

氏 名 くま 熊 ざか 坂 てつ 鉄 るう 郎

授 与 学 位 医 学 博 士

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 4 0 年 3 月 5 日

学 位 授 与 の 根 拠 法 規 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項

最 終 学 歴 昭 和 3 1 年 3 月 岩 手 医 科 大 学 卒 業

学 位 論 文 題 目 制 癌 性 抗 生 物 質 の 動 物 細 胞 な ら び に 体 液 と の
試 験 管 内 接 触 に よ る 不 活 化 に つ い て

論 文 審 査 委 員 東 北 大 学 教 授 石 田 名 香 雄

東 北 大 学 教 授 佐 藤 春 郎

東 北 大 学 教 授 山 根 績

論 文 内 容 要 旨

制癌性抗生物質の吸収、排泄及び体内濃度に関し、一般に1) 投与後の血中濃度の低下が抗菌性抗生物質に較べて比較的速かであり、2) 各種動物細胞との接触でその活性減衰が大きい、と云う2つの特徴があげられる。例えばAyamycin₂の経験で、Ehrlich 腹水癌担癌マウスに腹腔内投与を行う時は、癌細胞のみの特異的な消失が短時間でみられるが、静脈内投与は全く無効で、その体内濃度を測定すると直後に於て既に体液中に活性が認められない。著者は、この様な *in vitro* に於ける現象が、制癌性抗生物質に或る程度普遍的なものではないかと考えた。しかし基礎実験の結果、トリチウム標識化合物を用いる様な実験を行わぬ限り正確な体内分布がわからぬので、動物実験を一先ず控え、数種の制癌性抗生物質と動物細胞ならびに体液を試験管内であわせ、各物質の抗菌活性の減少を経時的に追求する事により、夫々の物質の不活化特性を明かにしようと考えた。測定にあつては、各制癌剤共にその抗菌阻止力で最小阻止濃度の32倍に限定した。実験材料はPenicillin G K塩、Chloramphenicol、Mitomycin C、Actinomycin D、Chromomycin A₃、Ayamycin A₂で、これ等とマウス肝ホモジエネート5倍稀釈液、エールリツヒ癌細胞 $1\sim 5 \times 10^8$ /ml浮遊液、10%家兎赤血球浮遊液を用いた。実験に先立ち、被検抗生物質に対する各種細菌の感受性を検定した結果、1) 菌接種量が可及的に一定であり、2) 阻止円周辺が鮮かな映像を示す事から、*Bacillus subtilis* PCI 588を主たる被検菌としてPulp disc法で検定した。この際温度、時間及び各種組織、体液の各抗生物質の活性に対する影響を吟味し、その全く影響を認めぬ事を確めた上で、先ず肝ホモジエネート及び癌細胞と、各物質を試験管内で接触せしめ、37°Cで接触直後から経時的に追求した所、Ayamycin、Chromomycin、Actinomycin の様に接触直後ですでに活性の減衰するものと、Mitomycinの様に接触直後で活性を高く保ちその後著明に減衰するものと2群に分れ、しかもこれらの活性減衰は時間の経過に従い直線的であつた。Penicillin 及びChloramphenicolでは永く活性を保つ。赤血球及び血漿では、残存活性の低かつたAyamycinを除けば、他の有形組織に於けるが如く著明ではない。以上の結果から、(1)接触直後の活性減少と(2)爾後の経時的なそれとは明かに異つた2つのメカニズムによると推論した。此の2つの異なると思われる過程を仮りに(1)第1段階、(2)第2段階と称し、温度や時間及び細胞ないし抗生物質濃度を細かく規制して両者の本質的な相違を観察した。即ち、4°Cの条件下で同様方法で各物質の活性変動を追跡した所、肝ホモジエネート、癌細胞に於て、

第1段階は37°Cに於ける第1段階とほぼ同様な成績を認めたと、以後の第2段階ではそのまま活性を維持する事から、第1段階の変化を第2段階より区別した。この第1段階を解析する意味で癌細胞浮遊液を倍数稀釈し、Penicillin, Mitomycin及びActinomycinを4°Cで接触せしめた所、前2者は活性の変動が殆どなかつたが、Actinomycinでは細胞濃度に比例して活性の減少が認められ、第1段階に於ける活性減少は細胞濃度に依存する事から、この反応は吸着によるものだろうと考えた。よつてActinomycin, Chromomycinの倍数稀釈液と一定数の癌細胞を4°Cで10分間接触せしめた所、両物質とも各濃度に於ける不活化度は濃度の低い程著明で、且つFreundlichの吸着等温式を満足する。即ち第1段階に於ける活性の減衰は吸着反応による不活化と判断した。第1段階の変化が認められなかつたMitomycin及びPenicillinは、濃度を低下させても共に活性の減衰は認められなかつた。一方第2段階の不活化を追求する目的で、温度依存性を4°Cと37°Cの組替えによつてActinomycinを用いて観察した所、第1段階で吸着現象がおこり、更に続く4°Cではそのままの活性を維持するが、30分後及び他方吸着後の37°C条件に於ける活性低下とも、その $\tan \theta$ が一致することから、第2段階の不活化現象は酵素反応によるものだろうと推測された。以上の実験は、制癌性抗生物質の吸収・排泄の問題を動物レベルで観察する以前の問題として、不活化傾向の強い制癌物質群をsystemicに用いる事の可否について、尙検討する必要があると考えて行つた事を付記する。その結果に対しても当然基質の差が問題となるが、肝ホモジネート・癌細胞共に全くその差が認められず一驚に値する類似の結果を得た。しかも夫々の物質に特有な不活化曲線が得られ、此等は接触直後に低温でも起り、Ayamycin, Chromomycinに強くみられ、次いでActinomycinが続き、Penicillin及びMitomycinでは変化がみられぬ。即ち低温でも進行し、短時間で平衡に達し、加えた細胞数に量論的に従い、Freundlichの吸着等温式が適用される。他方経時的反応は一定の温度を必要とし、且つその不活化度は時間と直線関係にあつて触媒作用が推論される。ここで実験に供した各物質の動物体内に於ける制癌性の特性をみると、全物質とも腹水型腫瘍に対し腹腔内投与で効果を示すが、皮下固型癌にはMitomycinのみ有効で、他の3つは無効である。これを本実験の結果と比較すると、皮下固型癌に無効なActinomycin, Chromomycin, Ayamycinが、著明な吸着現象を起すことが認められる。即ち投与された物質が皮下固型癌に到達する迄に、これらの可成りの量が無差別的に正常組織に吸着され、有効量が目的の癌細胞に到達しない可能性が考えられる。この事は第2段階の不活化過程に於ては、Mitomycinと他の物質群との間に大差を認め難い事によつても支持される。以上の実験結果は、今後制癌剤を求めて行く上で考慮するべきであると考えられる。

審査結果の要旨

制癌性抗生物質の内、臨床的に使用されているものは比較的血中濃度を保ち易いが、それでも猶一般の抗菌性抗生物質にくらべ血中濃度の低下がすみやかであり、又抗菌性抗生物質とちがつて各種動物細胞との接触によりその活性の低下が著しい。著者はMitomycin C, Actinomycin D, Chromomycin A₃, Ayamycin A₂という4種の制癌性抗生物質をえらび、マウス肝ホモジエネート、エールリツヒ癌細胞浮遊液、家兔赤血球浮遊液の三者と各々試験管内で温度をかえて接触させ、各物質の不活化曲線を抗菌力検定を指標として追求し、かかる制癌性抗生物質の体内に於ける不活化の機序を解析しようと試みた。

その結果、何れの物質にも第一段階に温度に依存しない吸着に基く不活化があり、第二段階に温度依存性の酵素反応に基く不活化の存在することを指摘した。ただし基質別にみた場合、肝と癌細胞間に吸着の差異は認められず、赤血球は吸着がよわい。又Ayamycin, Chromomycinの如く血中濃度の上昇が悪く、実験腫瘍でも局所的な効果を主として示す物質は第一段階に於ける吸着による不活化が激しいこと、又Mitomycin Cはこの第一段階の不活化は甚だしく全身に於ける分布は肯定できるが第二段階に於て例えば肝ホモジエネートとの接触により酵素的な不活化が起ることなどが明かにされた。

以上の実験成績は今後制癌性抗生物質の体内分布、吸収、排泄を論ずるにあたり基本的に理解しておくべき不活化の機序と解析方法を啓示したものととして学位に値するものと認める。