抗腫瘍剤の腫瘍への到達を容易にする

iii) 腫瘍細胞内から抗腫瘍剤を速やかに排出する機構を抑制する

これらに使用される物質としては、蛋白分解酵素(Protease)、血管透過性亢進物質(Urokinase)、水解酵素(Lysosome)、膜透過亢進物質(Vitamin A)、線維芽細胞増殖抑制剤(Vitamin K)、インターフェロン、インターロイキン、BCG、細菌製剤(ビシバニール)、PSK、ホルモン、カルシウム拮抗剤⁵⁹⁾、モノクローナル抗体⁶⁰⁾など各種の薬剤があげられている。

しかし、薬剤の選択、使用時期、時間差、投薬順位、薬剤量、dosis dependent と time dependent の問題、腫瘍の薬剤受容性の相異、担癌体の内部環境などさまざまな要因が関与するため、きわめて複雑であり、多くの併用療法が試みられていることはまだ十分解明されていない証拠といえよう。

したがって、著者は H.M.G. 細胞に対して単剤として効果のあったものとそうでなかったものを組み合わせ使用し、微細構造にどのような変化があるかを検討して

みた。

1) MPL+TA-077

ともにアルキル化剤に属するが、DNA 合成阻害に対する作用機転が異なるので、個々の単剤投与との相異を観察した。

核小体における顆粒成分の減少と核小体分離が明瞭であり、核膜内層に接して核内小体が多数出現し、核内にも種々の形態の核内小体がみられ特異な所見を呈した。腫瘍細胞が大型化し、肉眼的に腫瘍は縮小し、抗腫瘍効果が明らかに認められ、MPL と TA-077 の併用は有効であると思われる。

2) CDDP+MPL

CDDP はアルキル化剤に属するとされているが、白金をもつ特異な薬剤であり、近年各種の腫瘍に対して有効な薬剤として臨床で多用されている。

CDDP 単剤で使用した時に認められたミトコンドリアの内・外膜二重構造は比較的保存されながら、クリステがほとんど消失するという特徴は併用においても認められ、CDDP はミトコンドリアの DNA 合成阻害による細胞のエネルギー源の消失をもたらし、MPL は核における DNA の合成阻害に働き併用効果があったものと考えられる。

3) DTIC+FT-207

悪性黒色腫に有効な抗腫瘍剤が少ないなかで、アルキル化剤に属する DTIC は最も効果があり、第1選択とされていたが、H.M.G. の患者で amelanotic cell に無効であったことから、本実験においてもあまり効果が認められなかった。

代謝拮抗剤である FT-207 は DNA, RNA 両者の合成を阻害するとされているが、H.M.G. 細胞に対してはあまり効果がなく、DTIC と FT-207 の併用により、FT-207 が DTIC に抵抗する H.M.G. 細胞に何らかの変化をもたらし、DTIC が作用するのではないかと期待したが効果は得られなかった。

4) PSK+MPL

非特異的免疫賦活剤である PSK は、T 細胞を欠くとされているヌードマウスでは、マクロファージの活性化が期待されたが、H.M.G. 細胞に対してはあまり効果がなかった。MPL は H.M.G. 細胞に対して腫瘍増大抑制効果があったが、PSK との併用により効果が増強された。微細構造では特異な所見は認められないが、MPL、PSK は単独投与でも H.M.G. 細胞を若干小型化する傾向があり、併用においても同様の変化が認められたが、特に増強されることはなかった。核膜の一部にみられる大きな嚢入は少なく、小さい嚢入が全周にわたって増加し、全体として核は円形に近くなる傾向にあった。

微細構造の変化の概略を述べると、核については顕著な核膜の嚢入、核内偽封入体の増加は悪性腫瘍の特徴とされている。抗腫瘍効果がある場合には大きい嚢入は減

少するが、小さい凹入は増加する傾向にあり、核は円形に近い形態を示すようになる。核膜内層に接するヘテロクロマチンは不活性の状態にあるとされているが、抗腫瘍剤の種類によって減少または増加し、必ずしも一様ではない。しかし抗腫瘍効果があるときは、ヘテロクロマチン、オイクロマチンともに減少する傾向がある。核小体は顆粒成分と線維成分よりなり、比較的規則正しい構造を呈しているが、抗腫瘍効果のあるときは、顆粒成分の減少や核小体分離が認められ、網状構造が不規則になる。核内小体は種々の形態のものが多数出現するとき、抗腫瘍効果がみられた。その他、核小体の数や大きさ、染色質間顆粒、染色質周囲顆粒、核小体に接するヘテロクロマチン、核内封入体などについては、明確な所見が得られなかった。

細胞質については、ミトコンドリアは萎縮し電子密度の高いものと、膨化して明るくクリステの断裂し、内膜は消失するものとがみられるが、その程度は抗腫瘍効果とある程度並行すると思われる。

粗面小体の短小、膨化、細胞質全体に分散しているリボゾームやポリゾームの減少、ゴルジ装置の萎縮や層板構造の著しい拡大など、いずれも抗腫瘍剤の効果と一致する傾向にある。

細胞については細胞膜の間隙拡大、デスモゾームの増減、微絨毛様突起などについては明らかに認めることはできなかったが、細胞の大型化や小型化は抗腫瘍効果と関係があった。

すべての実験群において、メラノゾームは認められず、プレメラノゾームも数が少なく、その増減や形態的变化から薬剤の影響を判別することはできなかった。

薬剤の併用に際して、個々の作用機転から結果を推測することは困難であり、理論的には有効と考えられても、臨床的には必ずしも効果が得られないことは、しばしば経験するところである。しかし、薬剤の作用機転より推測できる可能なかぎりの薬剤の併用を試みることは、前述した種々の利点を生かすことであり、今後さらに追求する必要があると思う。

抗腫瘍剤の効果判定に微細構造を検討することは意義があり、ことに特異な構造の変化は重要である。電子顕微鏡による観察は操作が複雑で、時間を要することが大きな欠点であるが、個々の薬剤について、また併用について詳細に検討し、生化学的研究の結果を合わせ考えることにより有用性を増すのではないかと考えられる。

結 語

患者胸水より得られた悪性黒色腫細胞株 H.M.G. 細胞をヌードマウスに移植し、形成された腫瘍に対する各種抗腫瘍剤、免疫剤の効果を目視的、光学顕微鏡的および電子顕微鏡的に観察し、ことに微細構造の変化から

効果を検討した。

1) 抗腫瘍剤としてアルキル化剤に属する MPL, DTIC, TA-077, CDDP, 代謝拮抗剤として FT-207, 免疫療法剤として PSK, 併用薬剤として MPL+TA-077, CDDP+MPL, FT-207+DTIC, PSK+MPL を使用した。

2) 単剤としては、MPL, TA-077, CDDP に効果が認められたが、DTIC, FT-207, PSK は対照と比較してあまり変化がなかった。

3) 併用としては、MPL+TA-077, CDDP+MPL が個々の単剤より効果が増し、PSK+MPL では PSK は単剤としては効果がないが、MPL の作用を若干増強する傾向が認められた。

FT-207+DTIC は無効であった。

4) 微細構造については核膜、核小体、核内小体、細胞内小器官などに変化がみられた。

特異な所見としては、MPL+TA-077 において核膜内層に接する核内小体が多数出現し、核内にも種々の核内小体が増加したこと、CDDP においてミトコンドリアの外膜・内膜の二重構造は、比較的よく保存されているが、クリステがほとんど消失することであった。

5) プレメラノゾームはいずれの実験群にも認められたが、その数は少なく、薬剤投与との関係は明らかにできず、メラノゾームも認めなかった。

6) H.M.G. 細胞の大きさについては、単剤では CDDP で細胞は増大して大型化し、TA-077, PSK で縮小して小型化する傾向にあった。

併用では MPL+TA-077 で顕著な大型化がみられ、CDDP+MPL では大型化する傾向にあった。PSK+MPL では縮小して小型化していた。細胞が大型化または小型化することと、抗腫瘍効果との間には明らかな関係が認められた。

稿を終えるにあたり、終始ご懇切なご指導とご校閲を賜った恩師村田睦男教授に深く感謝いたします。また本研究に際しご助言、ご援助を頂きました平野吉雄講師、田川俊郎講師、乾真登可講師、北川弘二博士に深く感謝いたします。ご協力頂きました教室の諸兄姉、ならびに三重大学電子顕微鏡センター小川覚技官、松岡和子さんに厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨の一部は、第10回三重歯科学会、第8回国際口腔外科学会において発表した。

引 用 文 献

- 1) 石原和之：メラノーマ治療の現状。癌の臨床 25: 741-746 1976.
- 2) 山本有一郎，森 喜郎，他：上顎前歯部歯肉に発生した悪性黒色腫の1例。日口外誌 27: 619-

- 627 1981.
- 3) 田川俊郎：ヒト歯肉由来悪性黒色腫培養細胞に関する実験的研究。日口外誌 27:833-845 1981.
 - 4) 乾 真登可，大瀬周作，他：ヌードマウス可移植性 Amelanotic melanoma cell (HMG)での実験的化学療法。日口外誌 29: 224-231 1983.
 - 5) 乾 真登可：ヌードマウス可移植性 Amelanotic melanoma での実験的化学療法。日口外誌 30: 24-43 1984.
 - 6) Ovejera, A.A. and Houchens, D.P.: Selection of potential anticancer agents using human tumor xenografts in nude mice. *Contact No. 1-CM-67099-NCL, Battelle Columbus Laboratories, Columbus, Ohio 43201, USA*, p 1-12.
 - 7) 安澄権八郎：核の微細構造。細胞 1:2-11 1969.
 - 8) 安澄権八郎：核の電顕像の診断学的価値。細胞 6: 220-237 1974.
 - 9) Suzuki, H., Nagai, K., et al.: Mechanism of action of bleomycin, Studies with the growing culture of bacterial and tumor cells. *J Antibiot* 21: 379-386 1968.
 - 10) Suzuki, H., Nagai, K., et al.: On the mechanism of action of bleomycin; Scission of DNA strands *in vitro* and *in vivo*. *J Antibiot* 22: 446-448 1969.
 - 11) Tanaka, N., Yamaguti, H., et al.: Mechanism of action of bleomycin, 1. Selective inhibition of the DNA synthesis in E. Coli and Hela cells. *J Antibiot* 16: 86-91 1963.
 - 12) Wyllie, A.H. and Kerr, J.F.R.: Cell death: The significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol* 68: 251-306 1980.
 - 13) 中西 有：細胞分化における核構造の変化。細胞 14: 7-12 1982.
 - 14) Yasuzumi, G. and Sugihara, R.: The fine structure of nuclei as revealed by electron microscopy. *Exp Cell Res* 40: 45-55 1965.
 - 15) Bouteille, M., Kalifat, S.T., et al.: Ultrastructural Variations of nuclear bodies in human diseases. *J Ultrastruct Res* 19: 474-486 1967.
 - 16) Yasuzumi, G. and Sugihara, R.: The fine structure of nuclei as revealed by electron microscopy. *Exp Cell Res* 37: 207-229 1965.
 - 17) Lapis, K. and Bernhard, W.: The effect of Mitomycin-C on the nucleolar fine structure of KB cells culture. *Cancer Res* 25: 628-645 1965.
 - 18) Unuma, T. and Busch, H.: Formation of microspherules in nucleoli of tumor cells treated with high doses of Actinomycin D. *Cancer Res* 27: 1232-1242 1967.
 - 19) 安澄権八郎，阪本弘典，他：退化性核に現れる核内小体について。J. Clin. Electron Microscopy 7: 151-159 1974.
 - 20) 計良恵治，武田清一：正常と病的状態の核内小体。細胞 14: 13-19 1982.
 - 21) Weber, A.F. and Frommes, S.P.: Nuclear Bodies: Their Prevalence, Location, and Ultrastructure in the Calf. *Science* 141: 912-913 1963.
 - 22) 計良恵治，武田清一，他：ヒト甲状腺乳頭癌実質細胞中の核内小体。J Clin Electron Microscopy 12: 321-332 1979.
 - 23) Kierszenbaum, A.L.: Relationship between Nucleolus and Nuclear Bodies. *J Ultrastruct Res* 29: 459-469 1969.
 - 24) Smetana, K., Gyorkey, F., et al.: Compact filamentous bodies of nuclei and nucleoli of human prostate gland. *Exp Cell Res* 64: 133-139 1971.
 - 25) Vagner-Capedano, A.M., Mauchamp, J., et al.: Nucleolar budding and formation of nuclear bodies in cultured thyroid cell stimulated by thyrotrophin, dibutyryl cyclic AMP, and prostaglandin E₂. *J Ultrastruct Res* 70: 37-51 1980.
 - 26) Krshan, A., Uzman, B.G., et al.: Nuclear bodies: A component of cell nuclei in hamster tissues and human tumors. *J Ultrastruct Res* 19: 563-572 1967.
 - 27) 森 道夫，小川勝洋：病理から見た壊死。細胞 16: 216-220 1984.
 - 28) Siekevitz, P. and Palade, G.E.: A cytochemical study on the pancreas of the guinea pig, V. *in vivo* incorporation of leucine-1-C¹⁴ into the chymotrypsinogen of various cell fractions. *J Biophysic and Biochem Cytol* 7: 619-630 1960.
 - 29) Abcrombie, M. and Ambrose, E.J.: The surface properties of cancer cell. *Cancer Res* 22: 525-548 1962.
 - 30) McNutt, N.S.: Ultrastructural comparison of the interface between epithelium and stroma in basal cell carcinoma and control human skin. *Laboratory Investigation* 35: 132-142 1976.
 - 31) Frei, J.V.: The fine structure of the basement membrane in epidermal tumors. *J Cell Biol* 15: 335-342 1962.
 - 32) Bergel, F. and Stock, J.A.: Cytotoxic alpha-amino acids and peptides. *Brit Emp Cancer Campaign Annual Report* 31: 6-11 1953.
 - 33) 岡本喜六，田中 昇，他：ヌードマウス可移植性ヒト悪性黒色腫を用いたモデル癌化学療法実験—生物学的にも治療薬剤に対する反応は全く異なる melanotic および amelanotic の2系に分離された例—癌の臨床 26: 1351-1360.
 - 34) 石原和之：悪性黒色腫。最新医学 41: 618-625 1986.

- 35) 田口 鐵男: 1-(2-chloroethyl)-3-isobutyl-3-(β -maltosyl)-1-nitrosourea (TA-077) の Phase I Study. 癌と化学療法 13: 2424-2433 1986.
- 36) 瀬戸幹夫, 赤池幸男, 他: 1-(2-chloroethyl)-3-isobutyl-3-(β -maltosyl)-1-nitrosourea (TA-077) の抗腫瘍効果. 日癌学誌 39: 195 1980.
- 37) 新井叔久, 赤池幸男, 他: 1-(2-chloroethyl)-3-isobutyl-3-(β -maltosyl)-1-nitrosourea (TA-077) の作用機序. 日癌学誌 39: 214 1980.
- 38) Rosenberg, B.: Cisplatin, Its history and possible mechanism of action. Academic press, New York, 1980, p 9-20.
- 39) 川井 博: Cisplatin について. 臨泌 35: 111-120 1981.
- 40) 塚越 茂, 抗腫瘍作用. 加藤 俊, 太田和雄: シスプラチンの臨床応用, 初版, 協和企画通信, 東京, 1983, 29-44頁.
- 41) 藤田 浩: 薬理の代謝. 加藤 俊, 太田和雄: シスプラチンの臨床応用, 初版, 協和企画通信, 東京, 1983, 11-27頁.
- 42) 高橋克俊, 海老原和雄, 他: cis-dichlorodiammine platinum(II) の抗腫瘍効果および細胞周期内進行に及ぼす作用. 癌と化学療法 9: 624-631 1982.
- 43) Connors, T.A.: Antitumor effects of platinum complexes in experimental animals. Recent Results Cancer Res 48: 113-123 1974.
- 44) Hiller, S.A. and Zhak, A.A.: Chem Abstr. 176: 332-335 1967.
- 45) 中村 徹, 内田三千彦: DNA 代謝の面からみた抗腫瘍剤の作用機序. 癌と化学療法 15: 1003-1010 1988.
- 46) 金丸龍之介, 涌井 昭, RNA の代謝の面からみた抗腫瘍剤の作用. 癌と化学療法 15: 1011-1018 1988.
- 47) Heidelberger, C. and Chaudhuri, N.K.: Fluorinated pyrimidines a new class of tumor-inhibitory compounds. Nature 179: 663-669 1957.
- 48) Kanamaru, R., Kakuta, H., et al.: The inhibitory effects of 5-fluorouracil on the metabolism of preribosomal and ribosomal RNA in L-1210 cells *in vitro*. Cancer chemo Pharma 17: 43-46 1986.
- 49) Armstrong, R.D., Lewis, M., et al.: Acute effect of 5-fluorouracil on cytoplasmic and nuclear dihydrofolate reductase messenger RNA metabolism. J Biol Chem 261: 7366-7371 1986.
- 50) 田口鐵男, 中野陽典: 抗癌剤の癌組織到達性について. 日癌治誌 14: 48-49 1979.
- 51) 藤井節郎, 北野静雄, 他: FT-207 および 5-FU との併用療法に関する研究. 癌と化学療法 6: 1097-1103 1979.
- 52) 塚越 茂: 多糖類の担癌動物に対する宿主効果, 特にカラタケ由来蛋白質 PSK の作用について. 癌と化学療法 1: 251-257 1974.
- 53) 御供泰治, 高木 滋: Flow cytometry による細胞回転からみた作用機序の検討. 癌と化学療法 15: 1019-1025 1988.
- 54) 天神美夫, 杉田道夫: 細胞回転と癌化学療法. 医学のあゆみ 141: 576-580 1987.
- 55) 鶴尾 隆: 抗癌剤耐性の機序からみた新しい化学療法へのアプローチ. 癌と化学療法 15: 1026-1030 1988.
- 56) Chen, C., Chin, J.E., et al.: Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the model (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cell. Cell 47: 381-389 1986.
- 57) Gerlach, J.H., Endicott, J.A., et al.: Homology between P-glycoprotein and a bacterial haemolysin transport protein suggests a model for multidrug resistance. Nature 324: 485-489 1986.
- 58) Hamada, H. and Tsuruo, T.: Functional role for the 170-to 180-kDa glycoprotein specific to drug-resistant tumor cells as revealed by monoclonal antibodies. Proc Natl Acad Sci USA 83: 7785-7789 1986.
- 59) Cornwell, M.M., Safa, A.R., et al.: Membrane vesicles from multidrug-resistant human cancer cells contain a specific 150-to 170-kDa protein detected by photoaffinity labeling. Proc Natl Acad Sci USA 83: 3847-3850 1986.
- 60) 山口 博: メラノーマに対するヒトモノクローナル抗体の作製とその臨床応用の可能性. 癌と化学療法 15: 1677-1684 1988.

写真 1

写真 2

写真 3

写真 4

写真 5

写真 6

写真 7

写真 8

写真 9

写真 10

写真 1 対照群 12日目

血管壁より数層離れた、ほぼ10層目までの細胞の所見。周囲の黒い部分はメッシュの枠を示す。

写真 2 対照群 20日目

核膜は平滑で一部に弯入がみられる。核小体は大きく網状構造を呈し、核質部左上方部には simple type の核内小体がみられる。ミトコンドリア (M) は外膜・内膜およびクリステがみられる。ゴルジ装置 (Go) も発達し、プレメラノゾーム (Pm) も散見される。

写真 3 MPL 20日目

核小体 (Nu) は網状構造を呈し、simple type の核内小体 (Nb) もみられる。細胞質には、層板が拡張したゴルジ装置が散在し、膨化したミトコンドリアが認められる。

写真 4 TA-077 20日目

核内には、3 個の網状構造をした核小体がみられ、ヘテロクロマチンが付着している。細胞質では、クリステの不明瞭なミトコンドリアがみられる。

写真 5 CDDP 30日目

核内には、核小体は網状構造が不明瞭になり、核内偽封入体がみられ、ヘテロクロマチンは小集塊として散在している。細胞質では、二重膜をもちクリステの消失したミトコンドリアが多数みられる。

写真 6 CDDP 30日目

ミトコンドリアの外膜・内膜は認められるが、クリステのほとんどは消失している。

写真 7 FT-207 30日目

核内には、核膜内層に接したヘテロクロマチンが少なく simple type の核内小体が認められる。細胞質内では、ミトコンドリアは外膜・内膜とクリステがみられ、層板の拡張したゴルジ装置付近には、プレメラノゾームが多数みられる。

写真 8 MPL+TA-077 12日目

平滑な核膜の内層に接して核内小体が出現し、核内にも多種多様な核内小体が多数みられる。細胞質には、濃縮したゴルジ装置と、短い粗面小胞体が認められる。

写真 9 MPL+TA-077 12日目

円形の平滑な核膜内層に接して、多数の核内小体が認められる。

写真 10 PSK+MPL 30日目

核小体は、不明瞭な網状構造であり、ヘテロクロマチンの小集塊が散在している。細胞内では、ゴルジ装置は萎縮し、ミトコンドリアも濃縮してリボゾームも減少している。