

III 微生物性抗癌剤の作用機序に関する研究

甲府通信診療所 徳田久吉
山梨県立衛生研究所 小沢尚夫

緒言

岡山大学の矢部等は、アデノウイルスによる発癌について報告したが、同じ大学の小川は、このアデノウイルスによって出来た腫瘍が、神経組織と極めて親近な腫瘍即ち悪性のシュワン鞘腫であるという結果を得たいという。バリのObering教授は、鶏の肉腫及び白血病のVirusは、RNS (RNA) を主体とするLipidを含有している核蛋白質体であるとし、一方、Virus粒子は、細胞内に定着し、この腫瘍Virusと細胞のRNSは一種の複合体をつくる事になるといっている。動物ウイルスでは、大きくなるにつれてLipidや炭水化物を含むようになるといはれ(Lipidはインフルエンザウイルス18%, ウマ脳炎ウイルス54%) 又乳癌組織内のB粒子は核酸としてRNAを1.3%とLipid30%を含むという。東大伝研の山川は、脂質の免疫化学的研究として人工リポ蛋白を抗原に用いているという北大病理の武田等は、癌細胞型特異抗原を、動物別、腫瘍別に退求して、DNAを含まない不溶性脂蛋白において、癌と肉腫と異なり、かつ正常組織とも異なる型特異なる型特異抗原を見出したという。Kuhlmannは、B518が、腫瘍組織内に選択的に侵入して効力を発揮する傾向があり、又リポイド可溶性であつて、術後の再発転移の防止と、淋巴腺転移の治療に有効であると述べている。De Pace (1912) は、狂犬病ワクチン(狂ワク)の注射で頸管癌の縮小を認めたが、このワクチン(北研製の紫外線不活動動物用狂犬病予防液)は、狂犬病固定毒を山羊の脳内に接種して発病せしめ、完全麻痺を起したもののひん死期に、無菌的に脳及び脳脊髄を採取し、その毒力10LD50以上のものを磷酸緩衝食塩水用いて乳剤とし濾過したものに紫外線を照射して不活化したものであるから、脳及び脳脊髄の神経物質を主成分とすることは明らかである。多ヶ谷等は紫外線不活化ウイルスのみがCytotoxic effect (CTE) を呈するとし、従つてこの不活化ウイルス(狂ワク等)を家兎の皮膚に接種するとCTE類似の現象が惹起されるといっている。細菌内毒素成分の作用に関し河西等は、Ps. aeruginosaのLipidA分画が極めて著しい抗癌性ないし殺癌性を示す事実を発表した。又MJ. Shear等は、Serratia marsecensのlipo poly saccharidは制癌作用を有すると述べている。E. Neterは、LipidAがSarcom 180に対してNecrosisを起させることを述べ、河西等も Ehrlich 腹水癌マウス

に連日LipidAを腹腔内注射して、生残するマウスが多いことを証明したといっている。著者等は先に、微生物性抗癌剤および抗癌性臓器成分の作用機序から見た癌毒素の抗原抗体反応について報告した。鹿大福西は色々な物質が副腎出血(Sprague-Dawley系の雌ラットに精製DMBAを過量に投与して起る)も防ぐし、腫瘍の発生をも抑制することを見出し、殊にズダンIIIはこの効果が著しく、他の腫瘍、例えばウイルス腫瘍を防ぐのではないかという成績を得ている。新大脳研生田は、第6回神経病理学会において、「発癌物質による脳腫瘍生成経過の電顕的観察、殊にウイルス様小体の出現と消長に就て」という特別講演を行うはずであるが、彼は炭水化物を注射した組織で腫瘍ができるまでにウイルス様構造物が多数に出来ることを見出し、腫瘍ではもう見られないと記載している。ズダンIIIは、組織学で脂肪染色に用いる最も普通のAzo色素(Benzolazobenzol-Azo-β-Naphthol)であり、この物質を油にとかして動物に与えると、上皮性の細胞に異型の増殖を起す性質を有する。このように小川の悪性シュワン鞘腫、著者等の狂犬病ワクチン、福西のズダンIII、生田のウイルス様構造物の間には、ウイルス(発癌作用)脳脊髄等の神経物質(リビッド)という共通の因子が認められ、従つて狂犬病ワクチンの抗癌剤としての作用機序に関する研究は、この方面の新知見の増えるにつれて益々脚光を浴びる可き性質のものと考ええる。なお狂犬病ワクチンの他にも微生物性抗癌剤として、Trypanosma Cruziの成分、Clostridiumbutylicum(生物学的応用)葡萄球菌と大腸菌のトキソイド等についても動物実験を行つたので、その成績をも併せてここに報告する次第である。

実験第1. Trypanosoma Cruzi培地成分の抗癌作用について

T. Cruziについては既に前著において述べたが、Chagas病の病原体がT. Cruziである。本原虫虫体は組織細胞内に侵入し、変態を来して分裂するための種々の神経症状があり、痲呆状態に陥つて死亡する事、主として小児に見られる急性型の一部は髄膜炎を起して短時日で斃れる事、初めから慢性型のみが見られる大人では中枢神経型が認められる事等、本疾患では、脳・神経の変性による発症と思われる症状が多い事実が注目される。

〔実験方法〕 6匹のマウスを2群に分けエールリツヒ腹水癌細胞による皮下腫瘍(固形癌)群3匹, エールリツヒ腹水癌群3匹とし, 両群のマウスの背部皮下に0.5 mlのTrypanosoma Crziの純培養地(大阪市大田中教室が継代保存)を注射した. 次にT. Crzi培地にエールリツヒ腹水癌の1mlを加えて培養したもの0.5mlと, このT. cruzi培地に固形癌組織約1gを加えて30日間培養の後, 5mlの滅菌蒸溜水と約2gのカオリンを加えて磨砕し, 更に5mlの滅菌蒸溜水を加えたもの0.5mlを, 各群2匹宛の正常マウスの背部皮下に注射した.

本実験の成績としては, どの群においてもエールリツヒ腹水癌及び固形癌に対する抗癌作用は全然認められずエールリツヒ腹水癌接種部位附近で腫瘍組織の発育は却って良好であった. 又T. Cruziの培地にエールリツヒ腹水癌を加えて培養したものと, T. cruzi培地に固形癌組織を加えて培養した後, 滅菌蒸溜水とカオリンで処理したものと正常マウス背部皮下注射では, 何の群でも注射部位(背部皮下)に固形癌を生じた. T. cruziの継代に使われたKala-azarの培地は, 田辺培地を改良したものであって, 脱線維家兎血液が混ざられている. 癌細胞の移植の場合, 同種全血液を注射しておいて, 后でその注射部位に癌細胞を移植するか, あるいは武田等の¹⁵⁾のように, フレンドウイルスのフォルマリンワクチンをつくり, dd/OMマウスを免疫すれば, 腹水腫瘍の増殖は抑制される. T. cruziの培地成分の注射は, 癌細胞の可移植性に影響を及ぼし得るのではないかと考えたが, 実験の結果は全くそのような所見は得られなかった. これはT. Cruziの原虫株が, 日本の大学の教室で2~3年に亘り培地で継代され古くなったのにもよると思われるが, 本実験は, 改めて追試の必要もないものと考えている.

実驚第II Clostridium butylicumのOncolyseについて

大阪市大藤森教授によれば, 第3回国際治療学会ではMaske教授の司会でOncolyse durch Clostridiiについての発表があったという. このOncolyseは, 腫瘍組織に特異的に発芽するSporenが組織をAnarobenに破壊するという現象で, グラーツのMöseが, このような作用を有するstam, Clostridium butylicumの培養に成功したという. 彼は, Sporenが腫瘍組織中で急速に増殖する条件を発見し, 又腫瘍が壊死となって外に壊死物質を排泄し, 又この動物の臓器では何等疾的变化の所見は見られなかったといっている. フィラデルフィアのBoxerは, 健康な動物の組織では治療量の約5倍のSpoenを注射しても疾的变化を来さない事, 脾の腫大以外は骨髄

及び血液の化学変化も100万倍という大量のSporen静注でも起らなかった事, 菌血症は何れの時期にも証明されず, 創傷治療も影響されないし, 毒性産物も証明されない事について述べ, 又他の化学療法剤と, Sporen治療との併用は有効で, Tetramineに対しては明らかに陽性の効力増加がえられ, 併用の際にのみすべての腫瘍の退行性変化が促進され, 抗生物質化学的には作用のない位のTrenimonの使用量も腫瘍の融解効果を改善するのは興味深いといっている. フランクフルトのGerickeは, マウスの二, 三の腫瘍のみがOncolyseを起す事実を認め, 融解した腫瘍の抽出物質は多量のポルフィリンを含有しており, この物質が植物性Clostridin Formenの増殖を阻害し, もし腫瘍内のポルフィリン形成を重金属, 例えば鉄で前処置して遮断すると腫瘍におけるOncolyseの作用の範囲と速度を増強すると述べている. このClost. butylicumは, 腫瘍組織に特異的に発芽し, Sporenが組織をAnarobenに破壊するという生物学的作用を応用するもので, Sporenをそのまま使用し, その培地から有効成分を抽出して使用するという方法は考えられていないだけに却って興味深く思われたので, 次のような実験を行った.

〔実験方法〕 東大応用微生物学研究所からClost. butylicumの菌株, IAM19016の分譲を受け, 之を山梨県立衛生研究所で嫌気性に培養した. 培地は, 2%糖蜜, 0.5%Pepton, 0.01%磷酸第1加里, 0.5~1%硫酸培地を使用し, なお対照として, Cooked meat培地をも用いた. Desiccator内の空気を窒素で置換し, 10~15mmHgとした. 培地は酸性にならぬようにし, PHは7.0~7.2とした. なおこの他に, 流動パライン重畳法も行なった.

培養後2日目で嫌気性培地の内, 合成培地では, Clost butylicumの発育は良好で, 液体培地は一様に混濁し殊に試験管底部では雲そ状沈澱物が認められた. Cooked meat培地でのClost. butylicumの発育は不良で混濁もほとんど認められなかった. Clost. butylicumを培養した合成培地(2日目)に, エールリツヒ腹水癌細胞によるマウス固形癌の組織片(生理的食塩水で煮沸殺菌したもの)を入れ培養を続けると, その嫌気性培地での発育は対照(組織片の入れてない)に比し極めて良好であり, 試験管底の雲そ状沈澱物中の組織片の周囲からはガスの小気泡が次々に液面に浮上してゆき, 又培地の混濁の度も, この組織片の入った試験管の方が著しかった. この固形癌の代りに, 胃癌患者切除胃の癌組織片を用いた場合も, その嫌気性培地における所見はほとんど同じであった. 次に雄の家兎(体重約2kg)2羽の耳翼静脈内に, このClost. butylicumの培地稀釈液(Clost. b-

utylicumの嫌気性培地の菌苔5白金耳をとり、これを5 mlの生理的食塩水に浮遊させたもの)の5 mlを注射した。これら家兎は何等認む可き病的変化を示さず、従つて実験動物としての家兎は、この程度の菌量の静脈内注射には十分耐過しうる能力がある事が判つた。マウスでの実験では、エールリツヒ腹水癌細胞による固形癌(背部皮下)を有するマウス3匹を使用し、Clost butylicumの菌浮遊液の0.5mlを腫瘍部位附近に注射した。これ等のマウスは何れも、その腫瘍は一旦可成り速かに拡大する傾向を示し、次いで漸次その硬度を減じて軟化し、腫瘍表面中央部が陥凹するか、あるいは2乃至数個の小塊に分れる。その腫瘍は、周辺部に向つて硬化と浸潤の形で拡がって行き、再び融合して単一の団塊となり、これ等マウスは最後には悪液質に陥つて斃死した。Clost butylicum (buticum)として分離され、保存されている菌株だけでも相当の数(約100菌株以上)に達するといわれているので、Oncolyseの目的のために使用し得るClost butylicumの菌株の選択だけでも可成りの労力を要することが判つた。Möseは、腫瘍が壊死となり外に向つて壊死物質を排泄したといっているが、著者等の実験では、腫瘍組織内での変化は壊死を來たす程度まで進行せず、却つて腫瘍の周辺部に向つて硬化、浸潤の形で拡大し最終的にはSporen注入時よりも大きな団塊となつたので、このClost butylicumの応用については次の如き考慮が必要と思われる。即ちBoxerの、肉腫180を有するマウスでの実験のように、他の化学療法剤即ちTetramine (Trenimon)と併用して陽性の効果増強をはかることと、Gerikeの知見におけるように、腫瘍内のポルフィリン形成を重金属、例えば鉄で前処置して遮断し、Oncolyseの作用の範囲と速度を増強する方法を併用する必要があると思われた。腫瘍内のポルフィリン形成の重金属(鉄等)による遮断の目的のためには、大島つむぎの染色に使われる有機媒染染料であるテーチ木(車輪梅)煎汁も用い得られるのではないかと思われる。この染色液はタンニンを7~9%の割合に含有しており大島つむぎ(泥染め)の染色の際には、つむぎの絹成分のフィブリン等と、本染色液中の色素とタンニン、媒染剤としての田の泥の中の重金属(鉄、クロム等)が作用して、堅牢な泥染め大島つむぎの染色仕上がりが完了する。なお著者は、このテーチ木煎汁がそのままの形で液体培地として使用可能であり、殊にかびの培地としてすぐれており、又染色液として鞭毛染色にも用い得られる事実を認めている(未発表)従つてテーチ木煎汁を、ポルフィリン形成の、鉄による遮断の目的に使用すれば興味深い知見が得られるのではないかと思われるので、Clost butylicumとTrenimonの併用の実験と共に、機

会を得てこの実験も行い度いと考へている。

実験第三 大腸菌及び葡萄球菌トキシソイドの抗癌剤としての利用について

関西西大森井教授によれば、Sprague-Dawley系の雌ラットでは、精製DMBAの発癌に用いるよりも多い、然し致死量ではない量の投与で、ラット副腎皮質内層の細胞に胞体の変性、核濃縮、細胞壊死を認め、この壊死の広汎な発現のために-副腎皮質の糸球層、球状層に強いビマン性の出血が二次的に発来するという。この出血の発来は、DMBAの皮質細胞への直接作用の表現であり、このようなDMBAの傷害は雄でも発生率は低いが出来するし、又ある種の条件の賦課で幼若又は下垂体きき出ラットでも発現する。この副腎皮質障害は今まで試みられた化学物質の中、DMBAのみにその作用がある。最近このようなDMBA類似化合物や、他の癌原性炭化水素、更にアゾ色素などを予め投与し、続いてDMBAを与えても、も早副腎出血は惹起されることが知られた。この予防作用は、肝の薬剤代謝酵素の急激な産生により、二次的にDMBAの解毒機転を亢進するためと考えられ、これにより発癌剤に対するきつ抗、又は解毒機転の存在が明らかにされるから、癌予防効果をもつ物質のスクリーニングに副腎出血という簡明迅速な現象が応用しうるかも知れないといっている。大阪大学の宮地教授は、鹿大福西の業績に期待を寄せ、これが確証されると、かなり大きな反響をよぶ業績にならうといっている。このDMBAでつくつた乳腺腫瘍は、無細胞遠心血清、あるいはフェノールで抽出した核酸でダイコクネズミ新生仔に腫瘍をつくる事が出来るという報告もあるという。

以上述べた岡大小川のAdenovirusによる発癌の場合の腫瘍が悪性シュワン鞘腫であるという事実、鹿大福西がDMBAの過重投与で起る出血壊死は、脂肪染色用のAzo色素であるズダンIIIで予防され、腫瘍の発生も抑制されるといっている事、新大の生田が、脳腫瘍の生成経過においてもウイルス様小体が多数に出来ることを見出し、腫瘍ではもう見られないと述べている事実、その他Obering教授等の知見を総合して判断すると、悪性腫瘍と発癌物質(殊に油脂溶性のもの)ウイルス(核酸又は核蛋白、Lipo蛋白)と神経物質、若くは脂肪染色の染剤ズダンIIIの間に相関関係があることは容易に推論される所である。星野¹⁵⁾は、肝カタラーゼを抑制する3,アミノ・1・2・4トリアゾールが、バターエロー肝癌の発生に及ぼす影響を検討した結果、発癌抑制的に作用することを認め、このことは従來知られた肝癌抑制物質の多くが肝カタラーゼを上昇せしめるという事実と対比して注目すべき新事実であるといっている。このように発癌物質であ

るアゾ色素が、副腎出血壊死の予防効果において、又バターエロー肝癌の発生に及ぼす影響の検討において、発癌抑制的に作用する事実が明らかにされたのは注目値する。このような諸家の知見から、狂犬病ワクチンの抗癌性微生物製剤としての作用機序の解明は、今後更に新しい知見を提供しようと考えたので、次の如き実験を行った。

〔実験方法の1〕（葡萄球菌毒素とウイルス製剤及び癌細胞の同時使用に就て）

化膿性扁桃腺炎患者の咽頭から分離した黄色葡萄球菌の菌株を寒天斜面培地に培養し、その菌苔を5白金耳掻き取り、之を5mlの生食水に浮遊させる。次にこの菌液をアルミゲル4mlで処理し、その1mlを体重約2kgの家兎2羽の背部皮下に注射した。（第1回）

家兎No. 1 酵母浸出液で狂ワクを処理し、之に葡萄球菌のペプトン水培地2mlを加え、更にアルミゲル3mlを混じたもの、即ち全量約5mlの混合液を背部皮下に注射した。

家兎No. 2 葡萄球菌のペプトン水培地2mlにアルミゲル3mlを混じた液5mlを背部皮下に注射後、更に精製痘苗を生食水5mlで5倍に希釈した液約2mlを腹腔内に注射した。

この第2回注射の1週間後にNo. 1 No. 2の両家兎の腹腔内にエールリツヒ腹水癌細胞を生食水で2倍に希釈した液約2ml宛を注射した。（第3回）目その後4日目に痘苗希釈液2ml+狂ワクを酵母浸出液で処理した液の3mlを両家兎の背部皮下に注射した。（第4回）更にエールリツヒ腹水癌細胞の2倍希釈液2mlを腹腔内に注射した。（第5回）

この第5回の注射後3日目、No. 1の家兎は、アナフィラキシー様の症状、即ち脚を伸ばして倒れ、尿尿の失禁を伴う痙攣様発作を数回起して斃死した。No. 2の家兎では、両後肢に狂犬病予防接種後麻痺様の症状で認められ、歩行時後肢を引きずるような動作が認められるようになった。

〔実験方法の2〕（マウスにおける葡萄球菌毒素と、ウイルス製剤及び癌細胞の同時使用について）

黄色葡萄球菌をペプトン水培地に培養し、この培地の10mlに対し0.1gの割合で N_2Na を加えた。次にこの葡萄球菌ペプトン水培地に、酵母浸出液を同量加える（酵母浸出液は、酵母3gを70mlの0.2%NaOHで抽出したものであるが、之を冷蔵すると固形成分の沈澱物と、半透明の液体成分に分れるので、この液体成分を分離して使用する）この葡萄球菌ペプトン水培地加酵母浸出液の0.5mlを、固形癌、腹水癌マウスの脊部皮下と腹腔内に夫々

注射した。

移植癌マウスa群：固形癌2匹、腹水癌3匹で計5匹であるが、腹水癌マウスの中にはエールリツヒ癌細胞を腹腔内に移植する際、その注射針の部位に一致してえん豆大程度の固形癌を生じたものもあつた。併し実験期間を通じてこの程度の大きさに止まっていたものは一応腹水癌と見做した。このa群には（葡萄球菌ペプトン水培地4ml+酵母浸出液10ml+石炭酸不活化狂ワク7ml）の0.5ml宛を注射したが、固形癌では背部皮下、腹水癌では腹腔内に夫々注射した。

移植癌マウスb群：固形癌2匹、腹水癌3匹で計5匹を使用した。精製痘苗を生食水で5倍に希釈した液0.5ml宛を、固形癌と腹水癌のマウスに、背部皮下と腹腔内に夫々注射した。

次に上述のa, b両群のマウス全例に、生食水で2倍に希釈したエールリツヒ腹水癌細胞0.5mlを腹腔内に注射して経過を観察した。

この実験の結果、狂ワクを使用したa群に属するマウス5匹全部が4日の間に相次いで死亡し、その中でも、腹水癌マウス（3匹）の方が比較的早く死亡した。

実験方法の1と2を通じて観察すると、ウイルス製剤に狂犬病ワクチンを、細菌（黄色葡萄球菌）毒素、癌エールリツヒ腹水癌細胞と同時に使用するのは危険であつて重篤な副作用が認められ、そのために実験動物は死亡するに至ることが判つた。狂犬病ワクチンの場合、家兎ではアナフィラキシー様症状斃死、マウスでは本狂ワク群の全例、即ち5匹が4日の間に相次いで死亡したが、殊に腹水癌マウスの方が比較的早く死亡した。之に反し、精製痘苗の場合では、家兎で狂ワク予防接種後麻痺様症状が認められたに過ぎず、マウスでは、葡萄球菌ペプトン水培地→精製痘苗→エールリツヒ腹水癌細胞腹腔内移植の順で接種を受けているが、異状を呈した例は一例もなかつた。

狂犬病予防接種（後麻痺）¹⁹⁾ に関し²⁰⁾ 辻本等は健康家兎脊髄乳剤にFreundのAdjuvant (FA)を附加して猿に接種する事で、人の後麻痺を再現しようといつており、この際ワクチンの脳脊髄物質が役割を演ずるのは確かであるとしている。美甘も²¹⁾ FAを用いた急性脳脊髄炎が後麻痺に最も類似していると述べ、脳乳剤とFAを用いた場合は後麻痺の発生率は極めて高く、マウスでは87.5%に脊髄炎症候が見られたといっている。従つて後麻痺の発生については、FAの演ずる補助物質作用についても改めて検討する必要があると思われる。Koprowskiは²²⁾ Flury株ウイルスによる活性ワクチン（本株感染の孵化鶏卵胎児を凍結乾燥して使用）を35名の癌患者に1〜数回接種し、副作用を認めなかつたといっている。吉野等は狂ワ

クから危険な後麻痺の副作用を取除くための卵で効力の高いワクチンを作り、その狂犬病1日卵ワクチン人体実験を行ったと報告している。北岡はこの報告に追加してFlury株胎児ワクチンは抗体産生悪く実用化されない事この吉野のワクチンが画期的なもので、従来の脳物質を止めて吉野ワクチンに切換えると後麻痺のおそれなくなると述べている。この吉野ワクチンは、ペータープロピオラクトン不活化ワクチンであって、実験的に紫外線不活化ワクチンに較べて免疫原性が優っているという。

市田、徳田によれば、ペータープロピオラクトンは、血清肝炎予防のため血液に添加され強力な不活化効果を示すという。

狂犬病予防ワクチンから危険な後麻痺の副作用を取除くためには、吉野ワクチンを使用すべきであるが、この吉野ワクチンには脳（脳脊髄）物質がほとんど含まれていないから、抗癌剤としての狂ワクの作用機序の解明のためにはむしろ、従来の脳（脳脊髄）物質含有の石炭酸不活化ワクチン等の使用が望ましい。

発癌抑制的に作用するというズダンⅢと3.アミノ1・2・4・トリアゾールと、狂犬病ワクチンの組合わせを作つてSprague-Dawley系雌ラットのDMBA癌に使用する実験は発癌物質としてのアゾ色素と脳（脳脊髄）物質及びウイルス含有のワクチンを有するものだけに興味深く思われるので、他日を期してこの実験を行いたいと考えている。

実験第Ⅳ 黄色葡萄球菌、及び大腸菌の明ばん沈降フォルモルトキソイドと狂犬病ワクチンの作用について

矢追等は、PVL（精製痘苗）に混入するウイルス粒子以外の不純物を出来るだけ除くためにCrocker法に従つてPVLをトリプシンで処理している。Crocker法はPVLに0.5%トリプシン液（溶媒S-T液）及びSodiumdesoxycholate（溶媒はS-T液）の等量混合液を25°Cで30分作用させ、2回遠沈した沈渣をS-T液に浮遊させるのであるが、このSodiumdesoxycholateを主要成分とする培地がDesoxycholate agar培地である。この培地ではグラム陽性菌は発育せず、大腸菌はよく発育するという。葡萄球菌はグラム陽性であるから、この培地での発育は不良であると思われるが、先づペプトン水培地に葡萄球菌を培養し、次にこのDesoxycholate agar斜面培地に培養する場合は却つて、ウイルス粒子のトリプシン液処理の段階で、好結果が得られるのではないかと考えられた。大腸菌については、葡萄球菌における場合と全く同様に処理したが、DesOxycholate agar培地での発育は良好であり、従つてこの菌の発育について顧慮する必要はなかつた。

〔実験方法〕 a) Desoxycholate agar斜面培地に、約10mlの葡萄球菌、若くは大腸菌、ペプトン水培地を注加する。次にTris-buffer5mlにTripsilin Mochida約5mgを溶解したもの及びヒアルロニダーゼ1mlを加えた。更に固形癌小片約1gを管底に送入した。b) DesOxycholate培地に、約10mlの葡萄球菌、若くは大腸菌ペプトン水培地を注加する。次にTripsilin Mochida-Trisbuffer溶液5mlを加えた。これに更に腹水癌1mlを加えた。

a, bの培地は、大腸菌の場合はガスを産生し、固形培地斜面にひび割れを生じて強く混濁し、葡萄球菌の場合は、稍強い混濁を示した。次にこれ等培地に、2mg/mlの割合で明ばん液を、又0.3%の割合で局方フォルマリンを加え、明ばん沈降フォルモルトキソイドを作製した。

C) Trisbuffer 5mlにTripsilin Mochida約5mgを溶解したものに、狂ワク1mlを加え振盪混和消化させた後このTripsilin Mochida-狂ワク液の約6倍量の葡萄球菌若くは大腸菌ペプトン水培地を加え、これ等の菌混和液から明ばん沈降フォルモルトキソイドを作製した。

〔正常マウスにおける実験〕 1) 大腸菌トキソイド0.5mlの腹腔内又は背部皮下 2) 葡萄球菌トキソイド0.5mlの腹腔内又は背部皮下 3) 葡萄球菌トキソイド0.25mlを腹腔内と、同じ液の0.25mlを背部皮下に注射した。この正常マウスにおける実験群では、葡萄球菌トキソイド使用群中、背部皮下に注射を受けたもの2匹中1匹は注射後まもなく死亡、又大腸菌トキソイド腹腔内注射マウス2匹中1匹、葡萄球菌トキソイド背部皮下注射マウス2匹中1匹が、注射後9日目に死亡した。なお、固形癌使用のトキソイドと、腹水癌使用のトキソイドとは効果においてほとんど差異が認められなかつたので、主として腹水癌使用のものを用いた。

〔移植癌マウスにおける実験〕 1) 大腸菌トキソイドを、固形癌マウス背部皮下に、0.5ml注射。2) 葡萄球菌トキソイドを、固形癌マウス背部皮下に0.5ml 同じ液を腹水癌マウス背部皮下に0.5ml注射した。

この移植癌マウスにおける実験群では、葡萄球菌、大腸菌の各トキソイド使用群は、固形癌マウスに対する背部皮下の注射で夫々の群の半数（4匹中2匹）が死亡した。

このように、動物実験の段階でも、葡萄球菌及び大腸菌トキソイドの使用は相当な危険を伴い、重篤な副作用が認められたので、狂ワク加トキソイドの使用については、他の実験結果を待つて改めて考慮することとした。

実験第Ⅴ 狂犬病ワクチン免疫家兔血清の使用

について

狂犬病の場合、免疫血清(W.H.Oでは馬血清)を使用後(定説では8日目)狂ワクを接種する方法は、狂犬病予防疫種の副作用後麻痺の予防上必要であるといわれている。この免疫血清での前処置は、癌患者の場合特に必要であると思われる。Freund, Kaminer²⁵⁾の癌反応は腫瘍患者血清が腫瘍細胞を溶解しない事実を応用するもので、癌患者の血清は健康者の溶解力まで効害するといふ。なお能働免疫、受働免疫でも、共に血清中に抗体が産生されるといっている。

〔実験方法〕 a) 固形癌マウスに対し、葡萄球菌トキソイド抗血清を背部皮下に注射4日後にこのトキソイドを背部皮下に注射 b) 腹水癌マウスに対し、葡萄球菌トキソイド抗血清と、このトキソイドを、同じ日数の間隔で背部皮下に注射。c) 固形癌マウスに対し、大腸菌トキソイド抗血清を背部皮下に注射、4日後にこのトキソイドを背部皮下に注射。d) 腹水癌マウスに対し、大腸菌トキソイド抗血清と、このトキソイドを同じ日数の間隔で背部皮下に注射した。

この実験の結果、固形癌、腹水癌に対し葡萄球菌トキソイドと大腸菌トキソイドの何れもが、治療効果はない事が判った。併し、葡萄球菌トキソイド抗血清と、このトキソイドを使用した腹水癌マウスは、このトキソイド注射後、平均日数8日で死亡しているので多少の延命効果はあるものと思われた。この延命効果は、既に行つた他の実験の成績から考えて、抗血清の使用によるものではないかと思われる。なお、この実験とは別に行つた実験の結果、葡萄球菌(大腸菌)トキソイド抗血清と、葡萄球菌(大腸菌)トキソイドを注射した後に、エールリツヒ腹水癌細胞を移植して固形癌や腹水癌を作る方法では、癌の発生に対する予防効果は全然認められない事が判った。

次に狂ワクを加えて葡萄球菌(大腸菌)トキソイドを作り、これ等のトキソイド抗血清を注射しておき、4日後にトキソイドを注射するという方法を試みたが、この場合は概ね4~6日で死亡した。

実験第VI 家兎における、狂犬病ワクチン加葡萄球菌(大腸菌)トキソイド及び葡萄球菌(大腸菌)トキソイド注射後の免疫血清抗体価について

〔実験方法〕 成熟雄家兎(体重約3kg)を択び、之に第1表のような注射を行なつて、家兎の免疫血清抗体価を測定した。トキソイドは、16倍稀釈のもの3mlを皮下に5回注射した後、耳翼静脈に2回注射した。Adjuvantを使用しない免疫処置(第1回検査)の場合、免疫血清の抗体価は、狂ワク葡萄球菌トキソイド免疫血清と、狂ワク大腸菌トキソイド免疫血清では、狂ワク抗原に対し

夫々60倍、30倍の赤血球凝集価を示した。

Adjuvantを使用(第2回検査)する場合、免疫血清の抗体価は、狂ワク葡萄球菌大腸菌トキソイド免疫血清では狂ワク抗原に対し3,840倍(3,840倍)の赤血球凝集価を示し、又2と2の沈降反応値を示した。

即ち、狂ワク葡萄球菌トキソイド免疫血清と、狂ワク大腸菌トキソイド免疫血清は、狂ワク単独の抗原に対して最高の抗体価を示した、この実験では、Adjuvantとして流動パラフィンと脱水ラノリンを使用した。第1表のII回目検査の項で明らかのように、免疫処置においてAdjuvantを使用する場合は、確実に各抗原に対する抗体価の上昇が認められた。

大阪医大山中教室は、シユワルツマン現象を悪性腫瘍の治療に応用しようと試みている。

これは、加熱殺菌大腸菌エマルジョンを用いて2週間の間に4回の感作(準備注射)を行い、その後エールリツヒ腹水癌細胞500万個をマウス背部皮下に移植して扁豆大から大豆大の固形癌を作り、この腫瘍内部に加熱殺菌大腸菌菌体を注射(惹起注射)するもので、20日以後において固形癌は消失、治癒するという。著者等は、マウス及び家兎を用いてこの方法を追試したが、その詳細は省略する。只今回の実験では、家兎耳翼静脈内に加熱殺菌エマルジョン0.5mlを注射する場合、流動パラフィンと脱水ラノリンのAdjuvantの背部皮下注射を併用すると、家兎の血清抗体価は赤血球凝集反応では3,840倍、沈降反応では2という高値に達したことで、惹起注射としてバラチスB菌エマルジョンの注射を受けたマウスでは、背部皮下の癌の転移が著しく、前肢附着部に転移性の癌性浸潤が認められ、右眼は突出して角膜白翳を生じ、努力呼吸と、シャイネストーク様呼吸を繰返して斃死した例を認めたのが注目される点であつた。

実験第VI 大腸菌、テーチ木煎汁、人癌組織処理液、及び浸出液、狂犬病ワクチン、KCNS液の混合液の、マウス固形癌、腹水癌に対する予防効果について

細谷は、部分的精製ベスト菌毒素等のExo-toxinが、KCNSでtoxoid化される事を発見したといっている。大腸菌のペプトン水培地にテーチ木煎汁を加えこれに人癌組織処理液及び浸出液、狂ワクを混和したものをKCNS液でToxoid化し、さらに明ばん沈降フォルモルトキソイド化することが出来るのではないかと考えたので、次のような実験を行なつた。

〔実験方法〕 1) 寒天斜面培地に、大腸菌ペプトン水培地を注加して培養する。2) 翌日第1液を固形培地斜面の約2/3の高さまで入れ、孵卵器に1昼夜置く。この第1液を遠心

(第1液)	テーチ木煎汁	(160ml)	} PHを8.0に 修正
	硫酸銅処理 粗蛋白液	}	(8.0ml)	
	癌組織 dil HCl浸出液	}	(8.0ml)	
	クロム酸加里液	(4.0ml)	
	弱醋酸処理 狂ワク液	}	(2.0ml)	
	2%炭酸ソーダ液	(8.0ml)	

沈澱し、その上清に1/10量のM/10KCNS液を加える。

3) 第2液は第1液に加えて1昼夜

(第2液)	5%硫酸第1鉄液	20.0ml
	5%フォルマリン液	20.0ml
	3%明ばん液	20.0ml

室温放置の後、遠心沈澱し、その上清に全量の1/10量となるようにM/10KCNS液の量を補足する。

硫酸銅処理粗蛋白液は、中原、福岡のToxo-hormone抽出法に準拠して処理した液、癌組織dil-HCl浸出液は、酵母からの粗核蛋白抽出法に準拠して処理を行った液である。クロム酸加里液は、硫酸第1鉄と共にテーチ木煎汁での絹の泥染めの際の媒染剤であり、2%炭酸ソーダ液は、テーチ木の煎出に用いられるもので、又狂ワクの防腐剤である石炭酸を中和する。又同じく狂ワクの防腐剤であるチメロサルは、第1液中の弱醋酸で沈澱させて、遠沈の過程で除かれている。

動物実験としては、正常マウス12匹を使用し、山中教室の準備注射と同じように、マウス背部皮下に第2液を5日目毎に4回注射した。本実験群中、初回0.25ml、2回目0.5mlを注射した所、2例が第2回目注射の翌日死亡した。そこで第2回目も0.25mlを注射したら死亡例はなくなった。なお3回目以後では0.5mlの注射でも全然死亡例はなかった。準備注射終了のマウスには、4回目注射の翌日エールリツヒ腹水癌細胞 5×10^6 (0.25ml)を背部皮下に移植して経過を観察した。

つまりこの実験では、第2液を注射(準備注射4回)した背部皮下に、エールリツヒ腹水癌細胞を移植して、第2液は癌発生に対する予防効果を有するか否かを観察したのであるが、癌細胞移植の後、腫瘍発生までの期間は2~6日(平均3日)程度延びた。又この癌細胞移植後の腫瘍発生の遅れ、即ち前癌状態の期間の延長とともに、癌移植から死亡までの日数の延長(平均4日)即ち延命効果も認められた。併し、今回のこの第2液を用いての実験では、癌の発生に対する予防効果、即ち発癌の防止及び抑制作用は認められなかった。中原によれば、癌の移植にたいする免疫は同種動物の生きた正常の細胞を注射することによって誘起される。即ち、新らしく採血した全血液を一定量注射して、10日間位たってから癌

を移植すると当然付くはずの癌が高率に付かないという結果になるという。

シュワルツマン現象は、非特異的毛細管障害現象であるといはれるが、この非特異的現象(シュワルツマン現象)を応用する方法を始め、特異的免疫現象、化学物質や生物学的製剤等を使用する方法のどれによっても、癌の発生を予防することに成功していない。従って、癌の移植にたいする免疫の方法である。同種動物の全血液を注射した後に癌を移植する方法が、現在まで明らかにされた癌の発生予防の唯一の方法であるといえる。併しこの同種動物の全血液を注射する方法を、癌発生に対する予防の手段として人体に応用する事は、この方法実施に伴う種々の制約のために実現は困難と思われる。ただ、悪性腫瘍患者に対して骨髄輸血が試みられているが、これはあくまで、治療の手段として行われているにすぎない。アデノウイルスによって出来た腫瘍が、神経組織と親近な腫瘍、即ち悪性のシユワン鞘腫であるという小川の新知見は、癌の発生防止及び抑制の効果を有する発癌予防剤の発見に対して、有力な手掛りを与え得るのではないと思われる。この観点から、狂犬病ワクチンの使用が考えられ、これに適当なアゾ色素、就中ズダンIIIを作用させるか、あるいは前述のテーチ木煎汁・癌組織処理液狂ワク液の明ばん沈降・KCNS・フォルモルトキソイド液を改良することによって発癌予防剤を作り得るのではないかと考えている。又この発癌予防剤の使用に当っては、同種全血液の注射による免疫を利用出来るのではないかと考えている。

結 論

アデノウイルスによる発癌について岡大の小川は、この腫瘍が神経組織と親近な悪性シユワン鞘腫であるという結果を得、鹿大福西は、Sprague-Dawley系雌ラットに精製DMBAを過量に投与して起る副腎出血がズダンIIIによって著明に防止され、このズダンIIIはウイルス腫瘍を防ぐのではないかという成績を得ており、新大生田は炭水化物を注射した組織で腫瘍ができるまでに(脳腫瘍の生成経過においても)ウイルス様構造物が多数に出来、腫瘍ではもう見られないと記載している。従って狂犬病ワクチン、ズダンIII(脂肪染色用アゾ色素で発癌物質)ウイルス様構造物質の間には相関々係があると思われる。

今回は主として狂犬病ワクチン。その他若干の微生物性抗癌剤について実験的研究を試み、次のような結論を得た。

1) Trypanosoma Cruziの培地成分の抗癌作用は追試に値しない。2) Clost. butylicumのoncolyseに

いては、他の化学療法剤、例えばTrenimonと併用して陽性の効力増強をはかるか、腫瘍内のポルフィリン形成を重金属（鉄等）で前処置して遮断の目的のためにはテーチ木煎汁の使用も考えられる。3) 狂犬病ワクチンと細菌毒素、癌細胞の同時使用は副作用を伴い危険である。4) 狂ワクチン（大腸菌）トキソイド免疫血清は、狂ワクチン単独の抗原に対して最高の抗体価を示し、免疫処置の際 Adjuvant を使用する場合は確実に各抗原に対する抗体価の上昇が認められる。5) 著者等が試験的に作製した、人胃癌組織抽出液と狂犬病ワクチン等の混合液からの明ばん沈降-KCNS-フォルモルトキソイドはマウスの癌発生に対する予防効果はなく、腫瘍発生までの期間延長延命効果だけが認められた。今回は、狂ワクチンⅢ及び明ばん沈降K CNS フォルモルトキソイドの改良によって発癌予防剤の作製を試み度い。（本研究は昭和38. 39年度郵政省試験研究費によるものである。郵政省動物保健課長、大阪医大山中教授、鹿大佐藤教授の御指導、御声援に対し、又菌、原虫株、文献を御分譲下さった東大応微研Clost保存室、大阪市大田中教室、長崎大旧戸倉教室の方々の御厚志に対し、深甚なる謝意を表します）

参 考 文 献

1) 小川：日本医事新報 2,125 (24) 1,965
 2) Obering：日本医事新報 1,848 (38) 1,959
 3) 東昇：ウイルス 80 1,954 講談社
 4) 山川：日本医事新報 2,122 (32) 1,964
 5) 武田勝男：文部省研究報告集録癌編 22-22 1,964-3 日本医事新報 2,012 (7) 1,958
 6) Kuhlmann：日本医事新報 1,848 (40) 1,959

7) De Pace：日本医事新報 2,012 (4) 1,962
 8) 多ヶ谷勇等：ウイルス 11: 3 (227) 1,961
 9) 河西等：医学と生物学 59, 6 (158) 1,960
 10) M.J Shear et al. : J.Nat.Canc Inst 4 (81) 1,943
 11) E. Neter: J.Emm 76 377 1,965
 12) 徳田久吉：日伝染会誌 37, 5 (165) 1,963
 13) 福西：日本医事新報 2,125 (25) 1,965
 14) 生田：同上
 15) 武田勝男：日本医事新報 2,127 (19) 1,965
 16) 藤森速水：日本医事新報 2,080 (44) 1,964
 17) 森井外吉：日本医事新報 2,132 (110) 1,965
 18) 星野：日本医事新報 1,861 (2) 1,959
 19) 北本治等：臨床ウイルス学 (297) 1,956 中外医学社
 20) 美甘義夫：細菌学の領域(57) 1,953 医学書院
 21) Koprowski H, & Black J. : J, Emmunol, 72 503 1,954
 22) 吉野, 齊藤：最新医学 17, 12, 3,025 1,963
 23) 市田, 鈴木, 徳田, 猪川：日伝染会誌 34, 12, (1,235) 1,961
 24) 矢追秀武等：総合医学 16, 2 (269) 1959
 25) 26) 山中太木：微生物学及び免疫血清学(676) (701) 大阪医大微生物学教室
 27) 細谷省吾：細菌学の領域(164) 1,953 医学書院
 28) 中原 福岡：Jap Med J. I: 271 1,948 Nakahara Fukuoka Naora: Gann (1~5) March 1,962

第I表 トキソイド免疫血清の各種抗原に対する赤凝 沈降反応

免疫処置	検査回別		I 回		II回 (Adjuvant 使用)	
	抗原抗体反応抗		判定(抗体価)		判定(抗体価)	
	抗原	血清(抗体)	赤凝反応	沈降反応	赤凝反応	沈降反応
葡萄球菌トキソイド	葡萄球菌トキソイド	葡萄球菌トキソイド免疫血清	0	0	1,920×	2 ⁷
大腸菌トキソイド	大腸菌トキソイド	大腸菌トキソイド免疫血清	0	0	960×	2 ⁶
狂ワクチン葡萄球菌トキソイド	狂ワクチン葡萄球菌トキソイド	狂ワクチン葡萄球菌	0	0	1,920×	2 ⁸
	狂ワクチン	トキソイド免疫血清	60×	0	3,840×	2 ¹⁰
	葡萄球菌		0	0	1,920×	2 ⁷
狂ワクチン大腸菌トキソイド	狂ワクチン大腸菌トキソイド	狂ワクチン大腸菌	0	0	1,920×	2 ⁷
	狂ワクチン	トキソイド免疫血清	30×	0	3,840×	2 ⁹
	大腸菌		0	0	960×	2 ⁵