

実験的腎腫瘍の治療に関する研究

第2報：Mitomycin C, 5-Fluorouracil および Endoxan
の実験的腎腫瘍への影響について

奈良県立医科大学泌尿器科学教室（主任：石川昌義教授）

林 威三雄

吉 田 宏二郎

奈良県立医科大学第一病理学教室（主任：北村 旦教授）

日 浅 義 雄

玉 井 あつ子

伊 藤 信 行

STUDIES ON THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL RENAL
TUMORS INDUCED BY DIMETHYLNITROSAMINEII THE EFFECTS OF CANCER CHEMOTHERAPEUTIC DRUGS, SUCH
AS MITOMYCIN C, 5-FLUOROURACIL AND ENDOXAN ON
EXPERIMENTALLY INDUCED RENAL TUMORS

Isao HAYASHI and Kohjiro YOSHIDA

*From the Department of Urology, Nara Medical University**(Chairman : Prof. M. Ishikawa, M. D.)*

Yoshio HIASA, Atsuko TAMAI and Nobuyuki ITō

*From the 1st Department of Pathology, Nara Medical University**(Chairman : Prof. H. Kitamura, M. D.)*

The effects of various cancer chemotherapeutic drugs, such as mitomycin C (MMC), 5-fluorouracil (5-FU) and endoxan on rat kidney tumor induced by feeding dimethylnitrosamine (DMN) were studied. Endoxan injected intraperitoneally showed relative inhibitory effects on the DMN-induced kidney tumors. Histologically, necrotic and edematous changes were found in the kidney tumor tissue in endoxan-treated rats. No inhibitory effects were observed in the groups treated with other drugs.

はじめに

われわれは dimethylnitrosamine (DMN) を経口的に大量短期投与することにより、能率的かつ選択的にラットに腎腫瘍を作りうることを報告した。これらの研究から得られた実験成績を応用し、ヒトの腎腫瘍の治療法改善への足がかりを得ることを目的として、治療法に関する

基礎的研究を行なっている。すでに第1報¹⁾において、diethylstilbestrol (DES) と α -naphthyl-isothiocyanate (ANI) および 3-methyl-choleanthrene (3-MC) のこれら腎腫瘍に対する影響を観察し、DES と ANI により腫瘍発生が抑制される興味ある結果について報告した。その際、mitomycin C および 5-fluorouracil の成績

も一部発表した，これら抗腫瘍剤については endoxan を含めて新しい実験を進めていたので，その成績についての考察は行なわなかった。

今回はいわゆる抗癌剤にまとをしぼって，これらのうちから mitomycin C, 5-fluorouracil および endoxan をえらび，ラット腎腫瘍の発生に対する影響を検討した。

実験材料ならびに実験方法

動物はすべて Wistar 系雌性ラットで，体重150g から170g 前後のものをを用い，次の8の実験群を作成した。

第1群：500ppm dimethylnitrosamine (DMN, 東京化成) 添加食餌を2週間に限って投与し，以後はわれわれが通常用いている合成基礎食のみを与え，実験開始8週目すなわち DMN 投与後6週目より，mitomycin C (MMC, 協和醗酵) を週1回，体重kg 当り 500 μ g を腹腔内に連続6週間投与した。

第2群：DMN 添加食餌を投与せず，実験開始より終了まで基礎食のみで飼育し，8週目より第1群と同

様に MMC を週1回連続6週間投与した。

第3群：500ppm DMN 添加食餌を2週間投与後6週目より，5-fluorouracil (5-FU, 協和醗酵) を体重kg 当り 30mg を連続6週間，週1回腹腔内に投与した。

第4群：合成基礎食のみで飼育し，8週目より第3群と同様，5-FU を投与した。

第5群：500ppm DMN 添加食餌を2週間投与後，6週目より endoxan (シオノギ製薬) を週1回，体重kg 当り 30mg を連続6週間腹腔内に投与した。

第6群：合成基礎食のみで飼育し，第5群と同様に endoxan を投与した。

第7群：腫瘍発生を目的とした群で，500ppm DMN 添加食餌を2週間投与し，以後は合成基礎食のみで飼育した。

第8群：合成基礎食のみで飼育し，全く何の処置も行わない対照群である。

以上各群の動物を 24°C に保たれた飼育室で平均32週間飼育し，その後屠殺し，腎を中心に各臓器の腫瘍の発生頻度をしらべ，各組織は固定後，各種染色を行ない，組織像への影響を病理組織学的に検査した。これら実験方法の要約は Fig. 1 のとおりである。

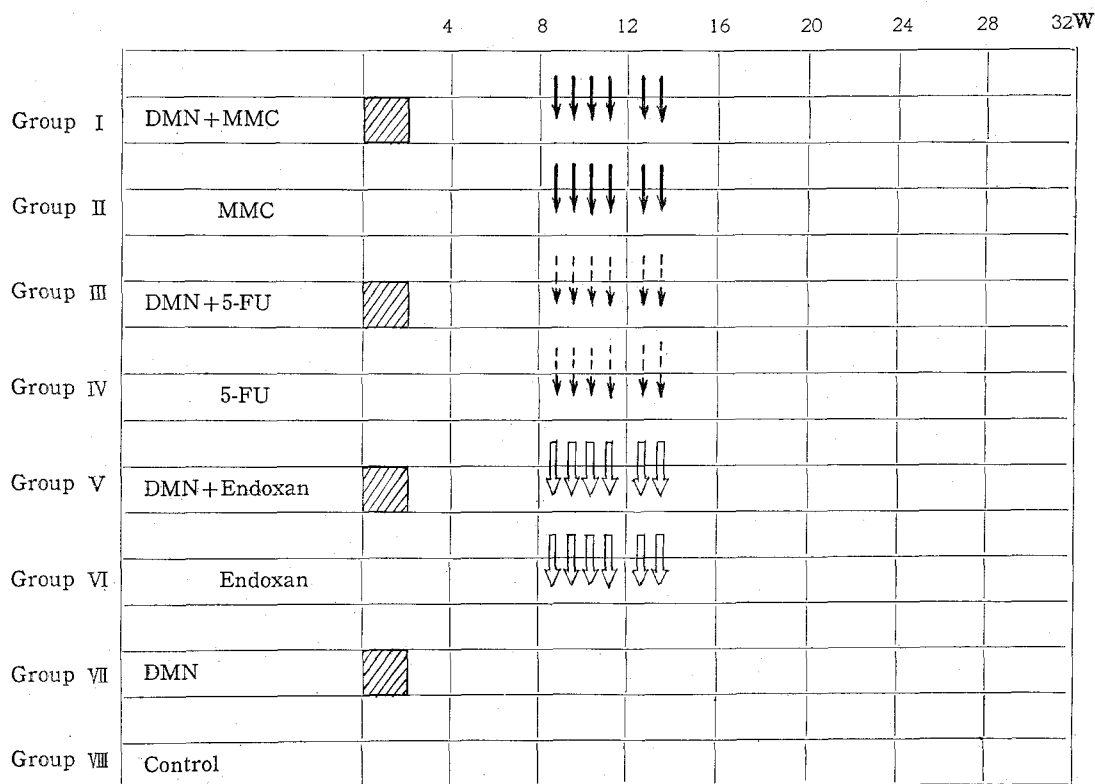


Fig. 1. Experimental Design for Anti-kidney Tumor Agents in Rats

実験成績

1. 体重および腎重量の変化

各群の動物数、飼育期間、実験開始および終了時の平均体重ならびに屠殺時の左右腎の平均重量を Table

1 に一括表示した。DMN を投与した群の中で、DMN 単独投与群と MMC 投与群に 体重増加の抑制とともに、腎重量の増加が認められた。この腎重量の増加は腫瘍発生が多いことを示唆する。飼育期間は30週から34週であった。

Table 1. Changes in the Body & Kidney Weight in Experimental Rats

Group*	No. of Rats	Duration Av. of Weeks	Body Weight		Kidney Weight			
			Initial	Final	Left %/B.W.	Right %/B.W.	Left %/B.W.	Right %/B.W.
I DMN+MMC	9	30.3±3.3	170.7	382.7	1.91	0.5	1.90	0.5
II MMC	9	30.3±3.3	146.7	432.0	1.51	0.3	1.36	0.3
III DMN+5-FU	9	32.0±0.0	164.2	472.8	1.65	0.4	1.61	0.3
IV 5-FU	10	32.0±0.0	150.0	551.0	1.74	0.3	1.69	0.3
V DMN+Endoxan	11	32.0±0.0	173.0	446.0	1.32	0.3	1.35	0.3
VI Endoxan	6	32.0±0.0	168.1	493.4	1.32	0.3	1.41	0.3
VII DMN	16	34.2±0.0	170.1	397.0	1.78	0.4	1.51	0.4
VIII Control	6	34.0±0.0	165.6	419.3	1.21	0.3	1.18	0.3

* DMN : dimethylnitrosamine ; MMC : mitomycin C ; 5-FU : 5-fluorouracil

2. 腎腫瘍の発生

腎腫瘍の発生は第1群6/9(66.7%),第3群5/9(55.6%),第5群4/11(36.4%),第7群12/16(75.0%)といずれも DMN 投与群にみられ、DMN を与えない2, 4, 6, 8 の各群には全く認められなかった。腫瘍を発生させる目的で 500ppm DMN 含有食餌を2週間投与した場合には12/16(75%)に腫瘍がみられた。これらの腫瘍は通常1側腎にみられるが、ときには両側腎にもみられることがある。この場合には1側は大きくても、他側は小さいのが通常である。これに対して、

MMC, 5-FU および endoxan を投与した場合には各群によりかなり発生率に差がみられた。MMC 投与群では6/9(66.7%)でDMN 単独投与群との間に大きな差はなかった。また5-FU 投与群も5/9(55.6%)とかなり高率に腫瘍の発生がみられた。これに対して endoxan 投与群においては4/11(36.4%)と腫瘍の発生はかなり抑制されていた。発生した腎腫瘍の大きさも MMC 投与群や5-FU 投与群にくらべて、endoxan 投与群のほうが小さい傾向にあった。

Table 2. Histopathological Findings of Rat Kidney treated with Dimethylnitrosamine, Mitomycin C, 5-Fluorouracil and Endoxan.

Group		Tubular Ep. Cell Proliferation	Anaplastic Cell Infiltration	Renal Cell type Tumor	Embryonal Cell type Tumor	Kidney Tumor Incidence %	
I	DMN+MMC	+	+	+	+	6/9	66.7
II	MMC	-	-	-	-	0/9	0.0
III	DMN+5-FU	+	+	-	+	5/9	55.6
IV	5-FU	-	-	-	-	0/10	0.0
V	DMN+Endoxan	±	±	+	+	4/11	36.4
VI	Endoxan	-	-	-	-	0/6	0.0
VII	DMN	+	+	+	++	12/16	75.0
VIII	Control	-	-	-	-	0/6	0.0

3. 腎腫瘍の組織像

DMN 投与により発生する腎腫瘍についてはすでに発表しているように、われわれはこれを2型に大別している。すなわちひとつは尿管上皮細胞より発生し

たとえられる腎細胞型腫瘍(renal cell type tumor, Fig. 2)で、他のひとつは間質組織より発生したと思われ、従来われわれが未分化細胞型腫瘍(anaplastic cell type tumor)と呼んでいたものであるが、その

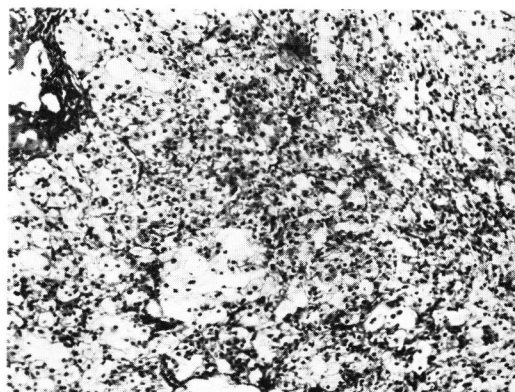


Fig. 2 対照群の DMN により発生した腎細胞型腫瘍 (renal cell-type tumor).

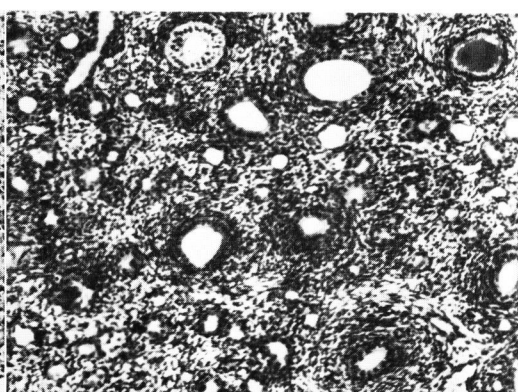


Fig. 3 対照群の DMN により発生した胎児性細胞型腫瘍 (embryonal cell-type tumor).

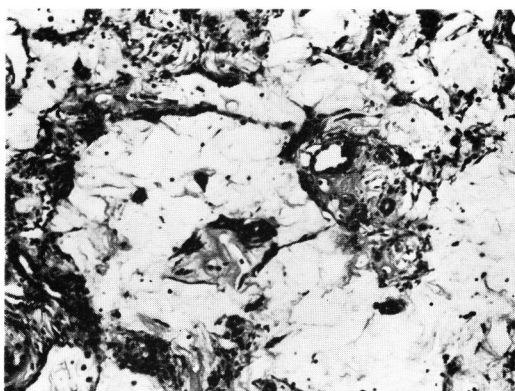


Fig. 4 endoxan 投与群においてみられる腫瘍の間質部の壊死と浮腫の著明な部分を示す.

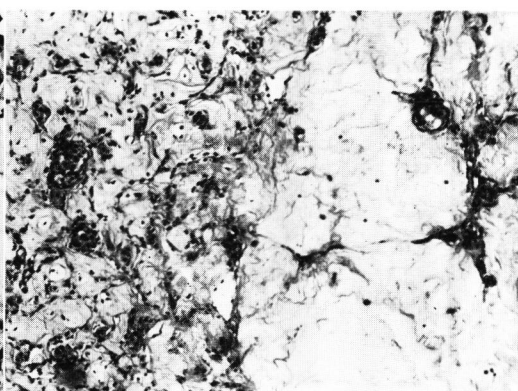


Fig. 5 Fig. 4 と同じ腫瘍で、腫瘍細胞の発育がはっきりとみられる部分を示す.

組織発生観点から embryonal cell type tumor (Fig. 3) と呼んだほうがよいと考えているものである。また腫瘍には至っていないが、腫瘍の初期変化と考えられる変化に、前者では尿細管上皮細胞の乳頭状増殖や、後者では円形あるいは類円形の未分化細胞の間質への浸潤がある。

要するに DMN の投与により、これらの初期変化とともに、両型の腫瘍が発生してくるが、その発生頻度は embryonal cell type tumor のほうがはるかに高い。

DMN を与えた後、MMC を投与した場合には両型の腫瘍とともに、尿細管上皮細胞の乳頭状発育や未分化細胞の間質への浸潤像も明らかにみとめられた。5-FU 投与群においては腫瘍の発生は embryonal cell type tumor のみであったが、前癌変化としては尿細管上皮細胞の乳頭状増殖もみとめられた。endoxan 投与群においては両型の腫瘍がみられたが、その発生率は少なかった。また前癌変化については尿細管上皮細胞の乳頭状増殖や、未分化細胞の間質への浸潤像は、

MMC 投与群や 5-FU 投与群にくらべて、わずかにみとめられるのみであった。しかしながら、endoxan 投与群においては、腫瘍の間質の部分に強い壊死と浮腫の部分が明らかにみとめられ (Fig. 4)、この部分では腫瘍細胞の増生の像は著明ではない (Fig. 5)。一方 DMN を投与しないで、MMC、5-FU、endoxan を投与した場合の腎の組織学的変化については、特にあきらかな変化はみとめられず、第 8 群の対照群の組織像とはほぼ同一で、腫瘍の発生は全く認められなかった。

考 按

われわれは従来より主として DMN の大量短期投与により効率的にラットに実験的腎腫瘍を作り、これに対して組織学的、組織化学的あるいは電顕的研究など種々の基礎的研究を行ってきた²⁻⁵⁾。このような実験的腎腫瘍の研究は膀胱腫瘍の研究にくらべて少なく、また新しい研究題目であり、特に治療法に関連した研究はほとんどみられない、

われわれは泌尿器科臨床の立場から、これら実験的腎腫瘍の研究から得られた基礎的結果を応用して、ヒトの腎腫瘍の化学療法に何らかの改善をもたらすようなデータを得ることを目的として研究を続けている。すでに第1報¹⁾において実験的肝癌に対して抑制効果のあることが知られている 3-methylcholanthrene (3-MC) と α -naphthyl-isothiocyanate (ANI) およびハムスターの腎腫瘍発生物質として報告されている diethylstilbestrol (DES) を投与した結果について報告し、ANI と DES により腫瘍の発生が完全に抑制される事実について報告し、特に DES による特異的な組織学的変化に興味ある所見として述べた。その際、MMC と 5-FU について一部の成績を発表したが、動物数も少なく、あらためて実験を進めていたので、その成績については検討を加えなかった。

今回はすでに抗悪性腫瘍剤として知られている MMC と 5-FU に endoxan を加え投与した成績についてしらべた。これらの薬剤はいずれも多く悪性腫瘍にそれぞれ特異な効果のあることが知られ、臨床的应用はもちろん、多数の動物実験による基礎的研究もある。しかしその大部分は移植腫瘍に対する使用で、本実験のように DMN 腎腫瘍発生に対する影響についてしらべた研究は見当たらない。われわれが DMN 腎腫瘍の化学療法をさらに検討して行くうちに、これら薬剤の影響をしらべておくことも必要と考えた。あらかじめある程度の抑制効果のあることが予測されたが、その結果は薬剤によりほとんど効果のみとめられないものもあったし、また前回の結果と今回の結果とではかなり差があるものもあった。以下これらの点について 2, 3 考察を加えてみる。

1. 抗悪性腫瘍剤の投与方法と投与量について

今回用いた薬剤はヒトにおいては、いずれも静脈内注射が原則的な投与方法であるが、われわれは腹腔内投与方法をえらんだ。これはラットにおいては腹腔内投与がもっとも簡便で、安全な方法であるからである。

1 回投与量とその投与間隔はまた化学療法上大切な問題である。临床上 MMC は大量間歇投与がもっとも有効な方法と考えられているが、

5-FU や endoxan については連日静注法が行なわれている。今回のわれわれの実験においては、MMC の大量間歇投与方法を基本としてできるだけ大量を週 1 回投与する方法をえらんだ。使用量はいろいろな量を投与した経験から急性毒性の LD₅₀ の約 1/5 量を与えた。すなわち、MMC、5-FU および endoxan のラット腹腔内注射の LD₅₀ はそれぞれ 2.92mg/kg⁶⁾、175mg/kg⁷⁾ および 160mg/kg⁸⁾ であるので、1 回投与量は 500 μ g/kg、30mg/kg および 30mg/kg とした。これ以上の量を与えた場合には、早期に死亡するものが多かったが、最近のわれわれの経験ではなお大量を投与できることがわかった。そこで投与方法および投与量についてはさらに今後検討を加える必要も多いと考えている。

2. 腫瘍発生およびその組織学的所見について

今回の実験結果では endoxan を投与したものは 4/11 (36.4%) と対照の 12/16 (75.0%) に比較してもっとも強い抑制効果を示したが、MMC、5-FU ではそれぞれ 6/9 (66.7%)、5/9 (55.6%) と抑制効果はあまりみられなかった。しかし前回の予備実験と比較すると、MMC は 2/6 (33.3%)、5-FU は 4/7 (57.1%) で、5-FU はほとんど同一の成績であったが、MMC においてはやや異なった結果となっている。

組織学的にみても発生する腫瘍には embryonal cell type のものが多いが、renal cell type のものもみられたが、今回の実験では 5-FU 投与群には renal cell type の腫瘍がみられなかった。また前癌変化と考えられる尿細管上皮細胞の乳頭状増殖像や間質への未分化細胞の浸潤像も前回の結果とくらべて、MMC 投与群においては一般に軽度であった。

同一の実験を行なったにもかかわらず、腫瘍発生率やその組織学的所見に差がみられることは動物数が少ないことも一因であろうが、いわゆる抗悪性腫瘍剤の効果判定のむずかしい一面を示すものであろう。

今回の実験でもっとも特異な変化は endoxan 投与群にみられた腫瘍の間質における壊死と浮腫の所見である。この変化のため、この群にお

いては腫瘍細胞の増殖像も明らかでない。このような変化は従来のわれわれの実験においてはいずれの群においてもみられなかった特異的な変化と考えられるものである。しかしながらこの変化が腫瘍発生率の低いこととあいまって、endoxan 投与による腫瘍組織の治癒過程の一環としての変化であるかどうかについては、さらに慎重な検討を要する問題と考える。

今後のわれわれの実験方針としては、すでに強い抑制効果のあることがわかっている DES と、今回用いた抗悪性腫瘍剤とくに endoxan との併用投与による実験を行ない、その効果的投与法の検討とともに、人体例への応用の糸口を求めようと考えている。

む す び

1. DMN による腎腫瘍発生に対する影響を MMC, 5-FU および endoxan の抗悪性腫瘍剤にまとをしぼって検討した。投与法は1週1回腹腔内注射法とし、投与量は急性毒性の LD_{50} の約 1/5 量を連続 6 週間投与した。

2. MMC と 5-FU にはほとんど抑制効果がみられなかったが、endoxan にはかなりの抑制効果がみられた。

3. 組織学的にも endoxan 投与群においては、腫瘍の間質に壊死と浮腫が強くみられた。このような変化は従来のわれわれの研究ではみられなかった特異な変化であるが、その本態に

ついてはさらに検討を要する。

4. 今後は DES と endoxan の効果的併用投与法に関する実験を行ない、臨床応用への糸口を求めたいと考えている。

本論文の要旨は1968年11月3日、第19回日本泌尿器科学会中部連合地方会において発表した。

泌尿器科学教室、石川昌義教授の御校閲を深謝します。

文 献

- 1) 林威三雄・吉田宏二郎・日浅義雄・山下昭夫・吉川光顕・伊東 信行：泌尿 紀要, 15 : 79, 1969.
- 2) Ito, N., Johno, I., Marugami, M., Konishi, Y. and Hiasa, Y. : Gann, 57 : 595, 1966.
- 3) 伊東信行・城野逸夫・丸上昌男・小西陽一・日浅義雄：日病会誌, 55 : 147, 1966.
- 4) 城野逸夫：日泌尿会誌, 58 : 17, 1967.
- 5) 伊東信行・丸上昌男・小西陽一・日浅義雄・岡島英五郎・奥村秀弘・井本 卓・北村 旦：日病会誌, 56 : 133, 1967.
- 6) 芝 茂・田口鉄男：マイトマイシンの基礎と臨床, p.56, 医学書院, 東京, 1967.
- 7) 5-Fluorouracil, 協和醗酵.
- 8) Brock, N. : Endoxan 文献集 No. 3 (基礎研究および臨床篇), p.7, シオノギ製薬.

(1969年3月20日受付)