原 著

Cis-diamminedichloro platinum (II) (CDDP) 投与による腹水細胞の形態変化

——腹水を有するラット卵巣腺癌のモデルを用いて——

久留米大学医学部産科婦人科学教室

高村 邦子 葉 清泉 杉山 徹 今石 清久
平川 伸夫 横田 大介 牛島 公生 田中 博志

実験化学療法モデルとして DMBA 誘発ラット卵巣腺癌を同系ラットに腹腔内移植し、FIGO の臨床進行期分類Ⅲ～Ⅳ期の腹水貯留した進行癌モデルを作成した。これに CDDP を腹腔内投与し、投与後 6 日後まで経時的に屠殺し、投与群と非投与群との腹水細胞および移植組織の変化を比較検討した結果、投与群は次の所見を認めた。

- 1) 腹水中有核細胞の増加が認められ、そのうちわけはリンパ球が増加し、癌細胞は減少していた。
- 2) トリパンプルー超生体染色による死細胞率が増加した。
- 3) 癌細胞の形態変化として細胞の大型化、単離化、多核化、細胞質内空胞が特徴的であった。
- 4) 核内空胞、核濃縮、核破碎、核融解、スリガラス状核、泡沫状核、細胞質エオジン好性などの変化も出現した。
- 5) 組織においても類似した変化がみられた。

これらの形態変化は CDDP 投与において腹水細胞診による薬剤効果を知る一つの情報と成り得る可能性を示唆するものと思われた。

Key words : Rat—Autochthonous ovarian cancer—Experimental chemotherapy—
CDDP—Cytology

I. はじめに

卵巣悪性腫瘍において、腹水細胞診は Stage の決定や予後の推定にきわめて重要である²⁾。また、治療方針の決定や化学療法を行う場合に抗癌剤投与後の腹水癌細胞の形態変化などの所見は薬剤効果を知る一つの情報となり得る可能性をもち、臨床にきわめて重要な意義をも

つものと思われる。

すでに人卵巣癌腹水細胞の抗癌剤投与による形態変化は諸研究者^{1,5,9,10,13,15,18,20,23,25,28,30)}により報告されている。しかしながら使用薬剤、投与方法、その他の諸条件が異なるため、報告されている所見は大部分で共通しているとはいえ、統一された見解とみなすには問題がある。また、実地臨床においては経験できる症例には限界があり、抗癌剤に対する反応性などを十分に検討するこ

Morphological changes of cancer cells induced by Cis-diamminedichloro platinum (II) in ascitic fluids—Make use of the rats with ascites of autochthonous ovarian cancer. This was formed a model for experimental chemotherapy—

Kuniko TAKAMURA, C.T., I.A.C., Seisen YOH, M.D., Toru SUGIYAMA, M.D., Kiyohisa IMAISHI, M.D., Nobuo HIRAKAWA, M.D., Daisuke YOKOTA, M.D., Kimio USHI-

JIMA, M.D., Hiroshi TANAKA, M.D.

Department of obstetrics and Gynecology, Kurume University School of Medicine

論文別刷請求先 ☎830 久留米市旭町 67 久留米大学医学部産科婦人科学教室 高村邦子

昭和 63 年 10 月 7 日受付

平成元年 8 月 25 日受理

Intra-peritoneal Transplantation

An autochthonous adenocarcinoma induced by DMBA in our laboratory as a transplant was transplanted in the rats of the same strain (Wistar).

At the 3th. to 5th. week following the transplantation, the cancer tissue spread with extensive peritoneal dissemination showing malignant ascites.

写真1 ラット卵巣腺癌のモデル

表1 実験計画

対 象 ; ラット卵巣腺癌 (FIGO III~IV期) 46例				
使用薬剤 ; Cisplatin 1~5 mg/kg				
投与方法 ; 腹腔内投与				
対象症例のうちわけ				
非投与群	31例			
投与群	1日後屠殺	2日後屠殺	4日後屠殺	6日後屠殺
	2例	4例	4例	4例

実験方法

とは困難である。

しかし、ヒト卵巣癌のモデルとしての実験動物系を用いて、種々の投与量、時期および方法などの条件を一定にしたもて、腹水を採取し癌細胞を詳細に観察することは可能である。したがって、著者らは癌性腹膜炎を呈

する実験モデルを用いて腹水中の癌細胞に対する抗癌剤の直接変化を検討した。

II. 研究対象および方法

実験化学療法モデルとして、ヒト漿液性嚢胞腺癌に形態学的のみならず、その進展、転移方式においてもきわめて相似している DMBA 誘発ラット卵巣腺癌^{7,8)}を用いた。生後2~3日目の新生児 Wistar 系ラット雌に腹腔内移植し、約4~5週間経過後、FIGOの臨床進行期分類III~IV期の腹水の貯留した進行癌のモデルを作成した(写真1)。

本モデルに Cis-diamminedichloro platinum(II)(以下 CDDP と略す。)1~5 mg/kg を腹腔内投与、投与後、1日後、2日後、4日後、6日後と経時的に各群3, 4匹屠殺し、表1に示した研究対象および方法により各投与群と非投与群について以下の項目を検討した。

1. 有核細胞数
2. 癌細胞、好中球、リンパ球、組織球および上皮細胞の出現率
3. 癌細胞数
4. トリパンブルー吸収テストの死細胞率
5. 癌細胞集塊数
6. 細胞径、核径および N/C 比
7. 核小体径、核小体数
8. 多核、核濃縮、核破砕、核分裂、空胞変化の出現率
9. 組織所見

有核細胞数は白血球メランジュール、ビュルケルチュ

表 2 腹水中の卵巣癌細胞

	細胞質			形態	大きさ	性状	クロマチンパターン	核小体	細胞配列	その他
	形態	大きさ	性状							
ヒト漿液性嚢胞腺癌 (池田ら)	類円形	15~50 μ	塩基性 淡染 辺縁明瞭 空胞(-)	類円形	10~35 μ N/C 50~90%	偏在性 核縁明瞭	粗顆粒状 均等分布	1~2個	桑実状 腺管状 乳頭状 重積性 孤立性	PAS (+) ALB (+) Mucin (-) microvilli 砂粒体
ラット卵巣腺癌	類円形	12~39 μ	塩基性 空胞(±)	円形~ 類円形	8~33 μ N/C 20~90%	中心性~ 偏在性 核縁明瞭	細~粗 顆粒状 均等分布	小型 明瞭 1~2個	桑実状 マスカット状 腺管状 乳頭状 重積性 著明	PAS (+~±) ALB (±~-) Mucin (-)

ルク血球計算盤にて腹水単位容積あたりの有核細胞数を計測し、死細胞率については癌細胞と思われる細胞 200 個中のトリパンブルー陽性細胞の出現率を計測した。癌細胞の形態変化および背景細胞の数量あるいは大きさを測定する場合は固定による細胞剥離と細胞収縮が少なく、白血球などが観察しやすいギムザ染色標本を用いて、また細胞形態変化についてはブアン固定パパニコロウ染色標本を中心に用いた。

なお、癌細胞、好中球、リンパ球、組織球および中皮細胞の細胞数はギムザ染色標本の引き始め、中心部、引き終りの 3箇所 で 400 倍 10 視野、合計 30 視野にて計測した。癌細胞集塊数については癌細胞集塊を単離細胞、2~10 個の集塊、11~20 個の集塊、21 個以上の集塊に分類し、ギムザ染色標本中のそれぞれの数を計測した。

そして細胞径、核径、核小体径、核小体数の変化については各症例 40 個の癌細胞の細胞径、核径、核小体径、核小体数を計測し、それぞれの平均値および偏差値を算出した。癌細胞個々の形態変化は各症例 200 個の癌細胞を、癌細胞の出現数が少ない場合は全癌細胞を対象として観察した。

さらに生鮮細胞をノマルスキー微分干渉顕微鏡を用いて観察した。

III. 結 果

1. ラット卵巣腺癌とヒト卵巣癌の腹水細胞像の比較

ラット卵巣腺癌腹水細胞の特徴とヒト卵巣癌ことに漿液性嚢胞腺癌の細胞像の特徴³⁾を比較してみた(表 2)。写真 2 のように両者とも乳頭状癌細胞集塊を呈し、きわめて類似した所見を示した。

2. 有核細胞数

腹水中の有核細胞数をみると、有核細胞数は非投与群

写真 2 腹水中ラット卵巣腺癌細胞像(上)と腹水中ヒト漿液性嚢胞腺癌細胞像(下)(Papanicolaou 染色, $\times 200$)

に比較して各投与群とも増加していた(図 1)。

3. 癌細胞、好中球、リンパ球、組織球および中皮細胞の出現率

癌細胞、好中球、リンパ球、組織球および中皮細胞の割合を各群ごとに観察した。投与後 4 日後屠殺群と投与後 6 日後屠殺群でリンパ球の割合が増加し、好中球の割合は減少しているが、組織球、中皮細胞は一定の傾向を

図1 有核細胞数の変化

図3 CDDP 投与による癌細胞数の変化

図2 好中球, リンパ球, 組織球, 中皮細胞, 癌細胞の割合の変化

認めなかった (図2)。

4. 癌細胞数

癌細胞数の変化は, 非投与群では癌細胞数の平均値が $1,157$ 個/ mm^3 であったが, 投与後6日屠殺群では 678 個/ mm^3 と癌細胞の減少を認めた (図3)。

5. トリパンプルー吸収テストの死細胞率

非投与群の平均値が約1%であるのに対して, 投与後6日屠殺群平均値は約5%に達し, 増加していた (図4)。

図4 トリパンプルー吸収試験 (死細胞率)

6. 癌細胞集塊数

単離細胞および各細胞集塊の出現数と出現頻度の変化についてみると, 非投与群では単離細胞9.0% (67.7個), 2~10個の集塊34.4% (259.6個), 11~20個の集塊35.1% (264.1個), 21個以上の集塊21.5% (162.2個)であったが, 投与後6日屠殺群では, 単離細胞53.1% (343個), 2~10個の集塊37.3% (241.5個), 11~20個の集塊7.4% (48個), 21個以上の集塊2.2% (14.3個)と単離細胞が増加し, 大きな集塊が減少していた (図5)。

写真3の非投与群では重積性著明な乳頭状癌細胞集塊が主体をなしているが, 写真4の投与後6日後屠殺群では個々の癌細胞の結合が弱く, 散在性あるいは平面的細

図 5

写真 3 未投与群の細胞像 (上: ノマルスキー微分干渉顕微鏡写真, $\times 200$, 下: Papanicolaou 染色, $\times 200$) 写真 4 投与後 6 日屠殺群の細胞像 (上: ノマルスキー微分干渉顕微鏡写真, $\times 200$, 下: Papanicolaou 染色, $\times 200$)

図 6

図 7

胞配列を呈し、個々の細胞も大きく、細胞の大小不同も著しい。ノマルスキー微分干渉顕微鏡でも同様の所見が観察された。

7. 細胞径、核径および N/C 比

細胞径、核径はともに増大し、その偏差値は大きくなっていった。N/C 比には大きな変化はみられなかった。すなわち細胞径の増大にともない、核径も増大したために N/C 比には変化がみられなかったが、細胞の大小不同は著しいことが明らかになった (図 6)。

写真 3 の非投与群は癌細胞は立体的細胞配列を示し、類円形核に著明な核小体が 1, 2 個認められるが、写真 4 の投与後 6 日後屠殺群は大型化した癌細胞が増加し、大型多核細胞が多い。

8. 核小体径および核小体数

核小体径は増大し、偏差値も大きくなっていった。また

核小体数は増加し、偏差値も大きくなっていった (図 7)。

投与後 6 日屠殺群では大型核小体のみられる大型癌細胞 (写真 5. 以下写真 12 までは文末カラー一頁参照) および核小体多発した大型癌細胞 (写真 6) を認めた。また、ノマルスキー微分干渉顕微鏡でも同様の所見が観察された。

9. 多核、核濃縮、核破碎、核分裂、空胞変化の出現率

多核、細胞質内空胞は投与群で著明に増加していたが、細胞分裂は一定の傾向は認められなかった。また、核内空胞、核濃縮、核崩壊は非投与群では認められなかったが、投与群には出現していた (図 8)。

投与後 6 日屠殺群では、多核大型細胞 (写真 7) が多くみられ、その中に巨大多核細胞 (写真 8) も混在してみられた。また泡沫状細胞質内空胞 (写真 9) を呈する

図 8

写真 13 未投与群の組織像 (上: 腺管状構造, 下: 充実状構造) (H-E 染色, $\times 500$)

大型癌細胞も散見された。その他に核内空胞, 核濃縮 (写真 10), 核破碎, 核溶解 (写真 11), さらにスリガラス状核, 泡沫状核 (写真 12) を呈する大型癌細胞が出現し,

写真 14 投与後 6 日屠殺群の組織像 (H-E 染色, $\times 200$)

細胞質がエオジン好性を示すものも一部に認められた。

10. 組織所見

非投与群の組織像 (写真 13) は充実構造を示す部分と腺管構造を示す部分とが混在してみられた。投与後 6 日後屠殺群の組織像 (写真 14) では, 間質組織の増生や核濃縮, 核破碎, 多核などの変化が観察され, 組織所見も類似した変化が認められた。

IV. 考 察

CDDP は, Rosenberg ら²⁶⁾ により偶然発見され, 1971 年以降アメリカ NIC (National Cancer Institute) を中心にその臨床研究が開始され今日一般使用されるにいたっている¹⁴⁾。さらに卵巣癌に対する CDDP の有効性も

報告されている^{4,6)}。

CDDP の作用機序については、Lippard¹²⁾ により *in vitro*, *in vivo* において、DNA 二本鎖のうちの1本上の隣接するグアニン残基と N7 の部分で結合し、intrastrand crosslink を形成することが明らかとなり、この intrastrand crosslink が DNA 合成を阻害するものと考えられている。そしてこの cross link は癌細胞、正常細胞に同程度生じるが DNA 修復機能が正常細胞は旺盛であるのに対し、癌細胞は貧弱であるため、癌細胞に障害が強くでると考えられている。また抗原性を抑制している物質と結合し、その抑制を解除するため、免疫学的な癌の退縮をきたすという説もある²⁷⁾。

腹水細胞診は、比較的容易に細胞を得ることができ、癌細胞の有無、組織型および原発巣を推定できる利点がある。化学療法の癌細胞に対する直接的効果、または治療開始後、早期にその選択薬剤が適当であったかどうか、癌細胞にとって感受性の高い薬剤であったかどうかなどを、癌細胞の形態変化によって把握できないかとする試み^{1,9,10,16,25,28,30)}は多く行われてきたが、放射線療法の場合ほどには有効性が実証されていない。そして化学療法の場合、単剤投与であっても、投与方法、腫瘍の部位などによって、薬剤が腫瘍組織に達し、持続する濃度が多様となるためと考えられている。また現在、抗癌剤感受性試験²²⁾は大別して、*in vitro* assay と *in vivo* assay とがあるが、現実には理想的にすべての条件を満たす方法はなく、いずれも長所と短所を併せ持っている。しかし癌性腹膜炎を呈した本モデルは 1) 腹水癌細胞個々の変化を観察できる、同時に、2) 腫瘍組織の変化を観察できる、3) 抗癌剤の投与方法を変えられる、などの利点があり、さらに前述のように諸条件を一定にしたうえで抗癌剤に対する反応性を十分に観察することも可能である。以下本研究で得られた腹水細胞の変化について考察してみる。

1) 細胞数の変化

体腔液中の癌細胞総数の変動をみるには、前提として体腔液全量の測定が必要で、単位容積あたりの癌細胞数の変動、すなわち、癌細胞の分布密度の推移は必ずしも体腔液中の癌細胞総数の変動を反映しているとはいえないが、定量的アプローチのひとつとしては可能であると思われる。しかし、体腔液単位容積あたりの有核細胞数、さらにそのなかの癌細胞数の算定を確実にしている研究は少ない。これに関して、安田ら³⁰⁾は卵巣癌5例を対象として、制癌剤投与により癌細胞数は、1~2週後には治療前の $9,200 \sim 3,200/\text{mm}^3$ から $2,600 \sim 800/\text{mm}^3$ 減少し、3~4週後さらに $800/\text{mm}^3$ 減少し、中皮細胞、

単球様細胞、リンパ球などいずれも減少したと述べ、一時的にせよ臨床症状の改善がみられたとも述べている。また、甘糟ら¹⁾は治療による単位容積あたりの有核細胞数の減少、特にその中の癌細胞は認められなかったと述べている。岡和田ら¹⁸⁾は臨床的に化学療法の効果が認められた症例では癌細胞が早期に減少したと述べている。そして体腔液の細胞組成の変化について山岸ら²⁹⁾はリンパ球の比率が高いのは臨床状態良好の指標となると述べ、竹内²⁵⁾もほぼ同様な見解を述べている。

このように制癌剤投与後、細胞動向を観察して、癌細胞の減少や形態変化が全く認められない例では治療効果が期待できないことは当然であろうが制癌剤投与により治療効果を認めた症例では癌細胞が減少したと報告している。われわれの実験でも予後について言及できないが、CDDP 投与後単位容積あたりの癌細胞は減少していた。リンパ球は癌細胞数の減少に伴って増加していた。このことからリンパ球の増加は免疫反応の一過程を示すものと考えた。

2) 死細胞率

トリパンブルー超生体染色による死細胞率について安田ら³⁰⁾は治療前の死細胞率は5%以下であったが、治療により3~4週で原発腫瘍の縮小に伴い癌細胞が殆ど消失し、死細胞率は90%以上を示したと述べている。また、中林ら¹⁵⁾は JOHYL-1 (腹水型) ノードマウス移植株に対し対照が2%であったのに比べ、VCR, ACD, CPM を各々単剤で投与後24時間後6~11%、48時間後では7~33%であったと述べている。

われわれの結果では非投与群の平均値が約1%であるのに対し、投与後6日屠殺群の平均値は約5%に達している。これは細胞膜の透過性の変化¹⁹⁾によるもので dye uptake を示すまでに時間差が生じる可能性があり、生細胞も時間がたつと染色され、生体染色は細胞傷害の指標としてあまり適切でないとする欠点¹⁷⁾もあるが、色素を取り込む細胞が増加したことは確かであり、CDDP 投与後、癌細胞に生じた機能変化の目安にはなるとと思われる。

3) 癌細胞集塊の変化

癌細胞集塊の変化についても岡和田ら¹⁸⁾は癌細胞集団の減少、集団の構成細胞数の減少を認めたと述べ、蜂屋⁵⁾、安田ら³⁰⁾、杉田ら²⁰⁾は癌細胞数の減少に伴い癌細胞集塊は減少し、細胞配列の平面化、散在化をみたすと述べ、われわれの結果でも同様の所見がみられ、さらに大きな癌細胞集塊が減少し、単離巨細胞化が印象的であった。

4) 癌細胞の形態変化

抗癌剤の効果を腹水細胞で判定するにあたりそれらの

変化が直接的か、自然変性によるものかの鑑別が必要である。また、自然変性においてもこれらの変化の一部は出現すると谷田ら²⁴⁾、竹内ら²⁵⁾は報告しているが、彼らという核質流出型変化や、多発性突起形成型変化はわれわれの実験には認められなかった。

そして中村ら¹⁶⁾は抗腫瘍剤を加えない試験管内でのエールリッヒ腹水癌細胞の変性過程と抗腫瘍剤を加えた試験管内でのエールリッヒ腹水癌細胞の変性過程とを比較すると両者は明らかに異なった変化を呈している。そして各種抗腫瘍剤に共通して認められる変化〔核の大型化、多核化、核小体の大型不整形化〕は抗腫瘍剤による直接的变化であり、細胞動態の変化からみても損傷を受けた癌細胞の修復過程に出現したものとは考えられず、細胞の死滅、崩壊への過程を示す所見であると述べている。これらのことから前述の癌細胞の形態変化は自然変性とは考えられず、CDDP による癌細胞の直接的变化と思われる。

抗癌剤による癌細胞の直接的形態変化について、岡和田ら¹⁸⁾は CDDP を中心に ADM, PAC, EDX 多剤併用し、核腫大、細胞分裂像の消失、細胞腫大、細胞質空胞の所見が認められたと述べ、蜂屋ら⁵⁾、安田ら³⁰⁾によれば、5-Fu, CQ を用いて核腫大、核および細胞質内空胞、細胞質異染性、核濃縮、核破壊が認められたと述べている。杉田ら²⁰⁾は CDDP を中心に ADM, 5-Fu, EDX 多剤併用し、核腫大、細胞質内空胞、多核化、核破壊が特徴的であったと報告している。北尾ら¹⁰⁾は EDX 投与において巨細胞性変化、細胞質および核内空胞形成、多核、核分裂などの出現の度合が制癌剤の投与量と相関して増加したと報告している。

われわれの実験結果でも癌細胞の大型化（巨細胞化）、多核化、細胞質内空胞、核内空胞、核濃縮、核崩壊、核融解、核小体の腫大、多発化、染色性の変化などがみられ、諸氏の報告と共通した所見が認められた。そして (a) 大型化、(b) 単離化、(c) 多核化、(d) 細胞質内空胞、が特徴的であった。また、これらの変化はノマルスキー微分干涉顕微鏡下でも観察することができ、生鮮細胞でも同様の所見がみられ、固定操作中の人為的变化ではないことも明らかである。

腫瘍組織での腹水細胞と類似した所見は抗癌剤投与による完全な抗腫瘍効果²¹⁾とするには問題もあるが、癌細胞の核の融解、濃縮、空胞化などは退行変性を示すものである。

以上のことから、前述した癌細胞の減少とその形態変化は CDDP 投与による効果発現の表現であることが示唆され、今回使用した DMBA 誘発ラット卵巣癌実験モ

デルにおける腹水細胞診も薬剤効果を知るうえでひとつの重要な情報源と成り得る可能性が示唆された。

V. ま と め

今回われわれは DMBA 誘発ラット卵巣腺癌に CDDP 単剤を腹腔内投与し、投与後 6 日後までの腹水細胞を観察した。

今回の実験では、治療効果のため個体によっては貯留している腹水の量が減少あるいは消失したため、7 日以降の腹水細胞の観察や、薬剤の種類別の腹水細胞の変化などについては検討できなかった。また、腫瘍組織の大きさ、CDDP の投与量、個体の免疫能や反応性も差があり、この点についての問題点が残されている。しかし、前述の癌細胞の形態変化は CDDP 投与による変化であることも事実であり、CDDP 投与において、これらの形態変化は腹水細胞診によって薬剤効果を知るひとつの情報となる可能性を示唆するものと考ええる。

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜った薬師寺道明教授に感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨は第 29 回日本臨床細胞学会総会：教育シンポジウム「医原の状態における細胞変化」において発表したことを付記します。

Summary

As a model of experimental chemotherapy, rat ovarian cancer tissue induced by DMBA (7, 12-dimethylbenz (a) anthracene) was transplanted into the abdominal cavity of the same species, and a model of advanced ovarian cancer associated with ascites was prepared.

The staging of the tumor-loaded animals corresponded to stage III ~ IV of ovarian cancer on the basis of to FIGO's classifications.

CDDP was administered intraperitoneally, and, the rats were killed 1, 2, 4 and 6 days after administration.

A comparative study was attempted between the groups of CDDP-treated and non-treated animals regarding changes in tumor cells and the tumor tissue transplanted into the ascites.

Results :

① Increases in the number of cellular components were noted, the percentage of lymphocytes was observed to be particularly high, whereas the number of cancer cells decreased.

② The ratio of non-viable cells to the total number of cells increased based on the results of the trypan blue-exclu-

sion method.

③ Characteristic features of morphological changes in cancer cells were found to be marked single-cell-formation, cell enlargement, multinucleation and cytoplasmic vacuolization.

④ Intra-nuclear vacuolization, pyknosis, karyorrhexis, nuclear homogeneity with disappearance of chromatin granules, aground glassy nuclei, bubbly nuclei and eosinophilic cytoplasm were also observed.

⑤ Similar changes were demonstrated among the histological findings of transplanted tumor tissue.

Morphological changes in cancer cells induced by CDDP indicate that cytological examination of ascitic fluid may provide us with useful information regarding the pharmacological effects of anti-cancer drugs.

文 献

- 甘糟 仁・他：制癌剤投与による癌性胸腹水の細胞像の変化, 日臨細胞誌, 23: 547~553, 1984.
- 池田正典, 手島研作：卵巣腫瘍の臨床期分類, 産婦人科MOOK, No. 28 卵巣腫瘍, pp. 43~50, 金原出版, 1984.
- 池田正典：卵巣悪性腫瘍の細胞診断に関する研究—その細胞像の解析とそれによる鑑別診断—, 日臨細胞誌, 22: 594~603, 1983.
- Hogan, W.N.: Gynecologic malignancies cancer Chemotherapy, Amsterdam Excerpta medica, 309~338, 1982.
- 蜂屋祥一・他：腹水細胞診について, 産科と婦人科, 46: 1021~1026, 1979.
- Katz, M.E.: Epithelial carcinoma of the ovary, current strategies Ann Intern Med., 95: 98~111, 1981.
- 加藤 俊・他：実験的卵巣腫瘍に関する研究(その2) —化学的発癌物質 9, 10-demethyl-1, 2-benzanthracene 処置により発生したラットの実験的卵巣腫瘍について—, 医学研究, 44: 42~47, 1974.
- 加藤 俊：実験的卵巣腫瘍を省みて, 日産婦誌, 37: 1367~1371, 1985.
- 高相和彦・他：癌性胸腹水の制癌剤による細胞学的変化と臨床, 日臨細胞誌, 13: 160~164, 1974.
- 北尾 学・他：癌性腹水に対する Cyclophosphamide の腹腔内注入法の臨床的細胞学的検討, 産婦人科の世界, 26: 355~360, 1974.
- Koss, L.G.: The effects of alkylating agents on squamous epithelium of the uterine cervix, pp. 522~528, Diagnostic cytology and its histopathologic bases, Philadelphia, 1979.
- Lippard, S.J.: Overview. Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy. Martinus Nijhoff Publishing, 11~13, 1984.
- 本山悌一・他：制癌剤の効果判定に関する基礎的研究, 日臨細胞誌, 21: 12~25, 1982.
- 新島端夫：序説；シスプラチン(その臨床応用), pp. 5~8, 協和企画通信, 1983.
- 中林 豊・他：スードマウス移植継代系を用いた胚細胞性腫瘍に対する実験化学療法, 日産婦誌, 38: 1087~1094, 1986~7.
- 中村 忍・他：各種抗腫瘍剤によるエールリッヒ腹水癌細胞の形態変化と細胞動態について, 日臨細胞誌, 25: 490~498, 1986.
- 関屋宗英, 高見沢裕吉：制癌剤の感受性試験, 産婦人科MOOK, No. 28 卵巣腫瘍, pp. 212~225, 金原出版, 1984.
- 岡和田昌弘・他：抗癌剤投与による腹水細胞の形態学的変化—卵巣癌, 子宮内膜癌の5症例報告—, 日臨細胞誌, 26: 134~140, 1987.
- 大原 弘：細胞診に必要な細胞学概論 A 細胞生物学：細胞診全書 I 細胞診総論と基礎, pp. 58~76, 宇宙堂八木書店, 1981.
- 杉田道夫・他：化学療法の効果判定における腹水細胞診および Flow Cytometry の応用, 日臨細胞誌, 22: 9~17, 1983.
- 杉山 徹・他：ラット DMBA 誘発卵巣癌に対する実験的化学療法—組織学的効果判定の検討—日癌治誌, 20: 1271~1278, 1985.
- 佐々木康綱：in vitro, in vivo 感受性テストの臨床的意義；図説臨床「癌」シリーズ癌化学療法の進歩, pp. 38~46, メジカルビュー社, 1986.
- 高橋道宏・他：癌性体腔液滲出に対する制癌剤とステロイド剤注入療法の効果, 日癌治誌, 18: 881~888, 1983.
- 谷田 秀：癌性腹水中に出現する各種細胞の変化に関する研究, 米子医誌, 20: 486~504, 1969.
- 竹内 隆：制癌剤の腹腔内投与に関する細胞学および臨床的研究, 米子医誌, 24: 137~174, 1973.
- Rosenberg, B., et al.: Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode, Nature, 205: 698~699, 1969.
- Rosenberg, B.: Cisplatin: its history and possible mechanism of action. In "Cisplatin" (A.W. Prestayko, S.T. Crooke & S.K. Carter, eds), pp. 9~20, Academic Press, New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, 1980.
- 山田章吾・他：制癌剤注入による体腔液中腫瘍細胞の変化, 日臨細胞誌, 20: 64~68, 1981.
- 山岸紀美江：日臨細胞誌, 10: 200~218, 1971.
- 安田 允・他：卵巣癌腹水細胞の抗癌剤による形態変化, 日臨細胞誌, 20: 268~274, 1981.

- 写真 5 投与後 6 日屠殺群の細胞像，大型核小体を有する大型癌細胞（上：ノマルスキー微分干渉顕微鏡写真，
×500，下：Papanicolau 染色，×500）
- 写真 6 投与後 6 日屠殺群の細胞像，核小体多発した大型癌細胞（上：ノマルスキー微分干渉顕微鏡写真，×500，
下：Papanicolau 染色，×500）
- 写真 7 投与後 6 日屠殺群の細胞像，多核大型癌細胞（上：ノマルスキー微分干渉顕微鏡写真，×500，下：
Papanicolau 染色，×500）
- 写真 8 投与後 6 日屠殺群の細胞像，巨大多核癌細胞（上：ノマルスキー微分干渉顕微鏡写真，×200，下：
Papanicolau 染色，×200）
- 写真 9 投与後 6 日屠殺群の細胞像，泡沫状細胞質内空胞を有する大型癌細胞（上：ノマルスキー微分干渉顕微
鏡写真，×500，下：Papanicolau 染色，×500）
- 写真 10 投与後 6 日屠殺群の細胞像（上：核内空胞を有する大型癌細胞，下：核濃縮した大型癌細胞，
Papanicolau 染色，写真倍率 500 倍）
- 写真 11 投与後 6 日屠殺群の細胞像（上：核破碎した大型癌細胞，下：核融解した大型癌細胞，Papanicolau 染
色，×500）
- 写真 12 投与後 6 日屠殺群の細胞像，泡沫状核を呈する大型癌細胞（上：ノマルスキー微分干渉顕微鏡写真，
×500，下：Papanicolau 染色，×500）
-

写真 5

写真 6

写真 7

写真 8

写真 9

写真 10

写真 11

写真 12