エールリツヒ腹水癌および吉田肉腫に対する 色素剤並びに各種抗腫瘍性物質の影響に ついて (第1報)

日本医科大学衛生学教室 (主任 八田貞義教授)

酒 井 雄 学

Yūgaku Sakai

はじめに

近年に於ける悪性腫瘍に対する研究は、広い観点から詳細に検討され、抗腫瘍化学療法の進歩も特筆されるべきものがある。

しかし、臨床的に応用されてきた多くの抗腫瘍剤は、腫瘍細胞のみに選択的に作用する事が少く、薬剤自身の毒性、副作用なども相当に強くあらわれ、且つまた比較的短期間のうちに、その薬剤に対して抵抗性を獲得する事などが明らかにされ、更には種々の悪性腫瘍に対する薬剤の態度が異り、特に治療分野に於てはその薬剤の選択に注意が払われる様になつてきた。

著者は、エールリツヒ腹水癌および吉田肉腫を用いて、試験管内に於て系統的に色素剤の抗腫瘍性を実験的に追求すると共に、従来用いられて来た抗腫瘍剤についても検討を加え、更に障害作用の認められた色素剤を中心に、その併用効果についても実験を行つたので、以下この成績について報告する。

I. 実験の方法

① 実験に使つたエールリツヒ腹水癌細胞および吉田肉腫細胞。

エールリツヒ腹水癌細胞(以下エ腹水癌細胞と略す)は、DD系マウスの腹腔内に移植し、移植後7~12日目のマウスの腹水を採取して、直ちに Rinaldini 液で約10倍に稀釈した。この0.1 cc 中には、200~400万個のエ腹水癌細胞を含んでいる。

吉田肉腫細胞では、ラット腹腔内に移植し、移植後4~7日目のラット腹水を採取し、直ちに Rinaldini 液で約10倍に稀釈した。この0.1 cc 中には150~300万個の吉田肉腫細胞を含んでいる。

② 実験に使用した試剤

色素剤では、phenylmethan 系11種、Azo 系20種、Pyrazonol 系2種、Phthalein 系7種、Thiazine 系3種、Quinoline 系2種、Acridine 系3種、Nitro 系1種、Azine 系2種、Thiazol 系1種と蛍光染料

4種の計56種である。

抗腫瘍剤では、Sarkomycin, Carzinophilin, Nitrogen mustard N-Oxide (Methyl-7-hydroxy-1-H-V-triazole [D]-pyrimidine) および P-phenylendiphosphoric acid tetracethylenimid (以下 RC-4 と略す) の計5種である。

③ エ腹水癌細胞および吉田肉腫のE赤染率の算定法。

被検液又は被検試剤を Rinaldini 液で倍数稀釈を行い、各試験管に0.5 cc 宛分注し、これと同量のエ腹水、或いは吉田肉腫腹水を加え、充分に混和後所定温度に保存し、所定時間毎に各試験管を取り出し、検液0.1 cc をスライドガラス上に載せ、直ちに Eosine 液 (Eosine 未 (Grübler) を Rinaldini 液で2,000倍に稀釈した) を等量加えて充分に混和し、白血球算定用のメランジュールを用い、Thoma 氏算定板に拡散させ、総細胞200~300個を算えて Eosine 赤染細胞の% (以下 E 赤染率とす) を求めた。

II. 実験の成績

A. エ腹水癌に対する場合

① 供試保存液とエ腹水癌細胞のE赤染率。

供試保存液を選択する目的で別表¹⁾に示す12種の保存液に移植し、10日目のエ腹水癌細胞を用いて検べた。

この結果、作用3時間では Glucosol 液が他の供試保存液に較べると、E赤染率が最も低率で1.0%を示し、これに反し、Ringer 液が最も高率で13.3%を示した。作用7時間になると、Ringer-Rocke 液および Gey 液ではE赤染率は高率となつた。Glucosol 液、Ringer 液および Rinaldini 液では作用7時間目で、16.4%、25.1%、19.2% を示し供試保存液中ではエ腹水癌細胞に対する障害度は比較的少い様であるが、作用24時間目では、95.9%、100%、94.7% と大半がE赤染するのがみられた (第1表参照)。

別表 塩 類 溶 液

生 理 食 塩 液	NaCl 8.50
Ringer	NaCl 9.00, KCl 0.42, CaCl ₂ 0.25
Locke	NaCl 9.00, KCl 0.42, CaCl ₂ 0.24, NaHCO ₃ 0.20
Ringer-Locke	NaCl 9.00, KCl 0.42, CaCl ₂ 0.24, d-Glucose 1.00
Tyrode	NaCl 8.00, KCl 0.20, CaCl ₂ 0.20, MgCl ₂ ·6H ₂ O 0.10, NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O 0.05, d-Glucose 1.00, NaHCO ₃ 1.00,
Glucosol(carrel)	NaCl 8.00, KCl 0.20, CaCl ₂ 0.20, MgCl ₂ ·6H ₂ O 0.10 NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O 0.05, d-Glucose 1.00
Simms X7	NaCl 8.00, KCl 0.20, CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.147, MgCl ₂ ·6H ₂ O 0.203 Na ₂ HPO ₄ 0.213, d-Glucose 1.00, NaHCO ₃ 1.01, P.R. (Phenolred) 0.05
Earle	NaCl 6.80, KCl 0.40, CaCl ₂ 0.20, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.10, NaH ₂ PO ₄ 0.125, d-Glucose 1.00, NaHCO ₃ 2.20, P.R.(Phenolred) 0.05
Gey	NaCl 8.00, KCl 0.39, CaCl ₂ 0.13, MgCl ₂ ·6H ₂ O 0.21, Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O 0.30, KH ₂ PO ₄ 0.025, d-Glucose 1.00, NaHCO ₃ 0.25
Hanks	NaCl 8.00, KCl 0.40, CaCl ₂ 0.20, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.20, Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O 0.06, KH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O 0.06, KH ₂ PO ₄ 0.06, d-Glucose 1.00, NaHCO ₃ 0.25, P.R.(Phenolred) 0.02
Moscona	NaCl 8.00, KCl 0.20 NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O 0.005, d-Glucose 2.00, NaHCO ₃ 1.00,
Rinaldini	NaCl 8.00, KCl 0.20 NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O 0.05, d-Glucose 1.00, NaHCO ₃ 1.00, Na ₃ (C ₆ H ₅ O ₇)·2H ₂ O (Sodiumcitrate) 0.676,

注 数値は 1,000 cc 中 g 数を示す。

そこで著者は、実験には比較的成績のよかつた Rinaldini 液を用いることにした。

② 作用温度および pH とエ腹水癌細胞の E 赤染率。

まず Rinaldini 液の最終 pH を 5.0, 6.0, 6.8, 7.2, 8.0 になる様に修正し、これにエ腹水癌細胞を浮遊させ、25°C および 37°C に放置した時の E 赤染率について検べた。

この成績は第 2 表に示す様に、同一 pH 域を同一作用時間で較べると、作用温度の低い時の方が高い時に較べ、E 赤染率は低率である。又低い時の方は pH 域が 6.8~8.0 の間では、いずれも類似した E 赤染率を示し、特記すべき有意の差を認めなかつたが、作用温

第 1 表 エ腹水癌に於ける各種塩類溶液と E 赤染率

移植後 7 日目腹水

作用時間 (時)	1	3	5	7	24
塩類溶液					
生 理 食 塩 液	3.6	8.0	9.1	30.7	98.9
Ringer	7.0	11.3	13.1	25.1	100
Locke	6.0	6.9	12.1	39.4	100
Ringer-Locke	2.8	3.3	7.4	46.3	100
Tyrode	1.7	1.5	5.5	51.1	94.1
Glucosol	0.9	1.0	4.5	16.4	95.9
Simms X7	3.6	6.6	29.5	52.6	97.0
Earle	0	3.8	9.9	32.1	98.0
Gey	1.2	4.7	37.9	95.0	100
Hanks	1.9	6.3	17.7	31.9	90.9
Moscona	4.7	7.0	24.4	40.5	100
Rinaldini	0.9	1.6	6.5	19.2	94.7

第 2 表 エ腹水癌に於ける作用温度および pH と E 赤染率

37°C

移植後 12 日目腹水

作用時間 (時)	1	3	5	7	24
pH					
5.6	2.9	5.2	24.5	60.6	100.0
6.0	3.9	4.9	18.4	19.9	95.8
6.8	3.0	3.5	14.0	16.0	89.6
7.2	3.1	3.6	9.2	12.2	92.5
8.0	2.7	3.9	11.8	13.0	100.0

25°C

作用時間 (時)	1	3	5	7	24
pH					
5.0	3.6	3.8	3.6	13.4	79.2
6.0	2.1	2.1	2.5	6.4	69.3
6.8	0.9	1.2	2.7	3.8	72.6
7.2	0.0	0.5	2.6	3.0	83.2
8.0	1.5	1.4	1.9	4.4	77.1

度の高い時の方で酸性域の pH 5.0 の際、同一時間に於ける他の実験域よりも E 赤染率は高率で幾分障害的に作用した (第 2 表参照)。

③ 薬物の有効値判定のための作用時間の検討

In Vitro に於ける薬物の障害度を検索する際に作用時間が長くなると、自然に E 赤染率の増加を来するのが認められるので、何れの観察時が、その薬物の効果を最も誤差少なく判定し得るか、薬物を作用しない状

態で、同一腹水を用いて、10検体を用意し、そのE赤染率を実測して、その分散状態を検討してみた。

この結果、作用時間が経過するにつれて分布範囲が狭まり、作用24時間後では殆んど全部の細胞が赤変するので、目的の用をみたされないが、作用7時間後ではそのE赤染率は10~15%内外を示し、平均値に対する、各々の実測値の比の分散状態は全く 1 ± 0.2 以内に含まれる。併し、それより短時間の観察では、かなり広い範囲に分布され、誤差を生じ易いので以後の実験は7時間目の成績をもつて進めることにした（第1図参照）。

第1図 エ腹水癌に於ける各観察時のE赤染率の分散状態

④ 各種色素剤とエ腹水癌細胞のE赤染率

ある種の色素剤は抗菌性のほかに、抗腫瘍作用のある事が知られているので、なるべく系統を異にする多くの色素剤について、制癌作用の強弱をエ腹水癌細胞のE赤染率より考察することにした。

供試薬剤の種類についてはすでに詳記したが、供試

濃度はいずれの場合も0.01%とし、作用7時間目の実験値をもつて腫瘍細胞に対する障害度を較べてみた。この際、有効値（対照群E赤染率と実験群E赤染率との比）は、その値が1.5以下のものは-、1.5~2.0では+、2.1~3.0では++、3.1~4.0では+++、4.1~5.0では++++、5.1以上は+++++として現わした。

この結果は、第3表に示したが、実験に際し、各色素剤の何れも供試濃度域では実験の判定は何等の支障はみられず、不染細胞は無色透明円形をして核および顆粒を認めるが、染色細胞は赤色又は桃色で均等に染り、両者は容易に染別が出来る。

エ腹水癌細胞に対して障害的に作用した色素剤についてみると、Phenylmethan系では11種中6種である。即ち、Fuchsineは++++（記号の右肩数値はE赤染率100%に至るまでに要した時間を示す）Malachite Greenは++++、Brilliant Greenは++++、Gentian Violetは++++ Auramine Oは++、Alphazurine 2Gは+の成績を示した。従つて有効色素剤中ではAlphazurine 2Gのみが酸性色素剤で、他は何れも塩基性色素剤であつた。

Azo系では20種中Chrysoidineのみがやゝ有効で+を示し、Pyrazolon系では供試色素剤の2種とも無効であつた。Phthaleine系では7種中Erythrosin 1種がやゝ有効で+の成績を示した。Thiazine系では3種中Methylen Blue 1種で+を示し、Quinoline系では2種中Astra Floxine FF concが++++で有効成績を示した。Acridine系3種および螢光染料4種では供試色素剤中に有効例を認めなかつたが、Nitro系ではNaphthol yellow S concが+であり、Azine系ではNeutral Redが++、Safranin Tが++、Thiazol系ではThioflavine Tが++と、それぞれエ腹水癌細胞に対し障害的に作用した。

特に強い作用を示したものは大部分が塩基性色素剤で、抗菌活性と同様に塩基性色素剤の方が酸性色素剤よりもエ腹水癌細胞に対する障害度は強いといえる（第3表参照）。

そこで塩基性色素剤中でも特に強力な障害作用を示した、Fuchsine, Malachite green, Brilliant Green, Gentian Violet, Astra Floxine FF concの5種を選び、障害濃度を比較検討してみた。

この結果はFuchsine, Malachite Green, は最終試験濃度が1cc当り10rで++、Brilliant Greenは10r濃度で++、Gentian violetは10r濃度で++、Astra Floxine FF concは1r濃度で+であり、大体

第3表 エ腹水癌に対する各種色素剤の効果

移植後6～11日目腹水

分 類	No.	色 素 名	効果
Phenylmethan	1	Fuchsine	冊 ⁷
	2	Malachite Green	冊 ⁷
	3	Brilliant Green	冊 ⁵
	4	Gentian Violet	冊 ⁷
	5	Guinea Green	—
	6	Fast Green FCF	—
	7	Alphazurine A conc	—
	8	Soluble Blue 2 BEX	—
	9	Alphazurine 2G	+
	10	Fast Acid Green B	—
	11	Auramine O	冊
Azo	12	Bismarck Brown	—
	13	Wool Orange 2G Cryst	—
	14	Wool Orange R	—
	15	Azorbine Extra conc	—
	16	Methanil Yellow	—
	17	Milling Yellow	—
	18	Fast Wool Cyanone 3 R conc	—
	19	Resorcine Brown R	—
	20	Fast light Orange PO	—
	21	Acid Fuchsine D conc	—
	22	Azo yellow A 5 W	—
	23	Resorcine Yellow	—
	24	Fast Wool Blue R conc	—
	25	Fast Red S conc	—
	26	Milling Scarlet G conc	—
	27	Resorcine Brown 3 R conc	—
	28	Wool Scarlet BR	—
	29	Chrysoidine	+
	30	Ponceau R	—
	31	Cloth Red R	—
Pyrazolon	32	Wool Yellow extra conc	—
	33	Fast Wool Yellow 3 GL conc	—
Phthalein	34	Rhodamine B	—
	35	Uranine conc	—
	36	Erythrosine	+
	37	Eosine	—
	38	Rose Bengale	—
	39	Sulforhodamine B	—
	40	Phloxine	—
	41	Methylen Blue	冊

Thiazine	42	Thiocarmine R	—
	43	Brilliant Alizarine Blue D	—
Quinoline	44	Astra Floxine FF conc	冊 ¹
	45	Quinoline Yellow conc	—
Acridine	46	Acrinol	—
	47	Phosphine	—
	48	Tripaflavine	—
Nitro	48	Naphthol Yellow S conc	+
Azine	50	Neutral Red	冊
	51	Safranine T	冊
Thiazol	52	Thioflavine T	冊
螢 光 染 料	53	Lencophor	—
	54	Kayaphor	—
	55	NS white	—
	56	Whitex	—

註 1) 作用7時間目の成績を示す。

2) 有効値 (対照群 E 赤染率と実験群 E 赤染率との比) は次の記号で表した。

(一) 1.5 以下 (+) 1.5～2.0

(冊) 2.1～3.0 (冊) 3.1～4.0

(冊) 4.1～5.0 (冊) 5.1 以上

但し記号の右肩数値は E 赤染率 100% に要した時間を示す。

3) 以下の表もこれに準ずる。

第4表 エ腹水癌に対する色素剤の有効量の測定

移植後7～12日目腹水

色 素 名	濃度 mg/cc			
	1 mg	100 r	10 r	1 r
Fuchsine	冊 ¹	冊 ⁷	冊	—
Malachite Green	冊 ¹	冊 ⁵	冊	—
Brilliant Green	冊 ¹	冊 ⁵	冊	—
Gentian Violet	冊 ¹	冊 ⁷	冊	—
Astra Floxine FF conc	冊 ¹	冊 ¹	冊	+

註 表記した有効値は 5～10 回の平均値を示す。

1～10 r 濃度で有効成績を示した (第4表参照)。

⑤ 各種抗腫瘍剤とエ腹水癌細胞の E 赤染率。

各種抗腫瘍剤のエ腹水癌細胞に対する E 赤染率についてみると、各々の薬剤は In Vivo では毒性、副作用の点などから投与量には自ら限定されなければならないが、In Vitro の実験で、それらを考慮しなければ、Carzinophilin が最も障害性強く、10 r 濃度で冊程度の障害度を示し、次いで Sarkomycin は 100

mg 濃度ではⅢ, 1 mg 濃度ではⅣ, 0.1 mg 濃度では+の成績を示した。8-Azaguanine は 2 mg 濃度で+, 1 mg 濃度では-, NMNO は 10 mg 濃度では+の障害度を示したが, 1 mg 濃度では-であった。RC-4 は 20 mg 濃度でも, エ腹水癌細胞に対する障害性はみられなかった。

In vitro に於ては, エ腹水癌細胞に対する障害性は Sarkomycin, Carzinophilin のような抗生物質の方が NMNO, 8-Azaguanine, RC-4 などの合成薬よりも強力に作用するのがみられた (第5表参照)。

第5表 エ腹水癌に対する各種抗腫瘍剤の有効濃度

移植後 6~11 日目腹水					
濃度 /cc	100 mg	10 mg	1 mg	0.1 mg	0.01 mg
試剤					
Sarkomycin	Ⅲ	Ⅲ	Ⅲ	+	-

濃度 /cc	10 mg	5 mg	1 mg	0.1 mg
試剤				
NMNO	+	-	-	-

濃度 /cc	4 mg	3 mg	2 mg	1 mg
試剤				
8-Azaguanine	+	+	+	-

濃度 /cc	10 r	5 r	1 r	0.1 r
試剤				
Carzinophilin	+	-	-	-

濃度 /cc	20 mg	10 mg	5 mg	2.5 mg
試剤				
RC-4	-	-	-	-

註 表記した有効値は 5~10 回の平均値を示す。

⑥ 各種色素剤並に抗腫瘍剤を併用した際の腹水癌細胞の E 赤染率

前述のエ腹水癌細胞に障害作用を示した色素剤のうち, 特に Triphenylmethan 系塩基性色素剤が顕著な作用を示したが, 色素剤が生体に応用される時に最も重要と考えられるものに, その毒性と生体成分の親和性がある。

色素剤の血清或いは腹水との親和性を観察するに, 前述の Triphenylmethan 系塩基性色素剤を作用させると, 急速にその色調が褪色するのが認められる。この際の色素剤の活性度について, 残存する色調と抗菌

活性とは重要な関係があると考えられるが, 著者は Malachite Green, Brilliant Green では相当に褪色現象がみられるが, Fuchsine, Gentian Violet は実験に使用した範囲では殆んど完全に色調は残存するのを認めたので Triphenylmethan 系色素剤としては, この2者を, 更に Quinoline 系色素剤としては, 同様に強い障害作用を示した, Astra Floxine FF conc を選び (i) これら色素剤を相互に併用した場合, (ii) これら色素剤と各種抗腫瘍剤とを併用した場合について精査した。

(i) 色素剤を組合せた時のエ腹水癌細胞の E 赤染率

各試剤の組合せ濃度は先きの実験を基とし Fuchsine, Gentian Violet, Astra Floxine FF conc の各々 1 cc 当り 100 r, 10 r, 1 r 濃度とした。

この成績は第6表その1に示す様に, Fuchsine と Astra Floxine FF conc との組合せでは特記すべき併用効果も阻害作用も認められなかったが, 同系統の Triphenylmethan 系色素剤である Gentian Violet と Fuchsine の組合せで僅かに相加作用がみられるに止まっている。

第6表 その1 有効色素剤の併用

			移植後 7 日目腹水		
試 剤	組合せ濃度	判定	Gentian Violet		
			100 r	10 r	1 r
Fuchsine	100 r	Ⅲ ⁷	Ⅲ ⁷	Ⅲ ⁷	Ⅲ ⁷
	10 r	+	Ⅲ ⁷	+	+
	1 r	-	Ⅲ	+	-

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ濃度	判定	Astra Floxine FF conc		
			100 r	10 r	1 r
Fuchsine	100 r	Ⅲ	Ⅲ ¹	Ⅲ	Ⅲ
	10 r	+	Ⅲ ¹	+	+
	1 r	-	Ⅲ ¹	+	+

(ii) 色素剤と各種抗腫瘍剤とを組合せた時のエ腹水癌細胞の E 赤染率

実験に用いた濃度は, 前に求めた In Vitro に於け

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ		Astra Floxine FF conc		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■ ¹	++	—
Gentian Violet	100 r	■■■	■■■ ¹	■■■	++
	10 r	++	■■■ ¹	++	++
	1 r	+	■■■ ¹	++	+

るその有効濃度と無効濃度についてそれぞれ組合せを行つた。即ち色素剤の Fuchsine, Gentian Violet Astra Floxine FF conc の 3 種を主体に、前述と同様にその組合せ濃度は 100 r, 10 r, 1 r とした。抗腫瘍剤では Sarkomycin では 1 mg, 0.1 mg 濃度, NMNO は 10 mg, 1 mg 濃度, Carzinophilin は 10 r, 1 r 濃度, 8-Azaguanin は 3 mg, 1 mg 濃度, RC-4 は 20 mg, 10 mg 濃度とし、これらを組合せた場合について試みた。

まず、色素剤と Sarkomycin との併用群は最も顕著な併用作用がみられた。即ち Fuchsine, Gentian Violet, Astra Floxine FF conc の 3 者ともに鮮明にみられ、いずれも色素剤 10 r 濃度では+, Sarkomycin

第 6 表 その 2 有効色素剤と Sarkomycin との併用

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ		Fuchsine		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■ ⁷	+	—
Sarkomycin	1 mg	■■■	■■■ ⁷	■■■	■■■
	0.1 mg	—	■■■ ⁷	++	++

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ		Gentian Violet		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■	+	—
Sarkomycin	1 mg	++	■■■ ⁷	■■■	■■■
	0.1 mg	—	■■■	++	++

0.1 mg 濃度では—のものが併用により++に上昇し、更に前二者の色素剤 1 r 濃度と Sarkomycin 0.1 mg 濃度の無効濃度を組合せた場合にも++の成績を示した

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ		Astra Floxine FF conc		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■ ³	+	—
Sarkomycin	1 mg	■■■	■■■ ¹	■■■	■■■
	0.1 mg	—	■■■ ¹	++	+

(第 6 表その 2 参照)。

色素剤と NMNO の併用群に於て Fuchsine との併用では特記すべき併用効果を認めなかつたが Gentian Violet, Astra Floxine FF Conc との併用の場合には効果の上昇が認められた。第 6 表その 3 に示す如く, Gentian Violet 10 r 濃度では+, NMNO 1 mg 濃度では—のものが++と相加的に現われ、また両者の無効

第 6 表 その 3 有効色素剤と NMNO との併用

移植後 11 日目腹水

試 剤	組合せ		Fuchsine		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■	+	—
NMNO	10 mg	+	■■■ ⁷	++	+
	1 mg	—	■■■ ⁷	+	+

移植後 9 日目腹水

試 剤	組合せ		Gentian Violet		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■	+	—
NMNO	10 mg	++	■■■	■■■	++
	1 mg	—	■■■	++	+

移植後 9 日目腹水

試 剤	組合せ		Astra Floxine FF conc		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■ ¹	++	—
NMNO	10 mg	++	■■■ ¹	++	++
	1 mg	—	■■■ ¹	++	+

濃度域の併用に依り有効作用を示すに至つた。Astra Floxine FF conc と NMNO も無効濃度域を組合せた場合にもエ腹水癌細胞に障害的に作用し相加作用が

みられた。しかし、その併用効果は Sarkomycin と併用した場合に較べると幾分劣るといえる。

色素剤と 8-Azaguanine の併用群は Fuchsine とでは無効濃度域の組合せでも有効成績を示したが、Gentian Violet とでは特記すべき併用効果はみられなかつた。Astra Floxine FF conc の 10 r 濃度と 8-Azaguanine の 1 mg とを組合せた場合若干の併用作用がみられた (第 6 表その 4)。

色素剤と Carzinophilin 併用群、および色素剤と RC-4 併用群はいずれの組合せの場合にもエ腹水癌細胞に対する障害率を上昇或いは阻止することはなかつた (第 6 表その 5, 6 参照)。

第 6 表 その 4 有効色素剤と 8-Azaguanine との併用

移植後 7 日目腹水

試 剤			Fuchsine		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅	+	-
8-Azaguanine	3 mg	卅	卅 ⁵	卅	卅
	1 mg	-	卅	+	+

移植後 10 日目腹水

試 剤			Gentian Violet		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅	-	-
8-Azaguanine	2 mg	卅	卅 ⁷	卅	卅
	1 mg	-	卅	-	-

移植後 7 日目腹水

試 剤			Astra Floxine FF conc		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅 ¹	+	+
8-Azaguanine	3 mg	卅	卅 ¹	卅	+
	1 mg	-	卅 ¹	卅	+

B. 吉田肉腫に対する場合

1. 保存液と吉田肉腫細胞の E 赤染率

エ腹水癌に用いたと同様に保存液を選択する目的で

第 6 表 その 5 有効色素剤と Carzinophilin との併用

移植後 9 日目腹水

試 剤			Fuchsine		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅	卅	+
Carzinophilin	10 r	卅	卅 ⁷	卅	卅
	1 r	-	卅 ⁷	卅	+

移植後 9 日目腹水

試 剤			Gentian Violet		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅	+	-
Carzinophilin	10 r	+	卅	+	+
	1 r	-	卅	+	-

移植後 9 日目腹水

試 剤			Astra Floxine FF conc		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅 ¹	+	-
Carzinophilin	10 r	+	卅 ¹	卅	+
	1 r	-	卅 ¹	+	-

第 6 表 その 6 有効色素剤と RC-4 との併用

移植後 7 日目腹水

試 剤			Fuchsine		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅	+	+
RC-4	20 mg	-	卅	卅	+
	10 mg	-	卅	卅	+

移植後 9 日目腹水

試 剤			Gentian Violet		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			卅	-	-
RC-4	20 mg	-	卅	-	-
	10 mg	-	卅	-	-

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ		Astra Floxine FF conc		
			100 r	10 r	1 r
	濃度	判定	■■■ ¹	++	++
RC-4	20 mg	—	■■■ ¹	++	+
	10 mg	—	■■■ ¹	++	+

移植後 6 日目の純培養状態になった吉田肉腫細胞を用いて前述の 12 種の保存液を塩類溶液に接種し、その E 赤染率を検べた。

この結果、いずれの供試保存液も顕著な E 赤染率を認めなかつたが、Glucosol, Hanks, Moscona, および Rinaldini では吉田肉腫細胞に対し比較的低位の赤染率を示した。即ち各々の E 赤染率は観察 3 時間目では、1.4%, 1.3%, 1.0%, 1.6% で作用域が進み 7 時間目に至つても 13.4%, 13.8%, 13.7%, 13.3% を示すに止まつた。

これに比較して成績の悪かつた生理食塩液では作用 3 時間で 2.8%, 7 時間 19.5% を示した。そこで著者は保存液としての塩類溶液はエ腹水腫と同様に Rinaldini 液を用いて実験を進めることにした (第 7 表参照)。

第 7 表 吉田肉腫に於ける各種塩類溶液と E 赤染率

移植後 5 日目腹水					
作用時間 (時)	1	3	5	7	24
塩類溶液					
生理食塩液	1.0	2.8	8.5	17.5	100.0
Ringer	0.9	1.9	6.3	14.7	100.0
Locke	0.5	2.2	7.2	14.3	98.2
Ringer-Locke	0	1.8	6.4	14.2	99.5
Tyrode	0	1.4	5.9	15.2	94.8
Glucosol	0.5	1.4	5.4	13.4	93.4
Simms X7	1.3	2.3	6.3	14.6	99.6
Earle	0.9	1.3	6.8	14.7	99.1
Gey	0.5	1.9	6.3	14.5	98.6
Hanks	0.5	1.3	6.9	13.8	96.7
Moscona	0.5	1.0	5.8	13.7	98.6
Rinaldini	0.5	1.6	6.4	13.3	97.4

2. 作用温度および保存液の pH と吉田肉腫細胞の E 赤染率

実験方法はエ腹水腫に用いた場合と同様で、これに

吉田肉腫細胞を浮遊せしめ、その E 赤染率について検べた。その成績を第 8 表に示す。先ず作用温度について観察すると、何れの pH 域に於てもその温度の低い 25°C の方が吉田肉腫細胞の E 赤染率は低い値を示した。

保存液の pH の影響を E 赤染率をもつて観察すると、いずれの作用温度に於ても pH が中性附近に於て最も低率を示し、この傾向はいずれの観察時間にも全く同様に窺われた。

しかし、作用温度が 37°C では pH が 5.0 に調製されたものでは、相当に強く障害され、pH は 7.2 の E 赤染率と比較すると約 4 倍のひらきがみられた。

第 8 表 吉田肉腫に於ける作用温度および pH と E 赤染率

37℃							移植後 5 日目腹水	
pH	作用時間 (時)							
		1	3	5	7	24		
5.0		12.1	17.4	22.5	36.2	100.0		
6.0		2.2	7.0	8.4	19.8	100.0		
6.8		0.9	5.4	4.7	9.0	100.0		
7.2		1.4	5.5	4.6	8.5	92.8		
8.0		2.2	8.8	8.9	13.4	99.5		

25℃								
pH	作用時間 (時)							
		1	3	5	7	24		
5.0		3.1	9.6	13.7	18.4	96.8		
6.0		2.2	2.3	6.4	6.4	89.4		
6.8		1.4	2.4	3.5	5.1	88.5		
7.2		1.5	1.3	1.8	4.9	86.7		
8.0		2.9	2.3	3.6	6.5	96.1		

3. 薬物の有効値判定のための測定時間の検討

In Vitro に於ける、薬物の障害度を検索する際の有効値判定を行うには、保存液中の自然 E 赤染率も考慮に入れ、何れの観察時が最も誤差少なく、その E 赤染率を実測出来るか当然検討されなくてはならない。既にエ腹水腫を用いた実験に於ても、この点を検討して来たが、吉田肉腫細胞についても同一の検討を加え、その実測値の分布状態を検べた。その成績は第 12 図に示す様に、作用時間が永くなるにつれて、その分布範囲は狭まる。作用 24 時間目では殆んど 100% 近く細胞は自然に赤染されるので、薬物の障害度を測定する為には不適當であるが、作用 7 時間目では塩類溶液 (Rinaldini 液) 中の自然 E 赤染率は

10 % 内外であり、その分散状態は全く狭く 1 ± 0.2 以内と、殆んど実測値の誤差が少ない様に思われる。そこで、エ腹水癌細胞でも行つた作用7時間目の成績をもつて実験を進める事にした。

第2図 吉田肉腫に於ける各観察時のE赤染率の分散状態

移植後6日目腹水

4. 各種色素剤と吉田肉腫細胞のE赤染率

エ腹水癌を用いた色素剤の抗腫瘍性 Screening test で有効と判定された数種の色素剤および系統別に選んだ色素剤計 20 種について吉田肉腫細胞に対する障害作用を検討してみた。

実験方法および判定規準は前述の通り、観察時間は作用後7時間目とし、前回でエ腹水癌に用いた時と同様の方法によつた。この成績は第11表に表記したが、大体に於てエ腹水癌に作用した色素剤は吉田肉腫細胞にも同様の有効作用を示すのが見られた。

まず、Phenylmethan 系色素剤についてみると塩基性色素剤である Fuchsine は ⅢⅢ, Malachite Green は ⅢⅢ³, Brilliant Green は ⅢⅢ⁵, Gentian Violet は ⅢⅢ で以上の Triphenylmethan 系の色素剤に反して、Diphenylmethan である Auramine は若干その障害度弱く ⅢⅢ を示すに止まつた。

又此の系統の酸性色素剤には、Guinea Green を選

んだが、エ腹水癌と同様に何んら影響を及ぼさなかつた。

又実験に選んだ Azo 系, Pyrazolon 系, Phthalein 系, Acridine 系, Nitro 系, Azine 系の各色素剤はその化学構造学的な又物理学的性質である酸性、塩基性には、その供試濃度に於ける障害作用は何んら有意の差異を認めず、対照と略々類似の E 赤染率がみられた。

しかし Thiazine 系 (Metyhlen blue(+)), Thiazol 系 (Thioflavine T (+)) の各供試塩基性色素剤は吉田肉腫にも障害的に働き、又特に Quinoline 系の Astra Floxine FF conc (ⅢⅢ¹) は作用1時間目に於て既に全腫瘍細胞を E 赤染するのが見られた (第9表参照)。

第9表 吉田肉腫に対する各種色素剤の効果

移植後5~9日目腹水

色 素 名	効 果
Fuchsine	ⅢⅢ
Malachite Green	ⅢⅢ ³
Brilliant Green	ⅢⅢ ⁵
Gentian Violet	ⅢⅢ
Guinea Green	—
Auramine O	ⅢⅢ
Bismarck Brown	—
Resorcine Brown R	—
Wool yellow extra conc	—
Rhodamine B	—
Erythrosine	—
Methylen Blue	+
Thiocarmin R	—
Astra Floxine F F conc	ⅢⅢ ¹
Quinaline Yellow conc	—
Acrinol	—
Phosphine	—
Naphthol yellow S conc	—
Neutral Red	—
Thioflavine T	+

註 1) 作用7時間目の成績を示す。

2) 以下の表もこれに準ずる。

そこで吉田肉腫細胞に特に強い障害作用を示した Triphenylmethan 系塩基性色素剤である Fuchsine, Malachite Green, Brilliant green および Gentian Violet と Quinoline 系塩基性色素剤である Astra Floxine FF conc の5種についてその障害濃度を測定

した。この結果は第 12 表に示す如く何れの色素剤も 1 cc 当り 1~10 r 濃度で大体有効な成績が得られた (第 10 表参照)。

第 10 表 吉田肉腫に対する色素剤の有効量の測定

移植後 5~9 日目腹水

濃度 mg/cc	1 mg	100 α	10 α	1 α
色素名				
Fuchsine	■■■ ¹	■■■	+	—
Malachite Green	■■■ ¹	■■■ ³	■	+
Brilliant Green	■■■ ¹	■■■ ⁵	■	—
Gentian Violet	■■■ ¹	■■■ ⁷	+	—
Astra Floxine F F conc	■■■ ¹	■■■ ¹	■	+

註 表記した有効値は 5~10 回の平均値を示す。

5. 各種抗腫瘍剤と吉田肉腫細胞の E 赤染率

供試抗腫瘍剤の吉田肉腫細胞に対する E 赤染率について、その障害濃度を観察すると、作用濃度 1 cc 当り、Sarkomycin が 10 mg で ■, NMNO は 5 mg で +, 8-Azaguanine は 2 mg で ■, Carzinophiline 10 r で ■, RC-4 は 20 mg で ■ の値を示した。

これをエ腹水癌細胞の障害作用と比較すると NMNO および RC-4 の E 赤染率は高く、反対に Sarkomycin が低下する傾向を示している。その他の抗腫瘍剤では殆んどその有効濃度は類似の結果がみられた (第 11 表参照)。

第 11 表 吉田肉腫に対する各種抗腫瘍剤の有効量

移植後 5~7 日目腹水

濃度/cc	100 mg	10 mg	1 mg	0.1 mg
試剤				
Sarkomycin	■■■	■	—	—

濃度/cc	10 mg	5 mg	1 mg	0.1 mg
試剤				
NMNO	■■■	+	—	—

濃度/cc	4 mg	3 mg	2 mg	1 mg
試剤				
8-Azaguanine	■	■	■	—

6. 各種色素剤並に抗腫瘍剤を併用した際の吉田肉腫細胞の E 赤染率。

次に、先きの実験で吉田肉腫細胞に対し良好な障害性を示した、Fuchsine, Gentian Violet, Astra Floxi-

濃度/cc	10 r	5 r	1 r	—
試剤				
Carzinophilin	■	—	—	—

濃度/cc	20 mg	10 mg	5 mg	2.5 mg
試剤				
RC-4	■	—	—	0.1 r

ne FF conc を選び、腹水癌の場合と同様に

① 前記 3 者を相互に併用した場合

② 色素剤と各種抗腫瘍剤とを併用した場合について追求した。

(i) 色素剤を組合せた時の吉田肉腫細胞の E 赤染率

選んだ色素剤の In Vitro に於ける有効濃度および無効濃度は、いずれの色素剤も大体一致していたので、各々の色素剤の濃度は、それぞれ 1 cc 当り 100 r, 10 r, 1 r 濃度とし、その各組合せについて実験した。

その結果、Astra Floxine FF conc と Triphenylmethan 系色素剤である Fuchsine 或は Gentian Violet の組合せたものでは何んら影響を示さなかつた。

第 12 表 その 1 有効色素剤の併用

移植後 5 日目腹水

試 剤	組合せ		Gentian Violet		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
Fuchsine	100 r	■■■	■■■	■	—
	10 r	+	■■■	■	—
	1 r	—	■■■	+	—

移植後 6 日目腹水

試 剤	組合せ		Astra Floxine FF conc		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
Fuchsine	100 r	■■■	■■■ ¹	■■■ ⁷	■
	10 r	+	■■■ ¹	■	+
	1 r	—	■■■ ¹	■	—

たゞ、同系統の Fuchsine および Gentian Violet を併用した時にのみ僅かの相加的作用がみられるに止まつた。即ち、両者共に 10 r 濃度を組合せた場合、それぞれの単独効果 + より ■ と E 赤染率が上昇してい

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ		Astra Floxine FF conc		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■ ¹	■	+
Gentian Violet	100 r	■■■	■■■ ¹	■■■	■■■
	10 r	+	■■■ ¹	■	+
	1 r	—	■■■ ¹	■	+

るのが示される (第 12 表その 1 参照)。

(ii) 色素剤と各種抗腫瘍剤とを組合せた時の吉田肉腫細胞の E 赤染率。

色素剤の供試濃度は前述の如く、有効濃度無効濃度に至る範囲で 1 cc 当り、100 r, 10 r, 1 r を用い、抗腫瘍剤は先きの実験を基として、その有効濃度および無効濃度を用いた。即ち、Sarkomycin では保存液 1 cc 当り 10 mg および 1 mg 濃度を、NMNO では、10 mg, 1 mg 濃度、Carzinophiline は、10 r, 1 r 濃度、8-Azaguanine は、2 mg, 1 mg 濃度、RC-4 は、20 mg, 10 mg 濃度として各々の濃度に就いて先きの色素剤との併用実験を行った。

最も顕著に併用作用のみられたのは、NMNO と色素剤とを組合せた場合で、NMNO の無効濃度域である 1 mg 濃度と、Fuchsine, Gentian Violet の 10 r (+) との組合せで腫瘍細胞障害領域は ■ に上昇するのがみられ、又各々の有効濃度では観察 7 時間以内に総ての吉田肉腫細胞が E 赤染した。

又 Astra Floxine FF conc の 1 r 濃度との組合せでも ■ に E 赤染率の上昇する成績が得られた (第 12 表その 3 参照)。

Sarkomycin と各色素剤との併用では Sarkomycin の 10 mg 濃度の ■ が Fuchsine のそれぞれの濃度との組合せで ■ に、又同じ系統の色素剤である Gentian Violet の 100 r, 10 r 濃度との組合せで、それぞれ ■ を示すに至つた。

又 Sarkomycin の無効濃度である 1 mg 濃度との併用に於て、Astra Floxine FF conc の 10 r 濃度の障害度 ■ が ■ に、1 r 濃度の + が ■ と顕著な併用効果のある事を認めた (第 12 表その 2 参照)。

その他の抗腫瘍剤と色素剤との組合せでは 8-Azaguanine が Astra Floxine FF conc の有効濃度の組合せで若干 E 赤染率の増強される結果を示したが、色素剤と Carzinophilin の併用群、色素剤と RC

-4 の併用群は、いずれも吉田肉腫細胞に対する障害率の上昇も、又低下もみられなかつた (第 12 表その 4, その 5 およびその 6 参照)。

III. 総括および考察

従来悪性腫瘍の化学療法剤としての査定は動物を基礎とした In Vivo の実験で多くなされてきたが、近時抗瘤剤の系統的合成および抗生物質の発見などによ

第 12 表 その 2 有効色素剤と Sarkomycin との併用

移植後 5 日目腹水

試 剤	組合せ		Fuchsine		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■	+	—
Sarkomycin	10 mg	■■■	■■■ ⁷	■■■	■■■
	1 mg	—	■■■ ¹	■	—

移植後 6 日目腹水

試 剤	組合せ		Gentian Violet		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■	■	—
Sarkomycin	10 mg	■■■	■■■	■■■	■■■
	1 mg	—	■■■	■	—

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ		Astra Floxine FF conc		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■ ¹	■	+
Sarkomycin	10 mg	■■■	■■■ ¹	■■■	■■■
	1 mg	—	■■■ ¹	■■■	■

第 12 表 その 3 有効色素剤と NMNO との併用

移植後 9 日目腹水

試 剤	組合せ		Fuchsin		
	濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			■■■	+	—
NMNO	10 mg	■■■	■■■ ⁵	■■■ ⁵	■■■ ⁷
	1 mg	—	■■■	■	—

移植後 5 日目腹水

試 剤			Gentian violet		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
				+	—
NMNO	10 mg		⁷		
	1 mg	—		++	—

移植後 6 日目腹水

試 剤			Astra Floxine FF conc		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			¹		+
NMNO	10 mg		¹		
	1 mg	—	¹		++

第 14 表 その 4 有効色素剤と 8-Azaguanine
との併用

移植後 7 日目腹水

試 剤			Fuchsin		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
				+	—
8-Azaguanine	2 mg	++		++	++
	1 mg	—		+	—

移植後 8 日目腹水

試 剤			Gentian violet		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
				+	—
8-Azaguanine	2 mg	++		++	++
	1 mg	—		+	—

移植後 6 日目腹水

試 剤			Astra Floxine FF conc		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			³	+	—
8-Azaguanine	2 mg	++	¹		++
	1 mg	—	¹	+	—

第 12 表 その 5 有効色素剤と Carzinophilin
との併用

移植後 7 日目腹水

試 剤			Fuchsin		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
				+	—
Carzinophilin	10 r	++		++	++
	1 r	—		+	—

移植後 6 日目腹水

試 剤			Gentian Violet		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			++	++	—
Carzinophilin	10 r	++		++	—
	1 r	—	++	++	—

移植後 7 日目腹水

試 剤			Astra Floxine FF conc		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			¹	++	—
Carzinophilin	10 r	++	¹	++	++
	1 r	—	¹	++	—

第 12 表 その 6 有効色素剤と RC-4 との併用
移植後 9 日目腹水

試 剤			Fuchsin		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
			++	+	—
RC-4	20 mg	++	++	++	++
	10 mg	—	++	+	—

移植後 6 日目腹水

試 剤			Gentian Violet		
	組合せ 濃度	判定	100 r	10 r	1 r
				+	—
RC-4	20 mg	++		++	++
	10 mg	—		+	—

移植後 7 日目腹水

試 剤	組合せ 濃度	判定	Astra Floxine FF conc		
			100 r	10 r	1 r
RC-4	20 mg	++	■■■ ¹	■■■	—
	10 mg	—	■■■ ¹	■■■	—

り Screening 試験を Tissue culture method による In Vitro での実験が Drew²⁾, Diller³⁾, Schrek⁴⁾ などにより報告されている。著者は Unstained cell count method を応用して、エ腹水癌および吉田肉腫について各種色素剤および抗腫瘍剤の抗癌性について精査し、更に良好な制癌作用を示した色素剤を中心に抗腫瘍剤と併用し、その障害機作および併用効果について究明した。

まず本法を応用するに先だつて二、三の基礎実験を行った。

保存液については生理食塩液、Ringer 液、Lock 液、Ringer-Lock 液、Tyrode 液、Glucosol 液、Simms X 7 液、Earle 液、Gey 液、Hanks 液、Moscona 液、および Rinaldini 液など 12 種¹⁾の塩類溶液について 37°C の作用温度でエ腹水癌細胞および吉田肉腫細胞の態度を吟味してみたところ、前者では Glucosol 液或いは Rinaldini 液が、後者では Glucosol 液、Hanks 液、Moscona 液、Rinaldini 液が他塩類溶液に比較して最も Unstained cell の状態で生存するのが認められた。そこで著者は Rinaldini 液を用いて実験を進めることとした。

次いで Rinaldini 液の液性について検討した結果は pH 5~8 の間に於て pH が中性附近で最も良結果を示し、又作用温度を 25°C および 37°C で比較検討すると、37°C の際に E 赤染率が高く、特にこの温度に於て pH の酸性度が高い程 E 赤染率の増加する傾向がみられた。併し供試動物の体温を考慮し実験の作用温度は 37°C とし、pH 7.2 の Rinaldini 液を用いて次の薬剤の作用を検討することにした。

色素剤については Lettre⁵⁾ は Tripaflavine がエ腹水癌の発育を抑制することを報告しており、また織田^{6,7)}もエ腹水癌細胞に対する各種色素剤の作用を詳細に調べ Light Green, Ethyl Violet, Methylen Blue などは細胞の核或いは原形質に変性を与えることを報告し、藤田、岩瀬⁸⁾らは Trypan Blue を赤色、

紫色および青色の各成分に分離し、これらの色素成分のうちでは青色色素成分が実験的に癌発生を抑制すると述べ、梅田⁹⁾は食品添加用諸化学物質特に Acid Violet, Auramine などについてダイコクネズミを基体に発癌実験を試みたが、動物には癌は出来なかつたという。

著者の選んだ 54 種の色素剤のうちでは特に、Triphenylmethan 系、Thiazol 系、Quinoline 系塩基性色素が腫瘍細胞に対し相当に強い障害作用を示すのが認められた。即ち Fuchsin, Malachite Green, Brilliant Green, Gentian Violet, Thioflavine T, Astra Floxine FF cone などは 0.01% の濃度で顕著な E 赤染率の増加が認められ、特に Quinoline 系の薬剤については酒井¹⁰⁾も NF 肉腫 およびエ癌を用いてその有効性を主張している。Azo 系, Phthalain 系などの塩基性色素は殆んど障害作用は示さないが、Thiazin 系の Methylen Blue, Diphenylmethan 系の Auramin など若干 E 赤染率を高めるものがみられた。これに反し、供試した殆んどの酸性色素は一、二弱い障害作用を示すものがあつたが、大部分のものは、殆んど障害作用はないと思われた。次に実験的にも又臨床的にも広く抗腫瘍剤として用いられている Sarkomycin, NMNO, 8-Azaguanine および Carzinophilin 等、それに RC-4 を加えて、その In Vitro の作用を検討した。

Sarkomycin については梅沢¹¹⁾、石山¹²⁾らはエ腹水癌に特異的に作用する事を報告しており、NMNO はこれに反し、Klein¹³⁾によるとエ腹水癌の発育を許したと報告しているが、著者の成績に於ても Sarkomycin は吉田肉腫よりも、エ腹水癌の方が少量で有効な成績を示すのがみられ、又 NMNO は逆にエ腹水癌よりも吉田肉腫に特に有効なのが認められた。即ちエ腹水癌細胞に対し Sarkomycin は 1 cc 当り 0.1 mg の濃度で+、NMNO は 10 mg で++を示したが、吉田肉腫細胞に対しては、前者は 1 mg 濃度で-、10 mg 濃度では+++で、後者は 5 mg 濃度で+、10 mg 濃度では+++であつた。

次に 8-Azaguanine はエ腹水癌に対し 2 mg 濃度で+、吉田肉腫には++を、また Carzinophilin は、いずれに対しても 10 r 濃度で++を示し、In Vitro では殆んど両者の間の選択性は認められない。また RC-4 は吉田肉腫に対し 20 mg 濃度で++を示したが、エ腹水癌に対しては殆んど影響を示さなかつた。

最近に至つて腫瘍細胞も、治療に際し細菌の場合と

同様に、特定の薬物に対し比較的急速に抵抗性を獲得することが知られ、悪性腫瘍の化学療法も、従来多く用いられてきた強力な抗腫瘍性を有する薬剤の併用、或いは作用機作の異なる薬剤の併用療法などを取り入れなければならない。この点教室の藤田¹⁴⁾は吉田肉腫および606系腹水肝癌についてNMNOを中心にSarkomycin, 8-Azaguanine, 2-4-6-Triethylen imino-S-triazine, (以下TEMと略す) Ureaなどの併用作用について検討し、相当の死期延長効果を認め、浦部¹⁵⁾は、エ腹水癌を用いSarkomycinを主体にNMNO、或いはTEMの併用効果を報告している。その他併用療法を実験的に行つた報告にはMandel¹⁶⁾らが、DBA/2, CDFマウス白血病に於て8-Azaguanineと4-amino-5-imidazolocarboxamideの併用に、又Shapiro and Gellhorn¹⁷⁾はC₅₇ BLマウスのAdenocarcinomaに8-AzaguanineとDesoxypyridoxine, Folic acid, 7-Methylfolic acid, Vitamin B₁₂等の併用が有効であつたと述べている。更に相沢¹⁸⁾は吉田肉腫および腹水肝癌に於て抗腫瘍免疫血清と抗腫瘍剤とは著しい相乗作用のあることを述べ、又作用機序を異にする薬剤の併用を試みるべきである事を強調している。

Skipper¹⁹⁾らはNitrogen mustardとX-radiationとを併用し、AK₁白血病をもつAK_mマウスの生存期間の延長を観察し、(Schmeimund²⁰⁾らは吉田肉腫(ラット)をX-irradiationとNitrogen mustard Oxideとの併用により、良好な効果のみられることを報告しており、Magnus²¹⁾らはActinomycin C (Sanamycin)とX-rayとの併用をHodgkin's病に応用し効果を示している。

そこで色素剤で特に著効の認められたTriphenylmethan系塩基性色素剤のFuchsine, Gentian Violetと、Quinoline系塩基性色素剤のAstra Floxine FF concを選び、これを主体に前述の抗腫瘍剤と共にその有効濃度および無効濃度を組合せて、その併用効果を検討したところ、二種の色素剤の併用作用は殆んど数値として表わす程の増強はみられなかつた。これに反し、抗腫瘍剤のうちSarkomycin、或いはNMNOと色素剤の組合せに於ては顕著な併用効果のあるのが認められた。即ち先ずエ腹水癌についてみると吉田肉腫よりもエ腹水癌に有効であつたSarkomycinは各々の色素剤との併用に於て、有効量の組合せ、或いは無効量の組合せに於てもそのE赤染率が非常に上昇するのが認められた。特に併用作用の強くみられたの

はSarkomycinの無効量である1cc当り0.1mgの濃度(−)とFuchsine 或いはGentian Violetの無効量である1r濃度(−)との組合せで、各々+に上昇し、Astra Floxine FF concの1r濃度(−)が+に増強されている。NMNOと色素剤の組合せではSarkomycinのときほど顕著ではないが、同様に併用による相当の増強作用が示された。例えばエ腹水癌に対しNMNOおよび色素剤のいずれの無効濃度を組合せた場合にも対照に較べて+と記せられる位の併用効果が認められた。8-Azaguanine, Carzinophilin, RC-4と色素剤の組合せは全くその併用作用は認められず、作用の増強も抑制もされなかつた。吉田肉腫に対してはNMNOと色素剤の組合せで特に強い作用の増強を認めた。即ちNMNOの無効量である1cc当り1mg濃度(−)とFuchsine, Gentian Violetの稍有効であつた10r濃度(+)の併用で+にE赤染率の増加がみられ、また100%完全にE赤染するに必要とする時間も短縮するのがみられる。Sarkomycinと色素剤との組合せに於てもエ腹水癌細胞に作用した時と同様、若干併用効果が認められたが、その他の抗腫瘍剤との併用に於ては殆んど何等影響を示さなかつた。

著者は引き続きIn Vitroの実験に於て良好な併用効果のみられた色素剤について、更にDDマウス或いはラットを基にIn Vivoでの併用効果の究明に努めている。

む す び

種々の系統の色素剤並びに制癌剤について試験管内でその抗腫瘍性を検討し、著効を示した色素剤を中心に抗腫瘍剤を組合せ、その併用効果について追求した成績について報告した。

稿を終るに臨み日本医科大学々長塩田広重先生に敬意を表すると共に、御指導、御校閲を賜つた恩師八田貞義教授に深甚の謝意を表します。なお実験に終始御援助下さつた本教室の青山好作博士に、また種々御指導御便宜を頂いた国立衛生試験所中村正夫博士、宮沢文雄、青木好孝の諸氏に厚く御礼申し上げます。なお最後に貴重な資料を御分与下さつた佐々木研究所の井坂先生に感謝致します。

引用文献

- 1) 勝田甫：組織培養法，細谷書店，(1955)
- 2) Drew A.H. : Brt. J. Exp. Path., **3**, 20 (1922)
- 3) Diller I.C., Mankowski Z.T. and Harris L. T. : Cancer Res., **14**, 848 (1954)
- 4) Schrek R. : Antib. and Chemo., **45**, 317

- (1949)
- 5) Sugiura K. : *Cancer Res.*, **13**, 431 (1953) より引用
 - 6) 織田卿一, 佐藤富貴子 : 癌, **46**, 455 (1955)
 - 7) 大里俊吾, 織田卿一, 佐藤富貴子 : 癌, **45**, 561 (1954)
 - 8) 藤田啓介, 岩瀬正次, 伊藤哲彦, 新井豊久 : 癌, **48**, 288 (1957)
 - 9) 梅田真男 : 癌, **48**, 64 (1957)
 - 10) 酒井純雄, 蓑田健二, 斉藤伍作, 赤木仙平, 上野明, 福岡文子 : 癌, **46**, 605 (1955)
 - 11) Umezawa H., Takeuchi T., Nitta K., Okami Y., Yamamoto T. and Yamaoka S. : *J. Antibiotics*, **4**, 147 (1953)
 - 12) 石山俊次 : 第 15 回日本癌学会総会口演 (1956)
 - 13) Klein G., : *Cancer*, **3**, 1052 (1950)
 - 14) 藤田洋一 : 日医大誌, **23**, 171 (1956)
 - 15) 浦部幹雄 : 日医大誌, **24**, 217 (1957)
 - 16) Mandel H.G., Law L.W. : *Cancer Res.*, **14**, 808 (1954)
 - 17) Shapiro D.M. and Gellhorn A. : *Cancer Res.*, **11**, 35 (1951)
 - 18) 相沢憲 : 第 15 回日本癌学会口演 (1956)
 - 19) Skipper H.G., Ghapman J.B. and Bell M. : *Cancer Res.*, **11**, 109 (1951)
 - 20) Bane H.N., Conrad J. T. and Tarnowshi G.S. : *Cancer Res.*, **17**, 551 (1957) より引用
 - 21) Magnus D. and Zeitler K. : *Strahlentherapie* **98**, 413 (1955)
-