4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) 誘発ラット舌癌に対する peplomycin の抗腫瘍効果に関する実験的研究

畑 田 憲 一

Experimental study on the carcinostatic effects of peplomycin on tongue carcinoma induced by 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) in rats

Kenichi HATADA

Abstract: We examined the antitumor effect of peplomycin morphologically using a rat model of tongue carcinoma induced by the carcinogenic agent, 4-nitroquinoline 1-oxide. We also studied the survival status of reproliferative tumor cells and the reproliferative movement of the tumor after the completion of peplomycin treatment.

The effective rate of peplomycin was 25.5% if tumors showing a reduction of 1/2 or greater are designated as a positive response or 5.9% if histological evidence of Grade Ⅲ or above is regarded as a positive response.

We noted a correlation between clinical macroscopic type and the mode of invasion. The frequency of ingrowing growth patterns such as ulcer type was statistically higher in types 4C and 4D, while outgrowing growth patterns were more commonly noted in types 1 to 3.

We also noted that the higher the tumor invasion, the lesser was the antitumor effect both macroscopically and histologically. Therefore, when carrying out neo-adjuvant chemotherapy with peplomycin, the mode of tumor invasion can be an important factor in forecasting the effect of treatment.

Even after the macroscopic eradication of the lesion by peplomycin treatment, we sporadically noted some sections with histological evidence of surviving tumor cells. Although the antitumor effect of peplomycin remained up to 20 days after completing treatment, it was most remarkable 10 days after treatment histologically.

Macroscopically, tumors of ulcer type showing a type 4C or 4D mode of invasion were characterized by rapid reproliferation of surviving tumor cells and strongly tended to be heteromorphic.

It was concluded that peplomycin preoperative chemotherapy is most effective when treatment is planned so that surgery can be carried out within 10 days after completing chemotherapy.

Key words: tongue carcinoma induced by 4NQO in rats (4NQO 誘発ラット舌癌), squamous cell carcinoma (扁平上皮癌), peplomycin (ペプロマイシン), antitumor effect (抗腫瘍効果), reproliferation movement (再増殖動態)

緒 言

近年、口腔癌の治療は根治的治療が可能な切除手術が主体として行われているが、さらに放射線療法や化学療法を併用することで、その治療成績を高める努力もはらわれている。術前化学療法¹⁾の目的は全身的に存在する micro metastasis を早期に制圧し、局所的には腫瘍細胞の活性を低下させ、手術時の播種の危険を軽減させるとともに、腫瘍が著しく縮小した場合には切除範囲を小さくすることをねらったものである。しかし、切除範囲の縮小によって手術侵襲が少なく、かつ形態と機能が温存できるという利点を有している反面、骨髄抑制などの副作用のため手術が制限されることや切除境界部が不明瞭となりやすいことなどから、再発のリスクも高くなるなどの欠点も指摘されている。

頭頸部領域における術前化学療法剤としては、骨髄抑制などの副作用が少なく扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果が他の薬剤よりも高い peplomycin が使用されているが²⁻⁹⁾、手術時期や切除範囲の設定は各施設によってさまざまであり、治療成績にも大きな差がある。さらに、化学療法を行う上できわめて重要なことは、腫瘍は抗腫瘍剤に対する感受性に差がある細胞群で構成された、いわゆるモザイク様構造を呈しているということである。そのため症例によって抗腫瘍効果に大きな差があり、肉眼的抗腫瘍効果からある程度の組織学的抗腫瘍効果を推測することはできても、再増殖能力のある細胞群が残存しているか否かを知ることはできない。そのため化学療法施行後、腫瘍が消失したと判定され、切除範囲から除外された部位からの再増殖が起こる危険性や、手術のタイミングをはかっている内に組織学的には再増殖に転じていたという恐れがある。

術前化学療法を適確に行うためには、術前化学療法の肉眼的効果と組織学的効果の間にどのような相違があるか、また、peplomycin のような投与量に制限のある薬剤においては、投与終了後に腫瘍の再増殖はどのように起こるかについて熟知しておく必要があるにもかかわらず、この点に関する報告はきわめて少ない。

そこで今回、著者はこれらの問題を解明するために、当教室で確立したラット舌癌モデル¹⁰⁻¹³⁾を用いて、peplomycin の肉眼的抗腫瘍効果と組織学的抗腫瘍効果の関係、さらに peplomycin 投与終了後の腫瘍の再増殖について観察した。

実験材料および方法

1. 実験動物

Sprague-Dawley 系 (以下 S-D 系と略す)、雄性ラット 40 匹を使用した。実験動物は、東京歯科大学動物舎の

表 1 浸潤様式の種類 (山本・小浜)

1 型: 境界線が明瞭である。
2 型: 境界線にやや乱れがある。
3 型: 境界線は不明瞭で大小の腫瘍胞巣が散在。
4 C 型: 境界線は不明瞭で小さな腫瘍胞巣が索状に浸潤。
4 D 型: 境界線は不明瞭で腫瘍は胞巣をつくらず、瀰漫性に浸潤。

金属ケージで飼育し、飼料は固形飼料 MF (オリエンタル酵母工業社製) を与えた。

2. 実験方法

1) 発癌剤および投与方法

発癌剤 4-nitroquinoline 1-oxide (ナカライテスク株式会社製、以下 4NQO と略す) 1.0 g を純アルコール 50 ml と蒸留水 4,950 ml に完全に溶解させ、4NQO 濃度 200 ppm の保存原液とした。動物に投与する際、50 ppm の濃度となるように水道水で 4 倍に希釈して遮光給水瓶に入れ、ラットの体重が 200 g に達した時点で経口投与を開始した。投与期間は、7 か月間を一応の目安とし、肉眼観察によって目的とする病変が発現した時点で投与を中止した。

4NQO 誘発ラット舌癌モデルにおいて認められる病変の視診型は、白斑型病変、潰瘍型病変、外向性腫瘤型塊状病変 (以下塊状病変と略す)、外向性腫瘤型乳頭状病変 (以下乳頭型病変と略す) の 4 型に分類¹⁰⁻¹³⁾することができる。これらの基準に一致した病変が認められた時点で動物を順次抽出し、peplomycin の投与を開始した。また、peplomycin 未投与の対照群とした動物は 5 匹であった。

2) peplomycin の投与量および方法

(1) 舌癌組織の生検

peplomycin の投与前に生検を行い、腫瘍浸潤様式を山本・小浜の分類¹⁴⁻¹⁶⁾に従って 1 型から 4 D 型までの 5 型に分類した (表 1)。また、投与終了後、肉眼的に最も効果の認められた時期にも一部の実験動物では生検を行い、肉眼的効果との関連の指標とした。

(2) peplomycin の投与方法

生検による組織侵襲が回復するのを待って、peplomycin の投与を開始した。投与量および投与方法は、外木^{17, 18)}の方法に準じて 4 mg/kg/day を注射用蒸留水に溶解し、腹腔内に 10 日間連続投与した。

3) ³H-thymidine の投与量および方法

18.5 kBq の ³H-thymidine (specific activity 185 GBq/mM: Amersham Japan) をラットに腹腔内に投与し 2 時間の flash labeling を行った。

4) 血管内墨汁注入方法

Pentobarbital (25 mg/kg) 腹腔内麻酔下に開胸し、左

図 1 実験日程

心室より上行大動脈にカテーテルを挿入し、これを結紮固定した。ついで左右の心耳を切開し、これを血液および注入剤の流出路とし、90~100 mmHg の注入圧で加温生理食塩液で十分に灌流した。瀉血後、生体墨汁 (pH 7.4, 浸透圧 300 mOs: カイメイ株式会社) を約20分間注入し、次にゼラチン (0.02 g/ml) を加えた生体墨汁をさらに5分間注入した。動物をしばらく放置した後、舌を採取した。

5) 標本作製方法 (図1)
peplomycin 投与終了時より、10日後、20日後、50日後に ³H-thymidine を投与した動物を血管内に墨汁を注入して屠殺し、舌病変を摘出した後これを10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。その後試料を矢状断方向に切り出し、通法に従ってパラフィン包埋し、後述の各薄切切片を連続切片として作成した。

(1) H-E 染色標本
厚さ4 μm の切片を作成して、Hematoxyline-Eosin 重染色を施し検鏡した。

(2) Microautoradiogram
厚さ2 μm の切片を作成して、Microautoradiogram (以下 ARG と略す) を作製した。乳剤は Konica NR-M2 (コニカ株式会社製) を用い、Dipping 法で乳剤を塗布した後、4°C に設定した乾燥剤入りの密封暗箱内で30日間露光した。次いでコニカドールスーパー (コニカ株式会社製) を用いて20°C で7分間現像し、コニカフィックス (コニカ株式会社製) を用いて20°C で20分間定着した。水洗を30分間行った後、H-E 後染色を施し検鏡した。

(3) 血管内墨汁注入標本
腫瘍および周囲組織の血管構築を観察するため、血管内墨汁注入標本作製した。厚さ100 μm の切片とし、キシレンで透徹し検鏡した。

6) 観察方法
(1) 肉眼的観察

peplomycin 投与終了後、5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 日後に舌病変のスケッチおよび写真撮影を行い、肉眼的抗腫瘍効果を判定した。

(2) 組織学的観察
a) 病理組織学的変化の観察
H-E 染色標本により、腫瘍の病理組織学的変化、細胞学的変化を中心に観察した。

b) 腫瘍血管構築の観察
腫瘍血管構築は血管内墨汁注入標本で観察し、関川¹⁹⁾、片倉²⁰⁾の分類に従って、以下の6型に分類した。すなわち、①腫瘍の外方向性発育部分にみられる樹枝状血管像、②腫瘍間質内に特徴的で種々の形態異常を示す血管よりなる不規則網状血管像、③比較的大きな癌胞巣を取り囲むリング状血管像、④間質形成の少ない部分にみられる既存血管破壊像、⑤既存血管が比較的保存されているループ状血管像、⑥比較的小さい病変にみられる被圧排血管像である。

c) 腫瘍細胞増殖動態の観察
ARG 標本で peplomycin 投与後の腫瘍細胞の増殖動態を観察した。³H-thymidine による標識細胞数の測定は、顕微鏡倍率400倍で行い、細胞内に銀粒子を7個以上を含む細胞を標識されたものとし、1病変につき腫瘍細胞500個以上を計測して標識細胞指数を算定した。さらに、各病変間および各時期の結果を Student の t 検定を用いて統計学的に比較した。

7) 抗腫瘍剤の効果判定
(1) 肉眼的抗腫瘍効果 (表2)

肉眼的効果判定には病変の大きさの変化を基準として、著効は腫瘍の消失したものとし、有効は腫瘍が1/2以上縮小したもの、やや有効は腫瘍の縮小が1/2に達しなかったもの、無効は腫瘍の大きさに変化がみられなかった、もしくは増大したものとした。また判定に際しては peplomycin 投与前、中、後のノギスを用いて病巣部を計測し、口腔内スケッチおよび写真を参考とした。

表 2 肉眼的抗腫瘍効果の判定基準

著 効:	腫瘍が消失したもの.
有 効:	腫瘍の縮小が 1/2 に達したもの.
やや有効:	腫瘍の縮小が 1/2 に達しなかったもの.
無 効:	腫瘍の状態に変化なし, あるいは増大したもの.

表 3 組織学的抗腫瘍効果の判定基準 (大星・下里の分類)

Grade 0:	効果が全く認められない.
Grade I:	細胞障害は認められるが癌細胞巢パターンの破壊は認められない.
Grade II:	細胞障害, 癌細胞巢パターンの破壊が認められる. (a) 再増殖の可能性の強い形態がかなりよく保たれた癌細胞が広い範囲に存在する (腫瘍全断面の 1/4 以上). (b) 生活癌細胞が小範囲に残存する (腫瘍全断面の 1/4 未満).
Grade III:	“Non-viable” と思われる癌細胞のみが認められる.
Grade IV:	癌細胞が全く認められない. (a) 広範囲な壊死を伴う. (b) 主として肉芽組織よりなる. (c) はん痕組織よりなる.

(2) 組織学的抗腫瘍効果 (表 3)

組織学的抗腫瘍効果の判定は質的, 量的な評価が可能である大星・下里^{21, 22)}の分類に従い, Grade 0 から IV までの 5 段階で判定した.

(3) 残存腫瘍細胞の観察

さらに残存腫瘍の再増殖動態を追求するために, 組織学的抗腫瘍効果において Grade II a, II b の病変では, 各観察時期における視診型別の残存腫瘍胞巣の数も算定した. なお, 再増殖があきらかな Grade 0, I の病変については省略した.

実 験 結 果

各病変ごとの peplomycin の効果を表 4 に示す.

1. 発生した舌病変について

1) 視診型 (図 2)

実験動物の舌背部に認められた病変数は 60 病変で, 舌縁部に発生した 1 例以外はすべて舌背舌隆起部に発生していた. 発生頻度は, 白斑型病変 13 例 (21.7%), 潰瘍型病変 14 例 (23.3%), 塊状型病変 12 例 (20.0%), 乳頭

図 2 視診型

図 3 浸潤様式

図 4 肉眼的抗腫瘍効果

型病変 21 例 (35.0%) であった.

2) 腫瘍浸潤様式 (図 3)

発生した 60 病変は, 病理組織学的にすべてが高分化型の扁平上皮癌であった. さらに腫瘍浸潤様式は山本・小浜の分類で 1 型 6 例 (10.0%), 2 型 7 例 (11.7%), 3 型 24 例 (40.0%), 4 C 型 17 例 (28.3%), 4 D 型 6 例 (10.0%) であった.

3) 視診型と浸潤様式との関係

視診型をさらに発育形式により内向性発育型と外向性発育型に分類した. すなわち内向性発育型として白斑型および潰瘍型, 外向性発育型として塊状型, 乳頭型である. 浸潤様式についても, 1 型, 2 型, 3 型を Group 1, 4 C 型, 4 D 型を Group 2 として 2 つに分類した. 病変の分類因子間には, R.A. Fisher の直接確率計算を行い相関を求めた. 視診型と浸潤様式は 1% の危険率で関連が認められた.

2. peplomycin の抗腫瘍効果

peplomycin の投与を行ったものは, 19 匹 51 病変で, 肉眼的には白斑型病変 10 例, 潰瘍型病変 12 例, 塊状型病

表 4 全病変の実験結果

	病変 番号	視診型	浸潤様式	肉眼的抗 腫瘍効果	組 織 学 的 抗腫瘍効果	腫瘍細胞 残存状態	腫瘍血管構築	標識細胞 指数(%)
対 照 群	1	潰瘍	4 C				既存血管破壊	27.70
	2	白斑	3				不規則網状	19.72
	3	乳頭	4 C				樹枝状	17.67
	4	塊状	4 C				不規則網状	20.97
	5	潰瘍	4 D				既存血管破壊	28.14
	6	白斑	1				ループ状	29.49
	7	塊状	3				リング状	23.85
	8	乳頭	3				樹枝状	28.13
	9	白斑	2				ループ状	22.12
平 均								24.40
10日後例	1	乳頭	2	無効	0		ループ状	16.94
	2	乳頭	1	やや有効	I		樹枝状	17.25
	3	白斑	1	無効	I		ループ状	19.60
	4	潰瘍	3	やや有効	I		不規則網状	16.52
	5	白斑	1	無効	II a	4	ループ状	21.10
	6	乳頭	3	著効	III		不規則網状	5.06
	7	塊状	3	著効	III		リング状	6.21
	8	塊状	2	やや有効	II b	3	不規則網状	10.64
	9	潰瘍	4 C	やや有効	II a	5	既存血管破壊	14.43
	10	塊状	3	やや有効	II b	6	リング状	12.52
	11	潰瘍	4 D	無効	I		既存血管破壊	17.41
	12	乳頭	3	有効	III		ループ状	6.28
	13	潰瘍	4 C	やや有効	II a	3	既存血管破壊	9.95
	14	塊状	2	無効	I		ループ状	15.43
	15	白斑	3	有効	II b	3	リング状	10.00
	16	乳頭	3	有効	II b	1	樹枝状	9.32
平 均						3.57		13.04
20日後例	1	乳頭	3	無効	II a	2	樹枝状	18.19
	2	白斑	3	無効	II a	3	ループ状	17.59
	3	潰瘍	4 D	無効	I		既存血管破壊	18.82
	4	塊状	1	著効	II b	2	樹枝状	17.66
	5	乳頭	2	著効	II b	5	樹枝状	19.78
	6	白斑	2	有効	II a	2	ループ状	21.29
	7	乳頭	3	有効	II a	3	樹枝状	20.43
	8	潰瘍	4 C	無効	I		既存血管破壊	17.56
	9	塊状	4 C	無効	I		リング状	26.05
	10	乳頭	3	やや有効	II a	2	不規則網状	20.66
	11	塊状	3	有効	II a	16	既存血管破壊	20.44
	12	乳頭	3	無効	I		ループ状	29.97
	13	乳頭	3	やや有効	II a	4	樹枝状	21.43
	14	潰瘍	4 C	無効	I		既存血管破壊	24.55
	15	乳頭	3	やや有効	II a	8	ループ状	15.54
	16	潰瘍	4 C	無効	I		既存血管破壊	29.40

(表 4 つづき)

	病変 番号	視診型	浸潤様式	肉眼的抗 腫瘍効果	組織学的 抗腫瘍効果	腫瘍細胞 残存状態	腫瘍血管構築	標識細胞 指数(%)
平 均						4. 7		21. 21
50日後例	1	潰瘍	4 C	無効	Ⅱ a	5	既存血管破壊	35. 31
	2	乳頭	3	やや有効	Ⅱ b	7	樹枝状	20. 45
	3	塊状	3	やや有効	Ⅱ b	10	リング状	23. 77
	4	塊状	4 C	有効	Ⅱ a	9	不規則網状	20. 15
	5	白斑	4 C	有効	Ⅱ a	3	不規則網状	20. 01
	6	乳頭	2	やや有効	Ⅱ b	14	ループ状	17. 54
	7	潰瘍	4 D	無効	I		既存血管破壊	21. 58
	8	乳頭	3	やや有効	I		ループ状	22. 31
	9	白斑	4 C	やや有効	Ⅱ a	4	リング状	18. 81
	10	乳頭	4 D	無効	I		樹枝状	31. 70
	11	潰瘍	4 C	やや有効	I		既存血管破壊	33. 02
	12	白斑	4 C	無効	Ⅱ b	18	ループ状	13. 94
	13	乳頭	2	やや有効	Ⅱ a	1	樹枝状	11. 36
	14	白斑	3	やや有効	Ⅱ b	3	リング状	8. 16
	15	塊状	4 C	無効	I		樹枝状	16. 71
	16	潰瘍	4 D	無効	0		既存血管破壊	32. 23
	17	乳頭	3	有効	Ⅱ a	21	樹枝状	21. 85
	18	乳頭	3	やや有効	Ⅱ a	17	樹枝状	25. 41
	19	白斑	4 C	無効	I		不規則網状	19. 58
平 均						9. 33		21. 78

図 5 視診型別肉眼的抗腫瘍効果

図 6 組織学的抗腫瘍効果

変10例、乳頭型病変19例であった。

1) 肉眼的抗腫瘍効果 (図 4, 5)

著効 4 例 (7.9%), 有効 9 例 (17.6%), やや有効 18 例 (35.3%), 無効 20 例 (39.2%) で、有効以上のものが 13 例 (25.5%) であった。

肉眼的効果と視診型との関係を見ると、著効例は、乳頭型 2 例、塊状型 2 例であった。これらは、肉眼的には腫瘍は消失し表面は健常組織でおおわれていた。有効例は、乳頭型 4 例、白斑型 3 例、塊状型 2 例であった。やや有効例は、乳頭型 9 例、潰瘍型 4 例、塊状型 3 例、白

図 7 視診型別組織学的抗腫瘍効果

斑型 2 例であった。無効例は、潰瘍型 8 例、白斑型 5 例、乳頭型 4 例、塊状型 3 例であった。

2) 組織学的抗腫瘍効果 (図 6, 7)

すべて大星・下里分類の Grade 0 から Grade III までの変化で、Grade IV 以上のは認められなかった。それらの視診型での内訳をみると、Grade III の 3 例 (5.9%) は乳頭型 2 例、塊状型 1 例であった。Grade II b の 11 例 (21.6%) は乳頭型 4 例、塊状型 4 例、白斑型 3 例であった。Grade II a の 18 例 (35.3%) は乳頭型 8 例、白斑型 5 例、潰瘍型 3 例、塊状型 2 例であった。Grade I の 17 例 (33.3%) は潰瘍型 8 例、乳頭型 4 例、塊状型 3 例、白斑型 2 例であった。Grade 0 の 2 例 (3.9%) は、潰瘍型 1 例、乳頭型 1 例であった。

3) 腫瘍細胞の残存状態

腫瘍細胞の残存状態は、組織学的抗腫瘍効果 Grade II a, II b 症例を視診型ごとの平均残存腫瘍胞巣数として結果をまとめた。

(1) 10日後例

全体の平均は、7 例で 3.57 ± 1.50 個、潰瘍型は 2 例で 4.00 ± 1.00 個、白斑型は 2 例で 3.50 ± 0.50 個、乳頭型は 1 例で 1 個、塊状型は 2 例で 4.50 ± 1.50 個であった。

(2) 20日後例

全体の平均は、10 例で 4.70 ± 4.17 個、白斑型は 2 例で 2.50 ± 0.50 個、乳頭型は 6 例で 4.00 ± 2.08 個、塊状型は 2 例で 9.00 ± 7.00 個であった。

(3) 50日後例

全体の平均は、12 例で 9.33 ± 6.42 個、潰瘍型は 1 例で 5 個、白斑型は 4 例で 7.00 ± 6.36 個、乳頭型は 5 例で 12.00 ± 7.16 個、塊状型は 2 例で 9.50 ± 0.50 個であった。

4) 病変分類因子と抗腫瘍効果との関係について

視診型および浸潤様式と抗腫瘍効果との関連について R.A. Fisher の直接確率計算を行った。視診型と肉眼的抗腫瘍効果については、5%の危険率で関連が認められ、視診型と組織学的抗腫瘍効果については、関連は認められなかった。浸潤様式と肉眼的抗腫瘍効果については、5%の危険率で関連が認められ、浸潤様式と組織学的抗腫瘍効果については、5%の危険率で関連が認められた。

3. peplomycin 投与後の腫瘍増殖動態

1) 肉眼的変化

(1) 10日後例

この時期では、肉眼的に病巣が縮小化する傾向にあり、peplomycin による病巣の縮小が認められなかったものでも、増大傾向は示さなかった (写真 1)。

(2) 20日後例

10日後例と比較して病変の大きさに変化が見られないもの、10日目には一度縮小した病変が増大傾向を示してくるもの (写真 2)、10日目でも縮小傾向が見られず、この時期にさらに増大傾向を示すものなどさまざまであった。

(3) 50日後例

腫瘍が一度縮小した症例も含めて、すべての病変が増大傾向を示し、腫瘍の再増殖が認められた (写真 3)。

2) 組織学的変化

(1) 10日後例

効果の著明な部分は、癌胞巣の中心部が硝子化し、その周囲の腫瘍細胞は消失して線維性結合組織に置換していた。また、その他の部分は癌胞巣パターンの破壊、間質に近接した腫瘍細胞の扁平化や空胞変性が認められ、間質には小円形細胞浸潤が種々の程度に認められた (写真 4, 5)。癌胞巣の破壊が認められた部分は、腫瘍実質と間質との境界が不明瞭化し、残存した腫瘍細胞は線維化の強い間質中に、索状あるいは瀰漫性に残存していた (写真 6)。

(2) 20日後例

10日後例と同様に、腫瘍細胞の扁平化や空胞化が認められる部分や、さらには癌組織が壊死に陥っている部分も散見されたが (写真 7)、病変のほとんどの部分で、再増殖を思わせる癌胞巣が認められた (写真 8)。この部分の癌胞巣の分化度は、他の部分に比べて低く異型性の強い細胞が多かった (写真 9)。

(3) 50日後例

筋組織や唾液腺などの健常組織は、広範囲にわたって壊死組織と再増殖した腫瘍組織に置き換わっており、なかには筋膜と筋膜との間に腫瘍細胞が索状に浸潤している部分も認められ (写真 10)、peplomycin の効果があき

図 8 各観察時期における腫瘍血管構築の割合

表 5 視診型別標識細胞指数

	対 照 群	10日後例	20日後例	50日後例
潰瘍型	27.92±0.22	14.58±2.88**	22.58±4.74	30.54±5.29
白斑型	23.78±4.16	16.90±4.92	19.44±1.85	16.10±4.53**
乳頭型	22.90±5.23	10.97±5.19*	20.86±4.14	21.52±5.85*
塊状型	22.41±1.44	11.20±3.35**	21.38±3.49	20.21±2.88*
平 均	24.20±4.07	13.04±4.84**	21.21±4.09	21.78±7.09

** : $p < 0.01$ (対照群に対し)* : $p < 0.05$ (対照群に対し)※ : $p < 0.05$ (潰瘍型に対し)

らかな部分はみられなかった。また、腫瘍細胞の分化度、異型性は多彩であった(写真11)。

3) 血管構築の変化(図8)

(1) 対照群

peplomycin 投与前(対照群)の血管構築は、既存血管破壊像が2例(22.2%)(写真12)、樹枝状血管像が2例(22.2%)(写真13)、不規則網状血管像が2例(22.2%)(写真14)、ループ状血管像が2例(22.2%)(写真15)、リング状血管像が1例(11.2%)(写真16)であった。

(2) 10日後例

既存血管破壊像が3例(18.8%)、樹枝状血管像が2例(12.4%)、不規則網状血管像が3例(18.8%)、ループ状血管像が5例(31.2%)、リング状血管像が3例(18.8%)であった。

(3) 20日後例

既存血管破壊像が5例(31.3%)、樹枝状血管像が5例(31.3%)、不規則網状血管像が1例(6.2%)、ループ状血管像が4例(25.0%)、リング状血管像が1例(6.2%)であった。

(4) 50日後例

既存血管破壊像が4例(21.1%)、樹枝状血管像が6例(31.5%)、不規則網状血管像が3例(15.8%)、ループ状血管像が3例(15.8%)、リング状血管像が3例

(15.8%)であった。

4) 再増殖腫瘍の細胞動態

(1) 視診型別の標識細胞指数(表5)

a) 対照群(写真17)

peplomycin 投与前(対照群)の平均標識細胞指数は24.20±4.07%で、視診型別では潰瘍型は2例で27.92±0.22%、白斑型は3例で23.78±4.16%、乳頭型は2例で22.90±5.23%、塊状型は2例で22.41±1.44%であった。

b) 10日後例(写真18)

平均標識細胞指数は13.04±4.84%で peplomycin 投与前(対照群)との間で Student の t 検定を行った結果、危険率1%で有意差が認められた。また、視診型別の標識細胞指数は、白斑型は3例で16.90±4.92%、潰瘍型は4例で14.58±2.88%、塊状型は4例で11.20±3.35%、乳頭型は5例で10.97±5.19%であった。

c) 20日後例(写真19)

平均標識細胞指数は21.21±4.09%で peplomycin 投与前(対照群)との間で Student の t 検定を行った結果、有意差は認められなかった。また、視診型別の標識細胞指数は、潰瘍型は4例で22.58±4.74%、塊状型は3例で21.38±3.49%、乳頭型は7例で20.86±4.14%、白斑型は2例で19.44±1.85%であった。

d) 50日後例(写真20)

表 6 腫瘍血管構築別標識細胞指数

	対 照 群	10日後例	20日後例	50日後例
既存血管破壊像	27.92±0.22	13.93±3.07*	22.15±4.32*	30.54±5.29
リング状血管像	23.85(n=1)	9.58±2.59	26.05(n=1)	16.91±6.51※
不規則網状血管像	20.35±0.62※	10.74±4.68	20.66(n=1)	19.91±0.24※
樹枝状血管像	22.90±5.32	13.29±3.96	19.50±1.40	21.25±6.40※
ループ状血管像	25.81±3.69	15.87±5.19	21.10±5.52	17.93±3.43※
平 均	24.20±4.07	13.04±4.84**	21.21±4.09	21.78±7.09

**： P<0.01（対照群に対し）
*： P<0.05（対照群に対し）
※： P<0.05（既存血管破壊像に対し）

表 7 浸潤様式別標識細胞指数

	対 照 群	10日後例	20日後例	50日後例
1 型	29.49(n=1)	19.32±1.58	17.66(n=1)	11.36(n=1)
2 型	22.12(n=1)	14.34±2.69	20.54±0.76	17.54(n=1)
3 型	23.90±3.43	9.42±3.77**	20.53±4.02	20.33±5.66
4 C型	22.11±4.17	12.19±2.24	24.39±4.32	22.19±7.20
4 D型	28.14(n=1)	17.41(n=1)	18.82(n=1)	28.50±4.90
平 均	24.20±4.07	13.04±4.84**	21.21±4.09	21.78±7.09

**： P<0.01（対照群に対し）

平均標識細胞指数は21.78±7.09%で peplomycin 投与前（対照群）との間で Student の t 検定を行った結果、有意差は認められなかった。また、視診型別の標識細胞指数では、潰瘍型は4例で30.54±5.29%，乳頭型は7例で21.52±5.85%，塊状型は3例で20.21±2.88%，白斑型は5例で16.10±4.53%であった。

(2) 血管構築との関係（表 6）

a) 対照群

peplomycin 投与前（対照群）の平均標識細胞指数は、既存血管破壊像は2例で27.92±0.22%，ループ状血管像は2例で25.81±3.69%，リング状血管像は1例で23.85%，樹枝状血管像は2例で22.90±5.23%，不規則網状血管像は2例で20.35±0.62%であった。

b) 10日後例

平均標識細胞指数は、ループ状血管像は5例で15.87±5.19%，既存血管破壊像は3例で13.93±3.07%，樹枝状血管像は2例で13.29±3.96%，不規則網状血管像は3例で10.74±4.68%，リング状血管像は3例で9.58±2.59%であった。

c) 20日後例

平均標識細胞指数は、リング状血管像は1例で26.05

%，既存血管破壊像は5例で22.15±4.32%，ループ状血管像は4例で21.10±5.52%，不規則網状血管像は1例で20.66%，樹枝状血管像は5例で19.50±1.40%であった。

d) 50日後例

平均標識細胞指数は、既存血管破壊像は4例で30.54±5.29%樹枝状血管像は6例で21.25±6.40%，不規則網状血管像は3例で19.91±0.24%，ループ状血管像は3例で17.93±3.43%，リング状血管像は3例で16.91±6.51%であった。

(3) 浸潤様式との関係（表 7）

a) 対照群

peplomycin 投与前（対照群）の浸潤様式別平均標識細胞指数は、1型は1例で29.49%，4D型は1例で28.14%，3型は3例で23.90±3.43%，2型は1例で22.12%，4C型は3例で22.11±4.17%であった。

b) 10日後例

平均標識細胞指数は、1型は3例で19.32±1.58%，4D型は1例で17.41%，2型は3例で14.34±2.69%，4C型は2例で12.19±2.24%，3型は7例で9.42±3.77%であった。

c) 20日後例

平均標識細胞指数は、4 C型は4例で $24.39 \pm 4.32\%$ 、2型は2例で $20.54 \pm 0.76\%$ 、3型は8例で $20.53 \pm 4.02\%$ 、4 D型は1例で 18.82% 、1型は1例で 17.66% であった。

d) 50日後例

平均標識細胞指数は、4 D型は3例で $28.50 \pm 4.90\%$ 、4 C型は8例で $22.19 \pm 7.20\%$ 、3型は6例で $20.33 \pm 5.66\%$ 、2型は1例で 17.54% 、1型は1例で 11.36% であった。

考 察

術前化学療法の利点¹⁾としては、

1) 腫瘍血管系が障害される前に行われるので、抗腫瘍剤の到達性が高い。

2) 全身治療であり、潜在性の micro metastasis を早期に治療することができる。

3) 著効が得られれば、手術を縮小して機能を保存できる可能性がある。

などがあげられる。

一方これに対して、

1) 手術の際、切除範囲がわかりにくい。

2) 本来の主治療の開始が遅れる。

3) 手術後の合併症が増加する危険性がある。

4) 化学療法による、多臓器の障害が増加する危険性がある。

といった欠点も指摘されている。

このうち治療成績に大きく影響するものは、切除範囲の不明瞭化と手術時期の遅れであると考えられる。そこで著者は、これらの点に着目して考察した。

1. 実験癌に対する peplomycin の抗腫瘍効果について

peplomycin による、頭頸部癌の化学療法については多くの報告がある。肉眼的な抗腫瘍効果については、ほぼ60～80%という報告²⁻⁶⁾がほとんどである。これに対して実験癌に対する報告は、大関²³⁾が、DMBA 誘発ハムスター舌癌に対して bleomycin を投与し検討を行っているが、有効率は24.1%であったと報告している。また、外木¹⁸⁾は、4NQO 誘発ラット舌癌を用いて peplomycin の肉眼的抗腫瘍効果を検討し、有効率は45%であったと報告している。また、組織学的な抗腫瘍効果については臨床では Grade 0～Ⅳまで幅広くみられたとの報告が多いが、実験癌においては、大関、外木ともに Grade 0～Ⅱb までの変化で、それ以上の効果はみられなかったと報告している。本実験でも肉眼的抗腫瘍効果は有効率 25.5%、組織学的抗腫瘍効果は Grade 0～Ⅲであった。このことからヒトの扁平上皮癌に比べて動物の化学誘発癌に対しては peplomycin の肉眼的な有効率

は低く、また、組織学的にも Grade Ⅳ 以上の効果はみられないようである。

2. 臨床視診型、腫瘍血管構築、浸潤様式との関係

口腔原発の扁平上皮癌においては、腫瘍の分化度、浸潤様式、血管構築にいくつかのバリエーションがあり、これが臨床所見や抗腫瘍剤の治療効果と密接な関係があると考えられている。関川¹⁹⁾、片倉²⁰⁾は4NQO 誘発ラット舌癌モデルの血管構築を形態学的に樹枝状血管像、被圧排血管像、不規則網状血管像、リング状血管像、ループ状血管像、既存血管破壊像の6型に分類している。さらに、臨床視診型との関連については、乳頭型を主体とする外向性発育型では樹枝状血管像に代表される血行動態の良いと思われる血管像が中心で、潰瘍型を主体とする内向性発育型では、既存血管破壊像に代表される腫瘍内部の血行が最も悪い血管像が主体であったと報告している。著者は発生した腫瘍を発育様式によって外向性発育型と内向性発育型に大別し、peplomycin の抗腫瘍効果との関連を検討したところ、肉眼的にも組織学的にも、外向性発育型で抗腫瘍効果は高く、内向性発育型で抗腫瘍効果は低いことが認められた。すなわち、外向性発育型では腫瘍の発育に伴って血管が増生するため、腫瘍組織の血行が保たれているので抗腫瘍剤の腫瘍内への移行がよい。これに対して、内向性発育型では腫瘍は、周囲組織を破壊しながら無秩序に浸潤増殖していくため、腫瘍中心部の血管は減少し、腫瘍組織への抗腫瘍剤の到達性が悪くなりこれが内向性発育型に対する抗腫瘍効果が低い原因の1つではないかと思われた。

また近年、扁平上皮癌の予後を推測する因子として浸潤様式が注目されてきている。小浜²⁴⁾はヒト舌癌に対する bleomycin の効果と TNM 分類、腫瘍発育様式、分化度、浸潤様式との関連を検討し、予後と浸潤様式との間に相関が高かったと報告している。また、当教室の片倉²⁰⁾も4NQO 誘発ラット舌癌を用いて UFT の抗腫瘍効果を検討し、浸潤様式と UFT の抗腫瘍効果には負の相関が認められたと報告している。さらに熊谷²⁵⁾らは、ヒト口腔癌を flow cytometry を用いて解析し、浸潤様式が高度なものは、いわゆる aneuploid pattern を呈しており、予後も不良なものが多かったと報告している。本実験においても浸潤様式と視診型、肉眼的抗腫瘍効果ならびに組織学的抗腫瘍効果との関連が強く示唆された。つまり、浸潤様式が4 C型、4 D型と高度なものは、視診型においては潰瘍型を代表とする内向性発育を示し、浸潤様式が1から3型のものは乳頭型を代表とする外向性発育を示す傾向が認められた。さらに、腫瘍の浸潤様式が高くなるにしたがって肉眼的抗腫瘍効果、および組織学的抗腫瘍効果が低くなる傾向が認められた。これは、諸家の報告と同様に浸潤様式が4 C型、4 D型を示す腫瘍細胞の増殖能、独立性が強いことから、peplomycin に対しても抵抗性を示したものと思われた。

さらに前述したように、浸潤様式が高度なものは内向性発育を示すものが多く、血管構築も既存血管破壊像が主体で抗腫瘍剤の到達性も悪くなっていることも影響していると考えられた。すなわち、浸潤様式は peplomycin を用いて術前化学療法を行う際、効果を予測する上で重要な因子であると思われた。

一般に化学療法においては、肉眼的抗腫瘍効果の方が組織学的抗腫瘍効果より大きいといわれている。上顎癌に対して bleomycin の動注を行った高崎²⁶⁾も臨床効果が組織学的効果より大きい症例が多いと述べている。本実験においては肉眼的に無効と判定しても、組織学的には障害を受けているものもあったが、肉眼的に腫瘍が著明に縮小消失した著効例でも組織学的には Grade II b～III 程度の変化で、再増殖を示す残存腫瘍細胞が含まれていたものも認められた。

さて、このような再増殖を示す胞巣の残存状態を観察することは、臨床的にはきわめて重要である。臨床において化学療法を行った後の腫瘍塊の中に多中心的に腫瘍細胞が残存する可能性があることが経験的に知られている²⁷⁾。本実験では、外向性病変、内向性病変に関わらず、ほとんどの残存腫瘍細胞群は複数か所以上存在した。つまり再増殖は、腫瘍塊の中に散在している残存腫瘍細胞の増殖により多中心的に生ずると思われる。つまり、臨床において、peplomycin を術前化学療法として用いた場合、肉眼的に病変が消失したとしても、常にその直下には腫瘍細胞が残存していると考えべきで、縮小手術をしたり、あるいは手術を省略するといったことは非常に危険であり、切除範囲の設定は peplomycin 投与前に行うべきであると考えられた。

3. peplomycin 投与後の腫瘍の再増殖動態について

化学療法施行後の腫瘍細胞がどのように再増殖をするかを追求することは、悪性腫瘍の治療をより効果的に行うためにきわめて重要なことと思われる。しかし、著者は渉猟し得た範囲では再増殖する腫瘍細胞の動態について詳細に検討した報告はみられない。そこで著者は³H-thymidine を用いた labeling を行い再増殖腫瘍細胞の動態を観察した。観察時期の決定であるが、予備実験として、肉眼的に最も効果の見られた10日後、および20日後に動物を屠殺し組織学的検討を行ったところ、組織学的には10日後が最も peplomycin による障害を受けていたため、投与開始から10日後、および20日後、さらに肉眼的に腫瘍の再増殖があきらかとなった50日後に³H-thymidine を投与することとした。

臨床視診型別に標識細胞指数の経時的变化をみてみると、潰瘍型が他の4タイプと異なって全期間を通じて高値で、50日後例には投与前の標識細胞指数を上回る値を示していた。50日後例における標識細胞指数に関して、潰瘍型と他のすべての視診型との間で Student の t 検定を行ったところ、危険率5%で潰瘍型が他のすべての

視診型に対して有意に高かった。また、腫瘍血管構築別の標識細胞指数では、やはり潰瘍型に特徴的にみられる既存血管破壊像のものが他のものと比較して、50日後まで上昇する傾向にあった。50日後例における標識細胞指数に関して、既存血管破壊像と他のすべてのタイプとの間で Student の t 検定を行ったところ、危険率5%で既存血管破壊像が他のすべての血管像に対して有意に高かった。浸潤様式別標識細胞指数では例数に片寄りがあるため断定はできないが、浸潤様式が4D型の標識細胞指数は50日後まで上昇する傾向にあった。また、各実験期日別では、浸潤様式による有意差は認められなかったが、浸潤様式が高度になるにしたがって、標識細胞指数は高くなる傾向が認められた。すなわち、視診型で潰瘍型、血管構築で既存血管破壊像、浸潤様式では4C、4D型を示す腫瘍においては peplomycin 投与中止後、残存腫瘍は他の視診型とは異なった増殖動態を示すことが示唆された。

術前化学療法として peplomycin の投与を行う場合は、投与終了後に種々の理由で手術が遅れても、どの程度が限界かを知る必要がある。全体的な傾向では、peplomycin を投与することによって、標識細胞指数の値は、投与終了10日後に一時的に低下し、肉眼的にはまだほとんど変化のない20日後にはすでに上昇しはじめていた。これは抗腫瘍効果の程度に関わらず、ほとんどすべての病変に共通した変化である。これは peplomycin 投与により、腫瘍細胞が減少したこと、あるいは細胞周期における G2M 期ブロックが起り、S 期の細胞が減少したことが原因の一つと考えられる。和田ら²⁸⁾は、この G2M 期ブロックは、投与早期より7日までつづき、一部は5日頃より再度細胞回転を開始したと報告している。本実験においても、投与終了10日後の標識細胞指数が最も低かったので、cell kinetics の観点からみれば peplomycin 投与終了5日後から10日後が、癌細胞の活性が最も低下している時期ではないかと考えられた。しかし、そのまま放置することによって、peplomycin により一度 G2M 期ブロックされた腫瘍細胞が再度細胞回転に戻り、再増殖する可能性も示唆された。つまり、peplomycin 投与により著効が得られたからといって、腫瘍細胞を切除せずに残存させておくと、peplomycin 抵抗性の腫瘍細胞の再増殖をきたすことになると考えられた。これに関して臨床的には、Nahum²⁹⁾、近藤³⁰⁾は化学療法施行後2週間で腫瘍が増大した症例を記載し、終了後1週間以内に手術を行うべきであると報告している。また、高崎²⁶⁾は、全身状態が許せば1週間から2週間の間が適当であると報告しており、本実験結果からも、peplomycin 投与終了後10日以内までに手術が行えるように術前化学療法を計画すれば、治療成績の向上につながるのではないかと考えられた。

結 語

発癌剤 4-nitroquinoline 1-oxide 誘発ラット舌癌モデルを用いて、peplomycin の肉眼的および組織学的抗腫瘍効果、再増殖可能な腫瘍細胞の残存状態ならびに peplomycin 投与終了後の腫瘍の再増殖動態について検索し、次の結果を得た。

1. 有効率は肉眼的に腫瘍の縮小が1/2に達したものの以上を有効とすれば25.5%，組織学的に Grade Ⅲ 以上のものを有効とすると5.9%であった。

2. 臨床視診型と浸潤様式には関連があり、潰瘍型など内向性発育型には4C、4D型が多く、外向性発育型には、1から3型が多いことが統計学的に認められた。

3. 浸潤様式が高くなるにしたがって肉眼的抗腫瘍効果、および組織学的抗腫瘍効果が低くなる傾向が認められた。

4. peplomycin を用いて術前化学療法を行う際、浸潤様式は効果を予測する上で重要な因子であると思われる。

5. peplomycin 投与により、肉眼的に病変が消失しても、組織学的には散在性に腫瘍細胞が残存する部位が認められた。

6. peplomycin による抗腫瘍効果は肉眼的には投与終了20日後まで認められたが、組織学的には10日後が最も著明であった。

7. ³H-thymidine 標識細胞指数は視診型、腫瘍血管構築、浸潤様式に関わらず peplomycin 投与終了10日後が最も低く、その後は経時的に上昇する傾向が認められた。

8. 肉眼的に潰瘍型で、浸潤様式が4C、4D型の腫瘍は残存腫瘍細胞の再増殖が速やかで、また異型性が強くなる傾向がみられた。

9. peplomycin を術前化学療法として用いる場合には、投与終了後10日以内に手術が施行できるように、治療を計画すれば最も効果的であると考えられた。

本論文の要旨は、日本口腔外科学会総会(第34回 1989年 郡山、第35回 1990年 岡山、第36回 1991年 大阪)、日本癌学会総会(第50回 1991年 東京)において発表した。

稿を終えるに臨み、終始ご指導、ご校閲を賜った、野間弘康教授に深甚なる感謝の意を捧げます。また、実験に際しご便宜をいただいた、本学アイソトープ研究室坂間久之祐講師に御礼申し上げます。さらに、本実験に際してご助言いただいた本学数学研究室菅野隆三教授、そしてご協力いただいた日本化薬株式会社、本学口腔外科学第一講座山根源之助教授、高木多加志講師、外木守雄助手ならびに教室員各兄に心から感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Frei III, E.: Clinical cancer research; an embattled species. *Cancer* 50: 1979-1992 1982.
- 2) 犬山征夫, 村上 泰, 他: 頭頸部悪性腫瘍に対する NK-631 (peplomycin) の臨床効果. *耳鼻臨床* 71: 1517-1527 1978.
- 3) 横山正和, 佐藤 和朗, 他: bleomycin 誘導体 NK-5033, NK-631 の Phase I および Phase II Study. *癌と化療* 6: 749-785 1979.
- 4) 赤嶺正之, 高田和彰, 他: 顎・口腔領域悪性腫瘍の臨床的研究—peplomycin sulfate (bleomycin 誘導体) の使用症例の臨床的観察—. *日口外誌* 24: 1235-1249 1978.
- 5) 金田敏郎, 岡 達, 他: 口腔悪性腫瘍に対する NK-631 (peplomycin) の適応と限界—持続動注による一次効果—. *日口外誌* 25: 942-945 1979.
- 6) 関谷忠雄, 河辺義孝, 他: 頭頸部に対するNK-631 (peplomycin) の臨床投与成績. *癌と化療* 6: 777-784 1979.
- 7) 山根源之: 抗癌物質の作用機序に関する電子顕微鏡的研究. 第2編 bleomycin の Vx-7 癌に及ぼす影響について. *歯科学報* 74: 241-276 1974.
- 8) Robert, T. Dorr: Bleomycin pharmacology Mechanism of Action and clinical pharmacokinetics. *Seminar in oncology* 19: 3-8 1992.
- 9) 宮本忠昭, 寺島東洋三: プレオマイシンの細胞致死作用と腫瘍治療. *Oncologia* 7 (Winter): 61-78 1983.
- 10) 大根光朝, 大森清弘, 他: 発癌剤4-nitroquinoline 1-oxide 溶解飲料水経口投与による口腔扁平上皮癌発生実験. *日口外誌* 27: 685-700 1981.
- 11) Ohne, M. and Ohmori, K.: Induction of squamous cell carcinoma in the oral cavity of rats by oral administration of 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) in drinking water—A preliminary report—. *Bull, Tokyo Dent Coll* 22: 85-98 1981.
- 12) 片倉 朗, 大鶴 洋, 他: 発癌剤 4-nitroquinoline 1-oxide 溶解飲料水経口投与によるラット口腔扁平上皮癌発生実験—発癌剤の濃度差による影響について—. *日口外誌* 32: 176-186 1986.
- 13) 高木多加志: 4-nitroquinoline 1-oxide 誘発ラット舌癌の発生過程における細胞動態に関する実験的研究 第2編 舌癌発生過程において認められた角化病変ならびに扁平上皮癌の形態と微小血管構築ならびに細胞動態との関連について. *歯科学報* 86: 777-804 1986.
- 14) 山本悦秀, 砂川 元, 他: 慢性浸潤型口腔扁平上皮癌に関する研究. *日口外誌* 28: 1471-

- 1479 1982.
- 15) Yamamoto, E., Kohama, G., et al.: Mode of invasion, bleomycin sensitivity and clinical course in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer* 50: 2157-2180 1983.
- 16) Yamamoto, E., Sunakawa, H., et al.: Clinical course of diffuse invasive carcinoma of the tongue excised after bleomycin treatment. *J max-fac Surg* 11: 269-274 1983.
- 17) 外木守雄: 4-nitroquinoline 1-oxide 誘発ラット舌癌における peplomycin の影響について. 第1編 peplomycin の健常ラット舌粘膜上皮に及ぼす影響について. *歯科学報* 88: 1-20 1988.
- 18) 外木守雄: 4-nitroquinoline 1-oxide 誘発ラット舌癌における peplomycin の影響について第2編 peplomycin の4NQO 誘発舌粘膜病変に及ぼす影響について. *歯科学報* 88: 1069-1104 1988.
- 19) 関川一嘉: 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) 誘発ラット舌癌の微細血管構築に関する研究. *歯科学報* 83: 1099-1135 1983.
- 20) 片倉 朗: 4-nitroquinoline 1-oxide 誘発ラット舌癌に対する UFT の抗腫瘍効果に関する実験的研究. *歯科学報* 90: 1131-1161 1990.
- 21) 大星章一, 他: 癌放射線療法の病理, (I) 癌組織の治癒過程の組織学的追跡 (その1). *医学のあゆみ* 61: 618-625 1967.
- 22) 大星章一, 他: 癌放射線療法の病理, (I) 癌組織の治癒過程の組織学的追跡 (その2). *医学のあゆみ* 61: 665-667 1967.
- 23) 大関 悟: 口腔粘膜扁平上皮癌に対する bleomycin の効果, 第2編 ハムスターの 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene 誘発舌癌に対する効果. *口科誌* 30: 238-253 1981.
- 24) 小浜源郁: 口腔癌の化学療法効果に関する臨床, 病理, 細胞性免疫学的研究—特に臨床病理学的悪性度と bleomycin 効果及び予後について. *口科誌* 33: 1-9 1984.
- 25) 熊谷茂宏, 岩井正行: 口腔扁平上皮癌の細胞動態に関する研究. —顕微蛍光測光法と ^3H -thymidine オートグラフィの併用による解析—. *札幌医誌* 54: 517-530 1985.
- 26) 高崎 敬: 上顎癌に対する化学療法の臨床的ならびに病理組織学的研究. *日耳鼻* 74: 1129-1147 1971.
- 27) 大関 悟: 口腔粘膜扁平上皮癌に対する Bleomycin の効果, 第1編 Bleomycin 術前投与の意義に関する臨床的ならびに病理組織学的研究. *口科誌* 30: 206-237 1981.
- 28) 和田安弘, 岡 茂, 他: 頭頸部癌への抗癌剤作用機序に関する flow cytometry を用いた研究—第2報・三次元表示法による peplomycin 作用機序の解析—. *耳鼻臨床* 80: 1893-1904 1987.
- 29) Nahum, A.M. and Rochlin, D.B.: Regional arterial chemotherapy of Cancer of the head and neck. *Laryngoscope* 76: 880 1966.
- 30) 近藤 斉: 耳鼻咽喉科領域悪性腫瘍に対する制癌剤局所投与法に関する臨床的研究. *耳鼻* 11: 31 1965.

写真説明

- 写真 1 peplomycin 投与10日後例
1-1 peplomycin 投与前
1-2 peplomycin 投与10日後
- 写真 2 peplomycin 投与20日後例
2-1 peplomycin 投与前
2-2 peplomycin 投与10日後
2-3 peplomycin 投与20日後
- 写真 3 peplomycin 投与50日後例
3-1 peplomycin 投与前
3-2 peplomycin 投与10日後
3-3 peplomycin 投与50日後
- 写真 4 peplomycin 投与10日後例 (H-E 染色, $\times 100$)
- 写真 5 peplomycin 投与10日後例 (H-E 染色, $\times 200$)
- 写真 6 peplomycin 投与10日後例 (H-E 染色, $\times 100$)
- 写真 7 peplomycin 投与20日後例 (H-E 染色, $\times 200$)
- 写真 8 peplomycin 投与20日後例 (H-E 染色, $\times 100$)
- 写真 9 peplomycin 投与20日後例 (H-E 染色, $\times 200$)
- 写真 10 peplomycin 投与50日後例 (H-E 染色, $\times 200$)
- 写真 11 peplomycin 投与50日後例 (H-E 染色, $\times 200$)
- 写真 12 既存血管破壊像 (墨汁注入透明標本, $\times 40$)
- 写真 13 樹枝状血管像 (墨汁注入透明標本, $\times 40$)
- 写真 14 不規則網状血管像 (墨汁注入透明標本, $\times 40$)
- 写真 15 ループ状血管像 (墨汁注入透明標本, $\times 40$)
- 写真 16 リング状血管像 (墨汁注入透明標本, $\times 40$)
- 写真 17 対照群 (Microautoradiogram, $\times 1,000$)
- 写真 18 peplomycin 投与10日後例 (Microautoradiogram, $\times 1,000$)
- 写真 19 peplomycin 投与20日後例 (Microautoradiogram, $\times 1,000$)
- 写真 20 peplomycin 投与50日後例 (Microautoradiogram, $\times 1,000$)

1-1

1-2

写真 1

2-1

2-2

2-3

写真 2

3-1

3-2

3-3

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 11

写真 12

写真 13

写真 14

写真 15

写真 16

写真 17

写真 18

写真 19

写真 20