抗癌剤投与時における実験的代償性腎肥大の生化学的研究

金沢大学医学部泌尿器科学教室 竹 前 克 朗
(主任: 黒田恭一教授)

A BIOCHEMICAL STUDY ON COMPENSATORY RENAL ENLARGEMENT IN UNILATERAL NEPHRECTOMIZED RATS TREATED WITH MITOMYCIN C OR 5-FLUOROURACIL

Katsuro Takemae

Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University

(Director: Prof. K. Kuroda)

Effects of mitomycin C or 5-fluorouracil on compensatory renal enlargement after unilateral nephrectomy in rats were studied by analyzing patterns of changes in DNA, RNA and protein contents.

The remaining kidneys of rats following unilateral nephrectomy or sham-operated kidneys were removed on the 1st, 3rd, 5th, 7th, 10th and 14th day after the operation. Just after the operation, animals received intraperitoneal injections of either mitomycin C (0.292 mg/kg body weight) or 5-fluorouracil (21 mg/kg body weight). DNA, RNA and protein in cortical, medullary and tubular fractions of the removed kidney were determined according to Burton's method, orcinol method and Lowery's method, respectively. The data were expressed as ratios of the values in the left kidney to those of the right kidney in each animal.

In the animals treated with mitomycin C or 5-fluorouracil, the increase in kidney weight after unilateral nephrectomy was similar to that of the untreated animals up to the 10th day, but significantly lower on the 14th day. The ratio of cortical weight to medullary weight, however, remained almost constant during the experimental period.

In the nephrectomized control rat, hyperplastic and hypertrophic responses were noticed in both cortex and medulla, as judged from patterns of increments in DNA, RNA and protein contents. However, hyperplastic response which was active between the 1st and 3rd day was somewhat stronger in the cortex than in the medulla. The effect of mitomycin C to the nephrectomized animals was characterized by severe suppression of hyperplasia in both cortex and medulla, and by remarkable decrease in DNA content on the 7th day, suggesting the presence of destructed nuclei. This decreased level of DNA content recovered rapidly after the 7th day. The hypertrophic response was not significantly impaired by mitomycin C. A single administration of 5-fluorouracil resulted in a remarkable suppression of hypertrophic response on the 1st day, and a slight decrease in hyperplasia on the 3rd day. Thereafter, no significant change was observed.

On the basis of the above results, clinical meanings of administration of antitumor drugs after nephrectomy were discussed.

要旨: ウィスター系雄性ラットを用いて, 代償性腎肥大におよぼす mitomycin C あるいは 5-fluorouracil の影響を核酸量および蛋白量の変化を指標として検討した。観察日数は手術後 1, 3, 5, 7, 10, 14 日目とし, 抗癌剤は LD_{50} の 1/10 量を 1 回腹腔内投与した。腎, 皮質, 髄質の各重量ともに, 腎摘除術のみの群では 14 日目まで経日的な増加傾向が認められた。一方, 抗癌剤投与群では 10 日目まではほぼ同様の傾向が認められたが, 14 日後には腎摘除術のみの群に比し有意に低値を示した。細胞の hypertrophy は皮質, 髄質ともに腎摘除術のみの群では 1 日以内に始まり, 14 日目まで継続していると考えられた。一方, hyperplasia は皮質では 1 日目

と3日目の間に強く、以後も軽度ではあるが持続した。髓質でも同様の傾向であつたが皮質に比し軽度であつた。これに対し mitomycin C 投与では、皮質、髓質の hypertrophy に与える影響は少ないが、hyperplasia に対する抑制は強く、7日目には細胞の核の崩壊によると考えられる DNA 含量の著しい低下が認められた。しかしその後は急速な回復傾向が認められた。5-fluorouracil 投与では、皮質、髓質ともに1日目までの hypertrophy の強い抑制と3日目までの hyperplasia の軽度の抑制が認められたが、以後の影響は少なかつた。

緒 言

泌尿器科領域では種々の腎疾患のために一側腎を摘除する手術はしばしば経験され、摘除腎が悪性腫瘍の場合にはしばしば抗癌剤投与が行われている。腎摘除術後の抗癌剤投与は、その種類によっては腎機能障害を来す危険性が大きく、著者は腎癌のため腎摘除術を施行した患者に mitomycin C を投与し、急性腎不全を来した例を経験している。

従来より感染症治療を目的とした抗生剤の腎毒性については数多く報告されているが、抗癌剤については未知の部分が多い。一方、片腎摘除後、対側の残腎に代償性肥大の生ずることはよく知られた事実であるが¹⁾、腎肥大におよぼす抗癌剤の影響に関する研究もほとんど行われていないのが現状である。そのため代償性腎肥大におよぼす抗癌剤の影響を研究する目的で、ラットを用いて mitomycin C (以下 MMC と略す)あるいは5-fluorouracil (以下 5-Fu と略す)を投与し、腎の皮質、髓質および分離した尿細管の DNA, RNA および蛋白含量を測定し、種々の検討を行つた。

実験方法

1. 実験動物

実験動物は12〜16週齢のウィスター系雄性ラット(平均体重約300g)を使用した。食餌は動物飼育用ペレット(オリエンタル酵母工業)を与え、飲水は自由とした。

2. 使用抗癌剤

使用薬剤は MMC および 5-Fu (協和醗酵株式会社)の2剤で、MMC および 5-Fu は滅菌生理食塩水でそれぞれの濃度を0.1mg/ml および 5mg/ml に調整した後、MMC は0.292mg/kg、5-Fu は21mg/kg を腹腔内に1回投与した。

3. 手術方法および実験群

ペントバルビタール麻酔下にポビドンヨードで皮膚消毒を行つた後、右背面斜切開にて後腹膜法により右腎を摘除した群(N群)、更にその直後に MMC を投与した群(NM群)、同様に 5-Fu を投与した群(NF群)をそれぞれ30匹ずつ作成した。また右腎周囲を剝離する操作(偽手術)のみにとどめた群(S群)、更にその直後に

MMC を投与した群(SM群)、同様に 5-Fu を投与した群(SF群)をそれぞれ18匹ずつ作成した。手術後1, 3, 5, 7, 10, 14日目に N, NM, NF 群はそれぞれ5匹ずつ残存左腎を、S, SM, SF 群はそれぞれ3匹ずつ両腎を摘除した。手術時刻は午後2〜4時に定めた。

4. 皮質と髓質の分離

摘除腎は周囲の脂肪組織を除去し、重量を測定した後、4℃のコールドルーム内で皮質と髓質を分離した。すなわちまず腎を前後で切半した後、長軸に垂直に厚さ1〜2mm にスライスし、ピンセットで皮質と髓質を分離した。そしてそれぞれを細切した後重量を測定し、その一部は50倍量の生理食塩水を加えてホモジナイズした。また抗癌剤非投与群の N, S 群および MMC 投与群の NM, SM 群では皮質の一部より尿細管を分離し、上記ホモジネートとともに化学的測定に供した。

5. 尿細管分離

尿細管の分離は Helwig ら²⁾、Ahn ら³⁾の方法に準じた岡所⁴⁾の方法に従つて行つた。概略を記述すると、細切した皮質の一部を pH 7.4 に調整した Hanks 液に入れ、これに0.1% collagenase (Type I, Sigma 社製)を加えて37℃の恒温槽内で振盪し、皮質細胞を分離した。得られた皮質細胞は Hanks 液に浮遊させて sucrose gradient (75% w/v 5ml, 57% w/v 15ml, 8.6% w/v 10ml) に重層し、1,000g で60分間遠心した後、57%と8.6%の間に分離された層をとり出し、化学的測定に供した。

6. 化学的測定

得られた試料に10% perchloric acid (PCA) を加えて10分間氷冷し、9,000g で10分間遠心した。沈渣について再び同様の操作を行つた。次にその沈渣に5% PCA を加えて、90℃の恒温槽内で15分間インキュベートし、25,000g で30分間遠心した。沈渣には 1N-NaOH 溶液を加えて、60℃の恒温槽内で10分間加温溶解したうえ、蛋白含量を測定した。DNA 含量は Burton の方法⁵⁾、RNA 含量は orcinol 法⁶⁾、蛋白含量は Lowry らの方法⁷⁾に従つて測定した。

ラットの腎重量、DNA, RNA, 蛋白各含量などは個体

Table 1 Kidney weight (mg) per body weight (g)

Days after operation		1	3	5	7	10	14
No drug	N	3.95 ± 0.11	4.35 ± 0.28	4.20 ± 0.31	4.40 ± 0.27	4.32 ± 0.07	4.50 ± 0.21
	S	3.99 ± 0.55	4.05 ± 0.37	3.82 ± 0.21	3.86 ± 0.19	3.50 ± 0.04	3.39 ± 0.09
MMC	NM	4.03 ± 0.15	4.03 ± 0.18	4.40 ± 0.28	4.32 ± 0.35	4.39 ± 0.12	4.22 ± 0.15
	SM	3.18 ± 0.27	3.65 ± 0.27	3.76 ± 0.27	3.27 ± 0.11	3.71 ± 0.08	3.57 ± 0.34
5-Fu	NF	4.89 ± 0.30	3.66 ± 0.16	4.94 ± 0.07	3.74 ± 0.16	4.54 ± 0.12	4.35 ± 0.09
	SF	4.18 ± 0.14	4.15 ± 0.04	4.07 ± 0.17	3.83 ± 0.13	3.50 ± 0.09	4.02 ± 0.21

Mean ± S. E.

N : nephrectomy (5rats), S : sham (3rats), NM : nephrectomy + MMC (5rats), SM : sham + MMC (3rats), NF : nephrectomy + 5-Fu (5rats), SF : sham + 5-Fu (3rats)

Table 2 Effects of MMC or 5-Fu on kidney weight and macromolecular contents in sham-operated rats.

Days after operation			1	3	5	7	10	14
Kidney weight (mg)	No drug	R	940 ± 81	1477 ± 50	1158 ± 56	954 ± 22	774 ± 34	889 ± 24
		L	971 ± 91	1472 ± 71	1126 ± 68	956 ± 26	819 ± 19	895 ± 26
	MMC	R	1169 ± 153	1171 ± 73	1170 ± 105	923 ± 64	821 ± 41	1150 ± 55
		L	1099 ± 143	1108 ± 55	1182 ± 94	964 ± 13	861 ± 41	1183 ± 36
	5-Fu	R	934 ± 31	1110 ± 65	935 ± 18	954 ± 22	831 ± 26	1220 ± 10
		L	934 ± 29	1032 ± 21	950 ± 20	957 ± 25	850 ± 38	1262 ± 57
DNA concentration (mg/g tissue)	No drug	R	4.23 ± 0.43	2.87 ± 0.46	2.67 ± 0.41	4.67 ± 0.50	3.40 ± 0.11	3.02 ± 0.11
		L	4.06 ± 0.50	2.57 ± 0.32	2.72 ± 0.46	4.75 ± 0.90	3.20 ± 0.21	2.91 ± 0.20
	MMC	R	3.22 ± 0.44	3.57 ± 0.31	2.05 ± 0.17	3.57 ± 0.44	3.70 ± 0.20	2.42 ± 0.09
		L	3.31 ± 0.46	3.84 ± 0.28	1.95 ± 0.11	3.62 ± 0.48	3.35 ± 0.10	2.46 ± 0.16
	5-Fu	R	3.41 ± 0.24	3.30 ± 0.06	3.13 ± 0.06	3.65 ± 0.34	3.51 ± 0.07	3.90 ± 0.15
		L	3.56 ± 0.34	3.47 ± 0.11	3.04 ± 0.20	3.62 ± 0.17	3.60 ± 0.18	3.72 ± 0.19
RNA concentration (mg/g tissue)	No drug	R	5.95 ± 0.97	3.84 ± 0.29	4.13 ± 0.89	5.57 ± 0.24	5.21 ± 0.17	5.61 ± 0.11
		L	5.72 ± 0.75	3.52 ± 0.45	4.21 ± 0.92	5.54 ± 0.45	5.05 ± 0.10	5.54 ± 0.16
	MMC	R	5.06 ± 0.23	4.72 ± 0.06	4.81 ± 0.12	4.91 ± 0.42	5.93 ± 0.24	5.29 ± 0.18
		L	5.31 ± 0.06	4.83 ± 0.22	4.93 ± 0.25	4.97 ± 0.29	5.87 ± 0.14	5.19 ± 0.07
	5-Fu	R	4.92 ± 0.23	4.85 ± 0.23	4.95 ± 0.16	5.32 ± 0.08	5.24 ± 0.09	4.89 ± 0.23
		L	5.22 ± 0.11	5.09 ± 0.15	4.86 ± 0.14	5.34 ± 0.17	5.27 ± 0.07	4.97 ± 0.31
Protein concentration (mg/g tissue)	No drug	R	161 ± 9	113 ± 6	99.3 ± 10.8	166 ± 4	102 ± 5	100 ± 4
		L	154 ± 7	113 ± 1	104 ± 9	171 ± 5	117 ± 3	98.6 ± 3.4
	MMC	R	89.5 ± 1.0	112 ± 3	92.3 ± 5.1	106 ± 6	113 ± 5	92.5 ± 2.6
		L	94.2 ± 4.0	110 ± 2	92.1 ± 2.1	110 ± 2	122 ± 5	96.9 ± 5.1
	5-Fu	R	98.5 ± 2.4	101 ± 4	90.6 ± 3.9	100 ± 6	98.9 ± 2.1	114 ± 8
		L	107 ± 5	114 ± 8	93.3 ± 4.3	103 ± 5	106 ± 1	111 ± 1

Mean ± S. E., R : Right, L : Left

差が大きく、統計処理を行つても実験成績の検討は困難であつた。しかし同一個体における左右腎の値の比はほぼ一定であるので、原則として右腎の値に対する左腎の値の比（左腎値/右腎値、以下左右比と略す）で比較検討した。

実験成績

1. 体重および体重に対する左腎重量の比

ラットの実験開始時の体重は平均で300g前後であつた。体重の変化を実験開始時に対する終了時の比で検討すると、いずれの群でも10日目まで約1.0であり、14日目にN, SM, SF群ではそれぞれ1.23, 1.17, 1.28のごとく増加したが、NM, NF, S群では約1.0で変化は認められなかつた。

体重に対する左腎重量の比（左腎重量 mg/体重 g）を

みると、N, NM, NFの3群ではいずれも偽手術をほどこしたS, SM, SF群に比し高値の傾向であつたが、個体差が大きく有意の変化とはいえず、またN, NM, NFの3群の間にも有意の変化は認められなかつた（Table 1）。

2. 偽手術群の腎におよぼすMMCおよび5-Fuの影響

偽手術をほどこしたS, SM, SFの3群について、腎重量およびDNA, RNA, 蛋白各含量の推移をTable 2に示した。これらの値はいずれも個体差が大きく、MMCおよび5-Fu投与群と非投与群との間に有意の変化は認められないため、MMCおよび5-Fuは偽手術群の腎重量およびDNA, RNA, 蛋白各含量におよぼす影響は少ないと考えられた。Table 2で明らかなように、各測定値

Table 3 Individual differences and extents of distribution in kidney weights or macromolecular contents.

	Range (Max. ~ Min.)	Mean	Maximal difference from mean per mean (%)	Coefficient * of variation (%)
Kidney weight	1609~733	1034	55.6	18.1
DNA concentration	5.90~1.82	3.34	76.6	23.3
RNA concentration	7.82~2.38	5.07	54.2	14.5
Protein concentration	180~82	110	63.6	19.4
Ratio (left/right) in kidney weight	1.11~0.84	1.00	16.0	5.4
Ratio (left/right) in DNA concentration	1.18~0.78	0.99	22.2	10.0
Ratio (left/right) in RNA concentration	1.16~0.75	1.00	25.0	7.3
Ratio (left/right) in protein concentration	1.29~0.87	1.04	24.0	9.1

* Standard deviation

Mean

Table 4 Cortex weight (mg) per medulla weight (mg)

Days after operation		1	3	5	7	10	14
No drug	N	9.20 ± 0.55	9.45 ± 0.30	8.95 ± 0.80	8.60 ± 0.50	9.50 ± 0.65	9.70 ± 1.02
	S	9.33 ± 0.90	9.55 ± 1.12	8.85 ± 1.20	9.58 ± 0.37	9.65 ± 0.66	9.43 ± 0.20
MMC	NM	10.1 ± 0.9	8.01 ± 1.15	9.52 ± 0.36	9.76 ± 1.03	9.20 ± 0.62	9.92 ± 0.69
	SM	8.65 ± 0.82	8.40 ± 1.12	9.99 ± 0.33	9.57 ± 1.50	9.57 ± 0.45	9.57 ± 0.82
5-Fu	NF	9.49 ± 0.31	8.29 ± 0.17	9.49 ± 0.57	10.1 ± 0.6	9.15 ± 0.80	9.91 ± 0.62
	SF	9.67 ± 1.90	9.90 ± 1.42	10.2 ± 1.2	8.17 ± 0.37	8.40 ± 0.56	9.82 ± 0.97

Mean ± S. E.

N: nephrectomy (5 rats), S: sham (3 rats), NM: nephrectomy + MMC (5 rats), SM: sham + MMC (3 rats), NF: nephrectomy + 5-Fu (5 rats), SF: sham + 5-Fu (3 rats)

における個体差は大きい、それを左右比でみるときわめて近接している。Table 3 に各測定値における個体差および左右比でみた際の差の程度を示した。各測定値ともに個体差は大きく、平均値より各測定値の最大のへだたりを平均値で除した値 (maximal difference from mean per mean) の百分率は最大76.6%に達し、変動係数 (coefficient of variation) の百分率は14.5~23.0%となる。これに対し左右比では前者は最大でも25.0%、後者は10.0%以下にすぎない。すなわち腎における各測定値は個体間では著しい差が認められるが、同一個体内の左右腎ではほぼ同一と考えられる。以後の代償性肥大腎の実験においては、上記の理由で左右比で比較検討した。

3. 代償性肥大腎におよぼす MMC および 5-Fu の影響

1) 腎、皮質および髓質重量 (Fig. 1, Table 4)

腎重量を左右比でみると、N群では経日的に増加し、14日目には実験開始時に比し約40%の増加が認められた。抗癌剤投与群の NM, NF 群では10日目までN群とほぼ同様の増加傾向を示したが、14日目にはそれぞれ 1.13 ± 0.04 (mean $\pm$ S.E. 以下同じ)、 1.21 ± 0.03 で、N群に比し有意の低値を示した。

皮質および髓質重量を左右比でみると、両者とも N, NM, NF の3群ではいずれも腎重量の変化に類似した推移を示した。すなわちN群では皮質および髓質重量とも経日的に増加し、14日目に皮質重量は約37%、髓質重量は約46%の増加が認められた。抗癌剤投与群の NM, NF 群では皮質、髓質重量とも10日目まで増加傾向が認められたが、14日目にN群に比し低値を示した。

左腎の髓質に対する皮質の重量比 (皮質重量 mg/髓質重量 mg) をみると、N, NM, NF 群および偽手術をほどこした S, SM, SF 群ともに9.0前後であった。

2) DNA 含量 (Fig. 2)

皮質 DNA 濃度 (mg/g tissue) を左右比でみると、N群では1日目に軽度減少し、3日目にやや回復傾向はみられたが、14日目まで漸減傾向が認められた。抗癌剤投与群の NM 群では3日目より減少に転じ、7日目に 0.69 ± 0.08 と最低値を示した後、14日目まで急速な回復傾向が認められた。また NF 群では3日目より減少に転じ、以後10日目まではほぼ横ばいで推移したが、14日目に 1.01 ± 0.05 と回復が認められた。なおN群との比較でみた場合、NM 群では7, 10日目に有意の低値を示した ($p < 0.05$, t 検定による)。皮質の総 DNA 量 (皮質

Fig. 1 Effects of MMC and 5-Fu on total, cortical and medullary weight of remaining kidney after nephrectomy. Vertical bars represent standard errors. ○—○: nephrectomy (N), ●—●: nephrectomy+MMC (NM), □—□: nephrectomy+5-Fu (NF)

Fig. 2 Effects of MMC and 5-Fu on DNA contents in cortex and medulla of compensatory enlarging kidney. Vertical bars represent standard errors. ○—○ : nephrectomy (N), ●—● : nephrectomy+MMC (NM), □—□ : nephrectomy+5-Fu (NF)

DNA 濃度×皮質重量)を左右比でみると、N群では3日目までに約10%増加し、以後14日目の 1.21 ± 0.07 までゆるやかな増加傾向が認められた。抗癌剤投与群のNM群では5日目までわずかな増加で推移し、7日目に 0.81 ± 0.06 と高度の減少を示した後、14日目まで急速な回復傾向が認められた。またNF群では5日目までわずかな増加で推移し、7日目以降は軽度の増加傾向が認められた。

これに対して髄質におけるDNA濃度は、N群では皮質の変化にはほぼ類似していたが、3日目以降の値は皮質

に比し低値であつた。抗癌剤投与群のNM、NF群ではいずれも皮質の変化に類似していた。なおN群との比較でみた場合、NM群では7日目に有意の低値を、NF群では14日目に有意の高値を示した ($p < 0.01$)。総DNA量はN群ではゆるやかに増加したが、3日目以降の値は皮質に比し低値であつた。抗癌剤投与群のNM、NF群では、いずれも皮質の変化にほぼ類似していた。なおN群との比較でみた場合、NM群では7日目に有意の低値を示した ($p < 0.01$)。

3) RNA 含量 (Fig. 3)

Fig. 3 Effects of MMC and 5-Fu on RNA contents in cortex and medulla of compensatory enlarging kidney. Vertical bars represent standard errors. ○—○ : nephrectomy (N), ●—● : nephrectomy+MMC (NM), □—□ : nephrectomy+5-Fu (NF)

皮質 RNA 濃度 (mg/g tissue) を左右比でみると, N 群では3日目より増加傾向が認められ, 5日目より比較的高値で推移したが, 有意の変化とは認められなかった. 抗癌剤投与群の NM 群では, 1日目にわずかな減少, 3日目以降は軽度の増加がみられたが, ほぼ1.0で推移した. また NF 群では1日目に 0.86 ± 0.04 と減少を示したが, 3日目以降はほぼ1.0で推移した. なお N 群と

の比較でみた場合, NF 群では1, 7日目に有意の低値を示した ($p < 0.05$). 皮質の総 RNA 量 (皮質 RNA 濃度 $\times$ 皮質重量) を左右比でみると, N 群では1日目より経時的に増加し, 14日目に 1.45 ± 0.03 と著明な増加が認められた. 抗癌剤投与群の NM, NF 群では1日目に増加は認められず, 特に NF 群では軽度の減少が認められたが, 以後両群とも10日目まで N 群の変化に類似した増

加傾向が認められた。しかし14日目にN群に比し有意の低値を示した ($p<0.01$)。

これに対して髄質における RNA 濃度は、N, NM, NF の3群ではいずれも多少の変動が認められたが、全体としてほぼ1.0で推移した。総 RNA 量はN群では3日目よりほぼ経時的に増加し、14日目に 1.44 ± 0.08 と最も顕著な増加が認められた。抗癌剤投与群の NM, NF 群では3日目より増加傾向を示し、経過中やや増加に鈍化が

みられたが、10日目にそれぞれ 1.41 ± 0.04 , 1.47 ± 0.10 と増加のピークを示し、14日目に増加率は低下した。

4) 蛋白含量 (Fig. 4)

皮質蛋白濃度 (mg/g tissue) を左右比でみると、N群では14日目まではほぼ1.0で推移した。抗癌剤投与群の NM 群では7日目にやや減少し、NF 群では1日目に 0.81 ± 0.08 と減少が認められたが、両群ともにほぼ1.0で推移した。皮質の総蛋白量 (皮質蛋白濃度×皮質重

Fig. 4 Effects of MMC and 5-Fu on protein contents in cortex and medulla of compensatory enlarging kidney. Vertical bars represent standard errors. ○—○ : nephrectomy (N), ●—● : nephrectomy+MMC (NM), □—□ : nephrectomy+5-Fu (NF)

量)を左右比でみると、N群では3日目より増加傾向を示し、14日目に 1.42 ± 0.04 で増加が最も顕著であった。抗癌剤投与群のNM群では1日目より増加傾向が認められたが、3日目より横ばい状態で推移した。またNF群では1日目に 0.83 ± 0.07 と減少し、3日目より増加に転じ、以後10日目までN群の変化に類似した推移を示し

たが、14日目にはN群に比し低値であつた。なおN群との比較でみた場合、NM群では10、14日目に有意の低値を示した(10日目 $p < 0.05$, 14日目 $p < 0.01$)。

これに対して髄質における蛋白濃度は、N, NM, NFの3群ではいずれも多少の変動は認められたが、ほぼ1.0で推移した。総蛋白量はN群では3日目より経日的

Fig. 5 Effects of MMC and 5-Fu on RNA/DNA ratio and protein/DNA ratio in cortex and medulla of compensatory enlarging kidney. Vertical bars represent standard errors. ○—○ : nephrectomy (N), ●—● : nephrectomy+MMC (NM), □—□ : nephrectomy+5-Fu (NF)

に増加し、14日目に 1.45 ± 0.04 で増加のピークが認められた。抗癌剤投与群の NM, NF 群では3日目より増加傾向を示し、経過中増加にやや鈍化がみられたが、10日目に増加のピークを示し、14日目に増加率は低下した。なおN群との比較でみた場合、NM, NF 群ではいずれも14日目に有意の低値を示した ($p < 0.05$)。

5) RNA/DNA 比および蛋白/DNA 比 (Fig. 5)

細胞1個当りの相対的 RNA 量および蛋白量をみるために、DNA 量に対する比をとって検討した。皮質の RNA/DNA 比を左右比でみると、N群では1日目より増加が認められ、3日目に若干増加率が低下したが、以後14日目までゆるやかな増加傾向が認められた。抗癌剤投与群の NM 群では3日目より増加し、7日目に 1.64 ± 0.09 と著しい増加が認められたが、その後増加率は14日目まですみやかに低下した。また NF 群では1日目に減少し、3日目より増加に転じ、10日目までゆるやかな増加傾向が認められたが、14日目に増加率は低下した。

これに対して髓質における RNA/DNA 比は、N群では皮質の変化に類似しており、1日目より増加傾向が認められ、3日目以降比較的高値で推移した。抗癌剤投与群の NM 群では7日目に 1.46 ± 0.08 で皮質の値に比し低値であったが、全体として皮質の変化に類似していた。

また NF 群では1日目にわずかに減少し、以後10日目に比較的高値を示したが、全体として14日目までゆるやかな増加傾向が認められた。

次に皮質の蛋白/DNA 比を左右比でみると、N群では RNA/DNA 比の変化に類似した推移を示したが、RNA/DNA 比の値に比し全体に低値であった。抗癌剤投与群の NM 群では3日目より軽度増加し、7日目に 1.44 ± 0.09 と著しい増加が認められ、以後増加率は比較的すみやかに低下した。また NF 群では1日目に 0.81 ± 0.05 と減少したが、3日目より増加に転じ、10日目までゆるやかな増加を示したが、14日目に増加率は低下した。

これに対して髓質における蛋白/DNA 比は、N群では1日目より増加が認められたが軽度であり、3日目以降は皮質の蛋白/DNA 比に比較し高値で推移した。抗癌剤投与群の NM, NF 群では1日目に減少が認められたが、3日目より増加に転じ、以後両群とも皮質の変化に類似していた。

6) 尿管 RNA/DNA 比および蛋白/DNA 比 (Fig. 6)

尿管細胞は分離過程で定量的回収が困難なことより、DNA に対する比で検討した。RNA/DNA 比を左右比でみると、N群では1日目よりわずかな増加を示し、

Fig. 6 Effects of MMC and 5-Fu on RNA/DNA ratio and protein/DNA ratio in tubules of compensatory enlarging kidney. Vertical bars represent standard errors. ○—○ : nephrectomy (N), ●—● : nephrectomy+MMC (NM)

5 日目に 1.15 ± 0.10 となり、以後ほぼ同値で推移した。MMC 投与の NM 群では皮質の変化に類似しており、7 日目に 1.61 ± 0.10 で増加のピークが認められ、以後増加率は低下した。なお N 群との比較でみた場合、NM 群では7、10日目に有意の高値を示した ($p < 0.05$)。次に蛋白/DNA 比を左右比でみると、N 群では5日目までわずかな増加であつたが、以後軽度の増加傾向が認められた。NM 群では1日目より増加傾向が認められ、7日目に 1.29 ± 0.07 で増加のピークを示し、以後増加率は低下した。

考 按

一側腎を摘除すると対側の残腎が肥大する現象は、以前からよく知られた事実である。腎は元来細胞回転の活発でない臓器であるといわれている^{7,9)}が、代償性肥大の際には細胞の肥大、増殖とその代謝が亢進し、細胞回転が活発になることが知られている。一方、今日使用されている抗癌剤はそのほとんどが核酸合成阻害作用を有しているために、副作用も細胞回転の活発な臓器に生じやすいことはいうまでもない。そのため腎摘除術後に抗癌剤を投与した際、残腎の代償性肥大にどのような影響をおよぼすかは、腎の手術に関与する泌尿器科医にとつて興味があると同時に、臨床的にも重要な問題である。この問題に対しラットを用いた実験により、主として核酸および蛋白量の変化を指標として検討を行つた。

腎摘除術後の観察日数は、MMC を投与した NM 群で7日目に著明な DNA 含量の減少が認められたこともあり、以後の推移をみるために14日目までとした。抗癌剤の投与量は、臨床的には MMC は1回量として数 mg のことが多く⁹⁾¹⁰⁾、また1回量 $16\text{mg}^{11)}$ 、 $1\text{mg/kg}^{12)}$ を投与する方法も報告されている。5-Fu では1回量 15mg/kg 前後を連日投与する方法¹³⁾が一般的である。本実験では MMC は 0.292mg/kg 、5-Fu は 21mg/kg と臨床投与量に近い量を用いたが、これはラットにおいて $1/10\text{LD}_{50}$ に相当する量である。なおこれらの抗癌剤投与により臨床的には副作用として食思不振がしばしば経験されている。Williams¹⁴⁾は腎摘除術後のラットに24時間の絶食をさせると、残腎の mitotic activity を遅延させると報告しているため、抗癌剤投与群のラットでは非投与群に比し手術後の食餌摂取の開始時間に遅延がないか否かを観察したが、ほとんど差異は認められなかつた。

本実験での腎重量左右比についてみると、抗癌剤非投与群の N 群では腎摘除術後1日目より経目的に増加し、14日目に実験開始時に比し約40%の増加が認められた。

従来の報告によると、それらはある程度体重差を考慮したものではあるが、ラットでは2週目で約30%の増加¹⁵⁾、マウスでは約35%の増加¹⁶⁾であり、著者の成績と類似していた。一方、抗癌剤投与群の NM、NF 群ではいずれも10日目まで N 群に類似した増加傾向が認められたが、14日目に N 群に比し低値であつた。この低値を示した一因として、実験開始時と終了時におけるラットの体重の変化が考えられないかどうかにつき検討した。実験開始時に対する終了時の体重の比をみると、14日目に N 群では約1.2であるのに比し、NM、NF 群では約1.05で低値であり、また NM、NF 群では10日目よりも14日目に低値であつた。腎重量の増加は体重の増加と関係するという報告¹⁷⁾¹⁸⁾もみられるため、実験開始時に対する終了時の体重の比の差が腎重量にある程度の影響をおよぼしたことも推定される。腎重量の増加は個体の成長にも関係するため、肥大腎重量の増加について、その点も考慮する必要がある。Webster¹⁸⁾はラットにおける腎重量は体重の増加とともに緩徐な増加傾向を示すが、体重に対する比でみると徐々に減少を示し、体重が300g 前後ではほぼ横ばいか、わずかな減少であつたと報告している。以上のことより、本実験で使用した体重300g 前後のラットにおいては、体重に対する左腎重量の比が体重差を考慮した腎重量の変化の指標となると考えられ、著者も同様の方法で検討を試みた。しかし個体差が大きいため各群での有意の変化の検討は困難であつたが、N、NM、NF の3群ではいずれも偽手術をほどこした S、SM、SF 群に比し全体的に高値の傾向であつた。

皮質および髓質重量の左右比は、N、NM、NF 群いずれにおいても腎重量左右比の推移と類似しており、髓質に対する皮質の重量比もほぼ一定であつた。重量については代償性肥大腎は皮質、髓質とも一様に増加すると解釈できよう。

さて代償性腎肥大において、hypertrophy と hyperplasia のどちらがどの程度関与しているかについては、従来より議論の多い点である。細胞1個当りの DNA 含量はほぼ一定とみなしうるため、hypertrophy があれば総 DNA 量は不変であるが、総 RNA 量、総蛋白量は当然増加すると考えられる。そのため RNA/DNA 比および蛋白/DNA 比も当然増加するが、DNA 濃度は相対的に減少する。一方、hyperplasia では細胞が増加するため、総 DNA 量、総 RNA 量、総蛋白量はいずれも増加する。しかし細胞の大きさは不変であるため、RNA/DNA 比は増加しても、蛋白/DNA 比と DNA 濃度の変化は比較的少

ないと考えられる。これらのことより抗癌剤非投与群であるN群での hypertrophy の関与については検討してみると、皮質では総 RNA 量、総蛋白量は14日目まで経日的な増加傾向が認められたのに対し、総 DNA 量の増加は著明でなく、DNA 濃度も全体として14日目まで減少傾向が認められた。また RNA 濃度は全体として軽度の増加であり、蛋白濃度はほとんど変化が認められなかった。RNA/DNA 比および蛋白/DNA 比は1日目より増加し、以後も全体として14日目まで増加傾向が認められた。髓質でもこれらの傾向に類似していた。以上より hypertrophy は皮質、髓質いずれにおいても腎摘除術後1日以内に始まり、14日目まで継続していると考えられた。

次に hyperplasia について検討してみると、皮質では総 DNA 量が3日目に急激に増加し、DNA 濃度は回復傾向が認められた。以後総 DNA 量は14日目までゆるやかな増加傾向が認められたが、DNA 濃度は腎重量の増加が大きいため、全体として減少傾向が認められた。髓質でもほぼ同様の傾向であったが、皮質に比し総 DNA 量の増加は全体として軽微であり、DNA 濃度の減少は著明であった。以上より hyperplasia は皮質においては1日目と3日目の間に強く、その後も軽度ではあるが14日目まで持続していると考えられた。髓質でも同様の傾向がみられたが皮質に比し軽度であり、岡所の報告²¹⁾とはほぼ一致していた。hyperplasia に関しては、mitotic activity は皮質、髓質とも2日目まで活発であり、特に皮質に著しいとの報告¹⁹⁾、また髓質にもかなり活発に認められたとする報告⁹⁾もみられるが、mitotic activity は皮質および髓質の outer medulla に主として認められ、inner medulla では活発でないといわれている²⁰⁾²¹⁾。また hyperplasia のおこる時期については、皮質では2日目から3日目の間に最高のピークがあり、またそれより低い7日目にもピークが認められたとの報告²²⁾、outer cortex では40時間目と8日目に、inner cortex と outer medulla では40時間目と3日目にピークが認められたとの報告²³⁾などがある。本実験では最初のピークの時期は諸家の報告とはほぼ一致していたが、それ以後は14日目まで明確なピークは認められず、hyperplasia は緩徐に持続していると考えられた。

代償性肥大は皮質においては尿細管に主としておこるとの報告が多いために、尿細管を分離してその DNA 含量、RNA 含量、蛋白含量を測定した。しかし尿細管の定量的回収が困難なために、RNA/DNA 比、蛋白/DNA

比のみで検討した。その結果、RNA/DNA 比および蛋白/DNA 比のいずれも皮質の変化に類似していた。比較的早期の5日目頃までの推移をみると、RNA/DNA 比の増加に対し、蛋白/DNA 比の増加は明白でないことより、尿細管では hypertrophy より hyperplasia の関与が主であると推定された。

以上のN群の傾向と比較しながら、抗癌剤投与群のNM、NF群について検討を加える。MMCを投与したNM群では、皮質において全体としてN群に比しDNA含量の低下は著明であるが、RNA含量、蛋白含量に著しい差は認められなかった。1日目には総DNA量およびDNA濃度はともにほとんど変化が認められず、またRNA/DNA比、蛋白/DNA比はN群に比し低値であるため、hypertrophyはN群でみられたほどまだ活発でないと考えられた。3日目でも総DNA量の増加はほとんど認められず、DNA濃度も減少しているため、N群でみられたhyperplasiaは抑制され、むしろhypertrophyが主であると考えられた。5日目にもやはり総DNA量の増加はほとんど認められないが、総RNA量、総蛋白量はいずれも増加しており、hypertrophyは継続していると考えられた。しかし7日目にはDNA含量が著しく減少し、そのためRNA/DNA比および蛋白/DNA比は著しい増加が認められた。これはhypertrophyによるためでもあろうが、MMCの作用機序を考慮すると、核のDNA崩壊による相対的上昇と考えられた。7日目以降は総RNA量は14日目を除いてN群に比し著変は認められなかったが、総蛋白量はやや低値であった。そのためRNA/DNA比に対し蛋白/DNA比も低値であり、DNA含量の回復傾向と考えあわせると、hypertrophyはもちろん継続しているが、hyperplasiaも急速に生じていると考えられた。なお髓質および尿細管でも皮質の傾向に類似していた。

MMCの作用機序についてみると、芝²³⁾は大腸菌B株を、黒田ら²⁴⁾はHeLa細胞を用いた実験で、MMCの蛋白およびRNA合成への影響は少ないが、DNA合成を強力に抑制したと報告している。細胞の形態学的変化については、KB cell (human epidermoid carcinoma)では早期に核の腫脹を来とし、最も変化の大きいものは核小体であり、その核小体のsegregationは4日目頃に完成するとの報告²⁵⁾、細胞核を崩壊させてDNAを低分子化させるとの報告²⁶⁾などがみられる。分子レベルではMMCはDNA2本鎖の間にcross linkageを来とし、DNA複製時にプライマーとしての働きを阻害するとい

われている²⁷⁾。これらのことより MMC は主として DNA 合成阻害作用を有し、代償性腎肥大における細胞の hypertrophy への影響は少ないが、3日目までにみられる hyperplasia を抑制し、更に細胞の核の崩壊により DNA 含量が7日目に著しい低下を示すものと考えられた。本実験において MMC を偽手術群に投与した SM 群では、偽手術のみの S 群と比較して、著明な変化は認められないが、腎摘除術後に投与した場合には、代償性肥大の生じている残腎に与える影響は比較的大きいと考えられる。このことは DNA 合成阻害作用を有する抗癌剤は一般に分裂、増殖のさかんな細胞に対してより cytotoxic であることとよく一致する。また今回は比較的低濃度の MMC を投与したために、hypertrophy への影響は少なく、更に7日目以後に hyperplasia による回復がおこつたものと考えられた。本実験での結果をそのままに於てはめることは問題であるが、腎摘除術後に MMC を投与する場合、hyperplasia の強い時期に大量を投与すると、回復不能な細胞障害がおこることが予想されるので、hyperplasia の強い時期には避けた方が望ましいと考えられた。Janicki ら²⁸⁾は、DNA 合成阻害剤である hydroxyurea は代償性肥大腎の DNA 合成に抑制作用を示したが、RNA 量、蛋白量への影響は認められなかつたと本実験に類似した報告をしている。

MMC による腎障害については臨床的にも教多くの報告があり、成因に関する研究も多いが、詳細についてはいまだ意見の一致がみられていない。糸球体の核の変化が腎障害の原因であると強調する報告¹²⁾もみられるが、本実験の結果より、ほとんどすべての腎細胞において障害がおこると考えられた。なお藤田ら²⁹⁾は、MMC の静注後には、血中濃度はすみやかに上昇した後に対数的に減少していくのに対し、尿中濃度は一桁高値を示し、注射後30～120分で最高値に達し、尿中排泄量は投与後4時間までは注入薬剤量の10%以内で多くなかつたが、モルモットでは組織内濃度は腎で最も高かつたと報告しており、MMC の腎への影響については注意を払う必要がある。

次に 5-Fu 投与群の NF 群についてみると、皮質、髓質ともに1日目には総 DNA 量および DNA 濃度はほとんど変化が認められないが、RNA 含量および蛋白含量は N 群に比し、特に皮質において著しい減少が認められた。そのため RNA/DNA 比と蛋白/DNA 比も特に皮質において著しい減少が認められた。このことより N 群でみられた1日目の hypertrophy は、特に皮質において強く

抑制されていると考えられた。3日目でも総 DNA 量の増加はほとんど認められず、DNA 濃度も減少していた。一方、RNA 含量および蛋白含量は N 群と比較して著しい差が認められないことより、hypertrophy が主であると考えられた。5日目には DNA 濃度に軽度の回復傾向が認められたが、総 DNA 量の増加はわずかであるために、hyperplasia の関与は乏しいと考えられた。5日以降も総 RNA 量および総蛋白量は増加傾向が認められたが、14日目には N 群に比し低値であつた。RNA/DNA 比および蛋白/DNA 比も14日目に特に皮質において増加率が軽度であるため、hypertrophy は5日目以降も継続しているが、14日目には皮質においては著明でないと推定された。なお総 DNA 量は7日目以降ゆるやかな増加傾向が認められ、DNA 濃度も全体として回復傾向が認められたことより、hyperplasia も生じていると考えられた。

5-Fu は pyrimidine 代謝拮抗性の抗癌剤であり、それは deoxyuridine monophosphate より thymidine monophosphate への変換に関与する thymidilate synthetase をブロックするために、DNA 合成を阻害するといわれている。また fluorouridine monophosphate が uridine monophosphate と競合して F-RNA となるために、RNA 合成および蛋白合成をも阻害するといわれている^{30) 31) 32)}。これらのことより 5-Fu は DNA、RNA および蛋白合成のいずれをも阻害し、代償性腎肥大に対しては1日目までの hypertrophy の強い抑制と3日目までの hyperplasia の抑制が認められたが、以後の影響は少ないと考えられた。藤本ら³³⁾は 5-Fu は肝での異化が非常に早く、投与30分後には投与量の85%が抗癌作用を失つていたと報告しており、また 5-Fu は time dependent な薬剤であるため、臨床的には連日投与が一般的である。本実験では1回投与したのみであるが、hypertrophy および hyperplasia に対する影響が認められた。MMC の場合と異なり、5-Fu は DNA の崩壊を伴わないが、腎摘除術後に投与する場合には、残腎への影響を少なくするために、hypertrophy および hyperplasia の活発な時期を避けた方が望ましいと考えられる。動物実験の成績がそのまま臨床に於てはまるかどうかの問題があり、人においては代償性腎肥大の詳しい経過は不明であり、また悪性腫瘍という重大な疾患に対する問題などを考慮すると、投与時期についてはさらに検討すべき面が残されていると考えられる。

MMC あるいは 5-Fu 以外の抗癌剤、たとえば mithr-

amycin, actinomycin D, cycloheximide の代償性腎肥大におよぼす影響を検討した報告³⁴⁾³⁵⁾によると、核酸量、蛋白量、腎重量などになんらかの影響をおよぼしている場合が多い。このことは必ずしも腎機能の低下に直接結びつくわけではないが、腎機能の低下を認めたとの報告³⁵⁾もある。臨床的には抗癌剤と術後感染予防のための抗生剤の併用などの問題があり、更に複雑な生体内機序も予想されるので、腎摘除術後早期の抗癌剤投与に際しては、投与量、投与時期などに関して十分な配慮が必要であると考えられる。

結 語

ウィスター系雄性ラットを用いて、代償性腎肥大におよぼす MMC あるいは 5-Fu の影響を、腎摘除術後 1～14日に核酸量および蛋白量の変化を指標として検討し、次の結論を得た。

1) 腎重量、皮質および髓質重量は、腎摘除術のみの群では14日目まで経時的な増加傾向が認められた。抗癌剤投与群でも10日目まではほぼ同様の傾向が認められたが、14日目には腎摘除術のみの群に比し低値であつた。

2) 腎摘除術のみの群では、皮質、髓質ともに残腎の hypertrophy は1日以内に始まり、14日目までに継続していた。一方、hyperplasia は皮質では1日目と3日目の間に強く、その後も軽度ではあるが14日目まで持続しており、髓質でも同様の傾向であつたが、皮質に比し軽度であつた。

3) MMC 投与群では、代償性肥大腎の皮質および髓質において、hypertrophy への影響は少なかつたが、hyperplasia に対する抑制は強く、7日目には細胞の核の崩壊によると考えられる DNA 含量の著しい低下が認められた。その後は急速な回復傾向が認められた。

4) 5-Fu 投与群では、皮質および髓質において、1日目までの hypertrophy の強い抑制と3日目までの hyperplasia の軽度の抑制が認められたが、その後の影響は少なかつた。

5) 尿細管では腎摘除術のみの群、MMC 投与群ともに、皮質の傾向に類似していた。

6) 腎摘除術後早期の抗癌剤使用に際しては、残腎機能に対する十分な配慮が必要であると考えられた。

稿を終わるにあたり、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜った恩師黒田恭一教授に深甚なる感謝の意を表します。直接御指導を頂いた大川光央講師に深謝します。本研究に御協力頂いた腎研究班の諸兄、教室員各位ならびに田中耕一文部技官の御厚意に感謝します。また、生化学

的操作および化学的測定について御指導、御助言を頂いた本学生化学教室久野滋教授に謝意を表します。

本論文の要旨は第23回日本腎臓学会総会(東京, 1980)において発表した。

文 献

- 1) 岡所 明: 実験的代償性肥大腎の生化学的研究. 日泌尿会誌, **71**, 1398—1410, 1980.
- 2) Helwig, J.J., Zachary, D. and Bollack, C. with the technical assistance of Krill, J.M.: Isolation of glomeruli and tubular fragments from rabbit kidney. Urol. Res., **2**, 55—59, 1974.
- 3) Ahn, H.S. and Strausser, H.R.: Isolation of viable rat kidney tubules. Life Sci., **10**, 223—232, 1971.
- 4) Burton, K.: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J., **62**, 315—323, 1956.
- 5) Schneider, W.C.: Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. in Methods in enzymology, Colowick, S.P. and Kaplan, N.O., Vol. III, p. 680, Academic Press Inc., New York, 1957.
- 6) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., **193**, 265—275, 1951.
- 7) Goss, R.J. and Rankin, M.: Physiological factors affecting compensatory renal hyperplasia in the rat. J. Exp. Zool., **145**, 209—216, 1960.
- 8) Sulkin, N.M.: Cytologic studies of the remaining kidney following unilateral nephrectomy in the rat. Anat. Rec., **105**, 95—107, 1949.
- 9) 黒川利雄, 海藤 勇: 癌化学療法の見況と将来. 治療, **42**, 194—210, 1960.
- 10) 島田信勝, 石井良治: 制癌剤と白血球減少. Chemotherapy, **10**, 1—14, 1962.
- 11) 松永藤雄, 山口 保, 梶原 実, 徳岡潤三, 石田 実, 黒滝良宏, 鈴木竹一, 田村克美, 下山孝, 鈴木啓充, 花田雅寧, 三川 清: 内科領域における抗腫瘍剤の衝撃療法, 特に Mitomycin C による大量間歇投与法について. 癌の臨床, **9**, 640—648, 1963.
- 12) Liu, K., Mittelman, A., Sproul, E.E. and Elias, E.G.: Renal toxicity in man treated with mitomycin C. Cancer, **28**, 1314—1320, 1971.
- 13) 斎藤達雄, 横山正和: 各種抗癌剤の作用機序と抗癌スペクトル. 日本臨床, **33**, 1768—1793, 1975.
- 14) Williams, G.E.G.: Studies on the control of compensatory hyperplasia of the kidney in the

- rat. Lab. Invest., **11**, 1295—1302, 1962.
- 15) Tomashefsky, P. and Tannenbaum, M.: Macromolecular metabolism in renal compensatory hypertrophy. I. Protein synthesis. Lab. Invest., **21**, 358—364, 1969.
 - 16) 川原信義: 代償性腎肥大に関する実験的研究. 信州医誌, **23**, 277—292, 1975.
 - 17) MacKay, L.L. and MacKay, E.M.: Factors which determine renal weight. II. Age. Am. J. Physiol., **83**, 191—195, 1927.
 - 18) Webster, S.H., Liljgren, E.J. and Zimmer, D.J.: Organ: body weight ratios for liver, kidneys and spleen of laboratory animals. I. Arabino rat. Am. J. Anat., **81**, 477—513, 1947.
 - 19) Rollason, H.D.: Compensatory hypertrophy of the kidney of the young rat with special emphasis on the role of cellular hyperplasia. Anat. Rec., **104**, 263—285, 1949.
 - 20) 梅田 隆, 小磯謙吉: 代償性腎肥大. 腎と透析, **4**, 13—19, 1978.
 - 21) Williams, G.E.G.: Some aspects of compensatory hyperplasia of the kidney. Brit. J. Exp. Path., **41**, 386—396, 1961.
 - 22) Bury, H.P.R., Crane, W.A.J., Path, M.C. and Dutta, L.P.: Cell proliferation in compensatory renal growth. Brit. J. Urol., **37**, 201—210, 1965.
 - 23) 芝 茂: マイトマイシンの作用機序. 最新医学, **14**, 1—7, 1959.
 - 24) Kuroda, Y. and Furuyama, J.: Physiological and biochemical studies of effects of mitomycin C on strain HeLa cells in cell culture. Cancer Res., **23**, 682—687, 1963.
 - 25) Lapis, K. and Bernhard, W.: The effect of mitomycin C on the nucleolar fine structure of KB cells in cell culture. Cancer Res., **25**, 628—645, 1965.
 - 26) Shatkin, A.J., Reich, E., Franklin, R.M. and Tatum, E.L.: Effect of mitomycin C on mamalian cells in culture. Biochim. Biophys. Acta, **55**, 277—289, 1962.
 - 27) Iyer, V.N. and Szybalski, W.: A molecular mechanism of mitomycin action: Linking of complementary DNA strands. Proc. N. Acad. Sci., **50**, 355—362, 1963.
 - 28) Janicki, R. and Lingis, J.: Unabated renal hypertrophy in uninephrectomized rats treated with hydroxyurea. Am. J. Physiol., **219**, 1188—1191, 1970.
 - 29) 藤田 浩, 木村禧代二: Mitomycin C の血中組織内濃度. 癌の臨床, 別冊癌, 化学療法, 80—85, 1966, 医歯薬出版.
 - 30) Danneberg, P.B., Montag, B.J. and Heidelberger, C.: Studies on fluorinated pyrimidines. IV. Effects on nucleic acid metabolism in vivo. Cancer Res., **18**, 329—334, 1958.
 - 31) Bosch, L., Harbers, E. and Heidelberger, C.: Studies on fluorinated pyrimidines. V. Effects on nucleic acid metabolism in vitro. Cancer Res., **18**, 335—343, 1958.
 - 32) Heidelberger, C. and Ansfield, F.J.: Experimental and clinical use of fluorinated pyrimidines in cancer chemotherapy. Cancer Res., **23**, 1226—1243, 1963.
 - 33) 藤本 茂, 赤尾建夫, 腰塚 格, 伊藤文二, 小谷野勝治, 橘川征夫, 高橋 誠, 南 智仁, 石神博昭, 宮崎 勝, 伊藤健次郎: 5-fluorouracil の経口投与に関する検討. 癌の臨床, **22**, 28—31, 1976.
 - 34) Resnick, M.I., Albert, D.J. and Persky, L.: Inhibition of compensatory renal hypertrophy with mithramycin. J. Urol., **108**, 194—196, 1972.
 - 35) Northrup, T.E. and Malvin, R.L.: Cellular hypertrophy and renal function during compensatory renal growth. Am. J. Physiol., **231**, 1191—1195, 1976.

(1981年3月14日受付, 特別掲載)