

# ヒト胃癌のヌードマウスにおける癌性腹膜炎モデルの確立と Mitomycin C による腫瘍細胞増殖促進効果について

奈良県立医科大学第1外科学教室

山田 義 焔, 渡 辺 明 彦, 澤 田 秀 智  
中 谷 勝 紀, 中 野 博 重

## ESTABLISHMENT OF CARCINOMATOUS PERITONITIS MODEL OF HUMAN GASTRIC CARCINOMA IN NUDE MICE AND ENHANCEMENT OF THE TUMOR GROWTH OF I. P. TRANSPLANTED IN NUDE MICE CAUSED BY INTRAPERITONEAL INJECTION OF MITOMYCIN C

YOSHIKI YAMADA, AKIHIKO WATANABE, HIDETOMO SAWADA,  
KATSUNORI NAKATANI and HIROSHIGE NAKANO

*The First Department of Surgery, Nara Medical University*

Received September 30, 1991

*Summary:* Malignant potential of carcinoembryonic antigen (CEA)-producing human gastric adenocarcinoma (NS-8) was studied by intraperitoneal transplantation in nude mice. NS-8 carcinomatous peritonitis model was established by intraperitoneal transplantation of more than  $1 \times 10^5$  tumor cells. Pretreatment of MMC (5mg/kg or 1mg/kg) in the peritoneal cavity 3 hours before i. p. inoculation of  $1 \times 10^6$  tumor cells resulted in enhancement of the malignant potential and increase of plasma CEA level. Post-treatment of MMC in the peritoneal cavity 3 hours after i. p. inoculation of  $1 \times 10^6$  tumor cells reduced tumor growth and plasma CEA level. A slight enhancement of the malignant potential was recognized by pretreatment of MMC in the peritoneal cavity 3 hours before i. p. inoculation of  $1 \times 10^4$  tumor cells. Peritoneal exudate cells (PEC) were decreased by MMC (5mg/kg) i. p. injection at 3 days. Macrophages of PEC were decreased about 30% by MMC i. p. injection at 3 hours. The peritoneal surface was observed after MMC treatment by scanning electron microscopy (SEM). Microvilli of the peritoneal surface were injured from 24 hours after MMC i. p. injection. These results suggest that immunological suppression in the peritoneal cavity and peritoneal surface tissue injury caused by pretreatment of MMC may play an important role in malignant potential.

### Index Terms

human gastric carcinoma, nude mouse, Mitomycin C (MMC), carcinomatous peritonitis, carcinoembryonic antigen (CEA)

### I. 緒 言

胃癌の再発形式のなかで腹膜播種性転移の頻度は最も

高く、ひとたび癌性腹膜炎を呈するとその治療に難渋する  
場合が多い。腹膜播種性転移の予防や治療のために抗  
癌剤や免疫療法剤を腹腔内投与したり、温熱療法を併用

し有効例も報告されているが、ヒトの癌を用いた基礎的研究の報告は少なく、癌性腹膜炎の実験モデルの開発が必要である。

ヌードマウスへの悪性腫瘍の移植系は、1969年に Rygaard & Povlsen<sup>1)</sup>により初めて報告されて以来、in vivo における優れた培養系として確立され、教室ではこれまでに約200例におよぶヒト胃癌の移植を行いその生物学的特性に関する成績を報告してきた<sup>2)~5)</sup>。

胃癌の腹膜播種性転移成立の機序は、癌の進展に伴う胃漿膜面からの癌細胞の露出、脱落、腹腔内散布、腹膜面への浸潤、着床、増殖の過程があり、着床時点での抗癌剤の影響を研究した報告は少ない。

本論文は教室において樹立したヌードマウス可移植性ヒト胃癌株(NS-8)を用い、ヌードマウスの腹腔内移植による癌性腹膜炎モデルの作製を試み、この実験モデルを用いて形態学的、病理組織学的検索、Carcinoembryonic Antigen(CEA)の測定により、この実験モデルを確立させた。さらにMitomycin C(MMC)による悪性増殖能に及ぼす影響について検討し、若干の知見を得たので報告する。

## II. 実験材料および方法

### 1. 実験動物

動物は、BALB/c系AJCl-nuヌードマウス、5~6週

齢、雄を用いた。飼育方法はspecific pathogen free (SPF)条件下のクレアトロン(田葉井製作所)内で行った。飼料はCL-2固形飼料(放射線滅菌飼料)を用い、飲料水と飼育箱はオートクレイブで滅菌して使用した。

### 2. 移植腫瘍および腹腔内移植方法

腹腔内移植に用いたヌードマウス皮下継代移植ヒト胃癌株、14株について移植株の由来をTable 1に示した。移植腫瘍の大きさを計測し、長径(mm)と短径(mm)の積が100 mm<sup>2</sup>に發育した時点で皮下腫瘍を摘出し、従来の方法によりトリプシン溶液で消化を行いトリプシン除去後、Eagle氏MEM溶液で洗浄し、腫瘍細胞浮遊液を作製した。浮遊液中の腫瘍細胞は、トリパンブルー色素排除テストにて90%以上の生存を確認後、白血球算定板で算出し1×10<sup>6</sup>個/0.2 mlに調整した。その細胞浮遊液0.2 mlを23ゲージの注射針にてヌードマウスの腹腔内に移植した。14株より作製した腫瘍細胞浮遊液の腹腔内移植成績をTable 2に示した。癌性腹膜炎や肝転移の発生頻度は低分化腺癌において高く、特にNS-8は癌性腹膜炎が100%、肝転移が67%と高頻度に認められ、本実験モデルに用いた。なおNS-8はCEA産生の胃低分化型腺癌であり、本実験では皮下継代32代目以後の腫瘍を用いた。

### 3. NS-8癌性腹膜炎モデルの作製

(1). 腫瘍細胞数と腹腔内腫瘍増殖能との関係

Table 1. Details of tumor lines derived from human gastric carcinoma used for intraperitoneal transplantation of tumor cell suspension into nude mice

	Tumor line	Patient data				Tumor** source
		Age	Sex	Stage	Histology*	
1	NS-2	67	M	IV	sig	LN
2	NS-3	72	M	III	por	P
3	NS-4	61	F	III	por	P
4	NS-5	45	F	IV	por	LN
5	NS-6	73	M	III	muc	P
6	NS-7	56	M	IV	tub	H
7	NS-8	67	F	IV	por	P
8	NS-9	81	M	III	por	P
9	NS-13	62	F	I	pap	P
10	NS-19	50	M	III	pap	LN
11	NS-21	74	M	II	tub	P
12	NS-25	72	M	IV	tub	LN
13	NS-26	59	M	IV	tub	LN
14	NS-28	62	M	IV	tub	P

\* pap: papillary adenocarcinoma, muc: mucinous adenocarcinoma

tub: tubular adenocarcinoma, sig: signet-ring cell carcinoma  
por: poorly differentiated adenocarcinoma

\*\*P: primary, H: liver, LN: lymph node

Table 2. Transplantability of i. p. transplantation

Tumor line	No. of mice with carcinomatous peritonitis /No. of treated mice (%)	No. of mice with liver nodules /No. of treated mice (%)
1 NS-2	0/11 (0)	0/11 (0)
2 NS-3	2/6 (33)	2/6 (33)
3 NS-4	1/6 (17)	0/6 (0)
4 NS-5	1/2 (50)	1/3 (33)
5 NS-6	0/2 (0)	0/2 (0)
6 NS-7	0/4 (0)	0/4 (0)
7 NS-8	6/6 (100)	4/6 (67)
8 NS-9	1/6 (17)	1/6 (17)
9 NS-13	0/2 (0)	0/2 (0)
10 NS-19	0/3 (0)	1/3 (33)
11 NS-21	0/5 (0)	0/5 (0)
12 NS-25	0/4 (0)	0/4 (0)
13 NS-26	1/4 (25)	1/4 (25)
14 NS-28	1/4 (25)	0/4 (0)

腫瘍細胞数を  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ 個/0.2 ml に調節し腹腔内に移植した。マウスは週2回観察し、腹部腫瘤や腹水の有無を観察した。腹腔内移植91日後に全てのヌードマウスを屠殺し、腹腔内の各部位(肝十二指腸靱帯、腹膜、横隔膜、大網、腸間膜、ダグラス窩、肝など)別に腫瘍の増殖状態、腫瘍結節数、大きさを観察した。

#### (2). 腹腔内移植後の腹腔内腫瘍増殖の経時的変化

腫瘍細胞数を  $1 \times 10^6$ 個/0.2 ml に調節し腹腔内移植2週、4週、8週、10週後にそれぞれ屠殺し、腹腔内の各部位別に腫瘍の増殖状態、腫瘍結節数、大きさを観察した。

#### 4. MMC 腹腔内投与における腹腔内および血漿 MMC 濃度の経時的変化

MMC 腹腔内投与(以下 ip)後の腹腔内および血漿 MMC 濃度の経時的変化を観察するために MMC 5 mg/kg/0.2 ml を ip し、15分、30分、1時間、2時間、3時間、6時間後にそれぞれ各群のマウスに生理食塩水 5 ml を ip して可能な限りの腹腔内貯留液を回収し、同時に屠殺、採血した。腹腔洗浄液は遠沈(1000 rpm, 5分間)後上清を採取、血液も遠沈(3000 rpm, 15分間)し血漿を採取した。MMC 濃度の測定は Bioassay 法<sup>9)</sup>にて行った。

5. NS-8 皮下継代腫瘍に対する MMC 感受性の検討  
NS-8 皮下継代腫瘍に対する皮下移植前後の MMC ip の影響を調べるため、皮下移植をする3時間前あるいは3時間後に MMC 5 mg/kg をマウスに ip し、ip しない対照群とともに腫瘍の発育を比較した。なお MMC の投与量は近藤ら<sup>7)</sup>によるヌードマウスを用いた抗癌剤感受性試験の研究から MMC の至適投与量 6 mg/kg

(LD<sub>50</sub> 11.7 mg/kg)を参考にして決定した。なお皮下移植方法および移植腫瘍の計測は従来の方で行った。

#### 6. NS-8 癌性腹膜炎モデルにおける MMC 腹腔内投与の影響

##### (1). MMC の腹腔内投与時期の差による影響

##### a). 腹腔内移植前後における MMC 5 mg/kg 腹腔内投与の影響

腫瘍細胞数を  $1 \times 10^6$ 個/0.2 ml に調整し、腹腔内移植する3時間前または3時間後に MMC 5 mg/kg を ip し、ip しない対照群と比較した。各群ともヌードマウスのいずれかが瀕死の状態になった時点で全てのマウスを屠殺し、腹腔内の各部位別に腫瘍の増殖状態、腫瘍結節数と大きさを観察した。

##### b). 腹腔内移植前後における MMC 1 mg/kg 腹腔内投与の影響

MMC の濃度を 1 mg/kg に減量した場合について検討した。腫瘍細胞浮遊液を移植91日後に全てのマウスを屠殺し、腹腔内の各部位別に腫瘍の増殖状態、腫瘍結節数と大きさを観察した。

##### (2). 移植腫瘍細胞数減少時の MMC 腹腔内投与の影響

腫瘍細胞数を  $1 \times 10^6$ 個/0.2 ml に調整し、腹腔内移植する3時間前または3時間後に、MMC 5 mg/kg を ip した。腹腔内移植91日後に全てのマウスを屠殺し、腹腔内各部位別に腫瘍の増殖状態、腫瘍結節数と大きさを観察した。

##### 7. MMC 腹腔内投与による PEC(腹腔浸出細胞: peritoneal exudate cells)の経時的変化

MMC の腹腔内免疫担当細胞に及ぼす影響を調べるため MMC 5 mg/kg を ip し、3時間、24時間、3日、8



増殖した腫瘍組織像のうち、横隔膜の腫瘍増殖像を Plate 3 に、腸間膜の腫瘍増殖像を Plate 4 に、大網の腫瘍増殖像を Plate 5 に示した。Plate 6 に示された肝転移像に関しては肝表面に着床した腫瘍が増殖したのではなく、明らかに血行性に転移した像を呈していた。これらの腫瘍の病理組織像は、本来の原発腫瘍は低分化優位の腺癌であったが、ヌードマウスの皮下で継代維持していく間に中分化型管状腺癌が優位の組織型に変化した皮下継代移植腫瘍の像と同様の形態を示した。

## 2. NS-8 腹腔内腫瘍増殖の経時的変化

$1 \times 10^6$ 個の腫瘍細胞数を腹腔内移植し、経時的な腫瘍結節の発生頻度を Table 5 に、腫瘍結節数の中央値を Table 6 に示した。移植 2 週後には既に腹膜に 1/4、肝十二指腸靱帯に 3/4、大網に 2/4 の腫瘍増殖を認めているがこの時点での各部位の腫瘍結節数の中央値が 0-1 個と少なく、経時的に各部位の腫瘍増殖の増加が認められ、6 週後には横隔膜での増殖や肝転移も観察された。

## 3. MMC 腹腔内投与後の腹腔内および血漿 MMC 濃度の変化

### (1). 腹腔内 MMC 濃度の経時的変化

MMC 5 mg/kg をヌードマウスに ip 後、腹腔内 MMC 濃度の経時的変化を Fig. 1 に示した。15 分後の MMC 濃度は  $3.29 \mu\text{g/ml}$  で、その後急速に低下し 60 分後には  $0.035 \mu\text{g/ml}$  に、120 分後には  $0.013 \mu\text{g/ml}$  まで低下した。3 時間後には測定限界 ( $0.0063 \mu\text{g/ml}$ ) 以下となり測定不能となった。

### (2). 血漿 MMC 濃度の経時的変化

MMC 5 mg/kg を ip 後、血漿 MMC 濃度の経時的変化を Fig. 2 に示した。15 分後には既に  $0.30 \mu\text{g/ml}$  まで上昇し、その後急速に低下し 60 分後には  $0.075 \mu\text{g/ml}$  まで低下した。120 分後には測定限界 ( $0.016 \mu\text{g/ml}$ ) 以下になり測定不能となった。

## 4. NS-8 皮下継代腫瘍に対する MMC 感受性

MMC 5 mg/kg を ip 後、NS-8 皮下移植腫瘍の経時

Table 4. Median number of metastatic nodules after i. p. transplantation of the tumor cells in nude mice

No. of tumor cells	Observation period (days)	Peritoneum	Diaphragma	Mesenterium	Hepatoduodenal ligament	Large omentum	Liver
$1 \times 10^6$	91	4(0-9)*	1(0-2)	6(3-100<)	3(1-15)	5(2-8)	2(0-8)
$1 \times 10^5$	91	1(0-3)	1(0-2)	2(0-5)	1(0-1)	2(0-5)	2(0-2)
$1 \times 10^4$	91	0(0-1)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)
$1 \times 10^3$	91	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)	0(0-0)

\*: Range

Table 5. Incidence of the tumor growth after i. p. transplantation of  $1 \times 10^5$  tumor cells in nude mice

Week after i. p. transplantation	Peritoneum	Diaphragma	Mesenterium	Hepatoduodenal ligament	Large omentum	Liver
2	1/4	0/4	0/4	3/4	2/4	0/4
4	2/4	0/4	3/4	4/4	3/4	0/4
6	1/4	2/4	0/4	4/4	2/4	1/4
8	1/4	1/4	1/4	3/4	4/4	2/4
10	3/4	3/4	0/4	3/4	4/4	3/4

Table 6. Median number of metastatic nodules after i. p. transplantation of  $1 \times 10^5$  tumor cells in nude mice

Week after i. p. transplantation	Peritoneum	Diaphragma	Mesenterium	Hepatoduodenal ligament	Large omentum	Liver
2	0(0-1)*	0(0-0)	0(0-0)	1(0-3)	0(0-1)	0(0-0)
4	0(0-3)	0(0-0)	1(0-2)	2(1-2)	1(0-4)	0(0-0)
6	0(0-4)	0(0-1)	0(0-0)	2(1-3)	1(0-2)	0(0-1)
8	0(0-1)	0(0-2)	0(0-3)	1(0-2)	4(1-7)	2(0-4)
10	7(0-8)	1(0-1)	0(0-0)	3(0-4)	4(1-9)	2(0-4)

\*: Range

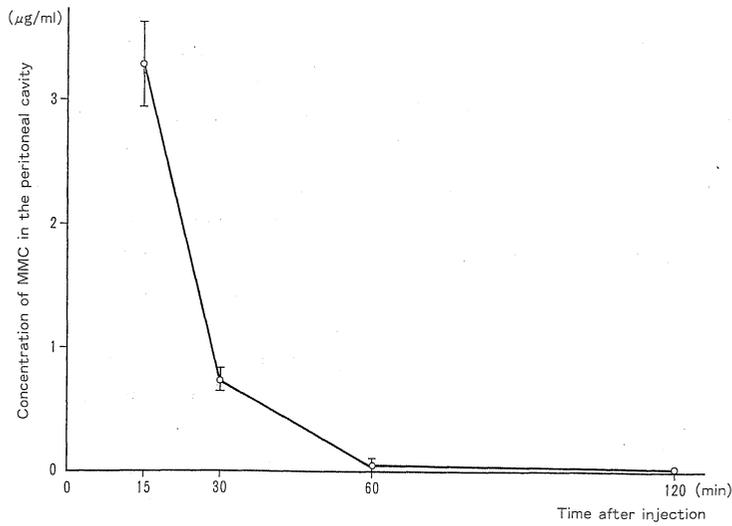


Fig. 1. Chronological change of concentration of MMC in the peritoneal cavity after intraperitoneal injection of MMC (5mg/kg).

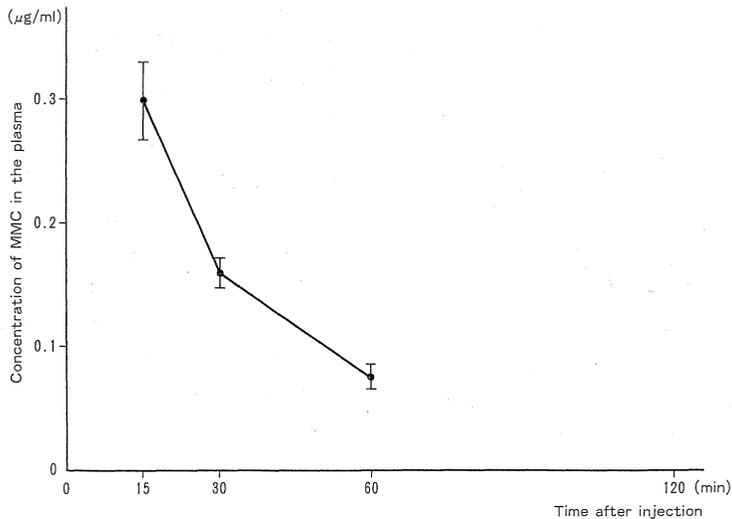


Fig. 2. Chronological change of concentration of MMC in the plasma after intraperitoneal injection of MMC (5mg/kg).

的な腫瘍重量を Fig. 3 に示した。対照群は 42 日後に腫瘍重量は  $819.8 \pm 212.0$  mg に達したのに比べ、MMC 5 mg/kg を皮下移植する 3 時間前に ip した群では  $267.0 \pm 107.4$  mg で、3 時間後に ip した群では  $355.7 \pm 250.1$  mg とどちらも有意に腫瘍増殖の抑制効果を認めた ( $P < 0.01$ )。NS-8 皮下継代腫瘍は MMC に感受性があることが確認され、MMC の投与時期による差は認めなかった。

#### 5. NS-8 癌性腹膜炎モデルにおける MMC 腹腔内投

与の影響

(1). 腹腔内移植前後における MMC 5 mg/kg 腹腔内投与の影響

NS-8 腫瘍細胞浮遊液を腹腔内移植する前後に MMC 5 mg/kg を ip した成績を Table 7 に示した。  $1 \times 10^6$  個の腫瘍細胞数を腹腔内移植する 3 時間前に MMC 5 mg/kg を ip した群では、腹腔内の各部位での腫瘍増殖や癌性腹水の貯留、肝転移の頻度が増強し、対照群と比較して悪性増殖能が増強していた。観察期間は瀕死の状

態になった 51 日後に屠殺し対照群が瀕死の状態になった 91 日後に比べ著明に生存期間が短縮した。3 時間後に MMC 5 mg/kg を ip した群では、対照群と比較して腹腔内の各部位での腫瘍増殖や癌性腹水の貯留、肝転移の頻度が低下した。さらに観察期間は瀕死の状態になった 130 日後に屠殺し対照群と比較して著明に生存期間が延長した。

(2). 腹腔内移植前後における MMC 1 mg/kg 腹腔内

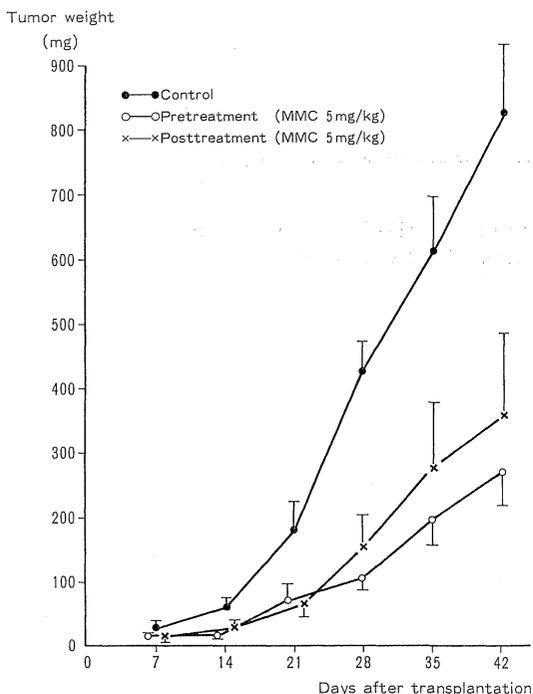


Fig. 3. Effect of Mitomycin C on the tumor growth of s. c. transplanted tumor in nude mice.

投与の影響

次に MMC 濃度を下げても同様な効果が観察できるかを確認するために MMC 1 mg/kg で追試した (Table 7). 観察期間は対照群の屠殺時と同じ時期で比較検討するため 91 日後に全てのマウスを屠殺した。腹腔内移植する 3 時間前に MMC 1 mg/kg を ip した群では、腹腔内の各部位に腫瘍増殖および癌性腹水の貯留を認めた。3 時間後に MMC 1 mg/kg を ip した群では対照群と比較して腫瘍増殖が低下した。MMC 1 mg/kg 投与の場合にも 5 mg/kg 投与と同様に MMC の前投与により悪性増殖能の増強が観察された。

(3). 移植腫瘍細胞数減少時における悪性増殖能への影響

本実験モデルの癌性腹膜炎成立に必要な腫瘍細胞数は  $1 \times 10^5$  個以上であるが、腫瘍細胞数を  $1 \times 10^4$  個に減少させた場合の悪性増殖能への影響を Table 8 に示した。  $1 \times 10^4$  個の腫瘍細胞数を腹腔内移植する 3 時間前に MMC 5 mg/kg を ip した群は、対照群に比べ、腸間膜、肝十二指腸靱帯、大網などで僅かではあるが腫瘍増殖が増強し、癌性腹水の貯留も観察された。3 時間後に MMC 5 mg/kg を ip した群では、全てにおいて腫瘍増殖や癌性腹水の貯留は観察できなかった。腫瘍細胞数減少時でも変化は僅かであるが、MMC 前投与により悪性増殖能の増強が観察された。

6. MMC 腹腔内投与による腹腔内免疫系への影響

MMC ip 後の PEC 数の経時的変化を Fig. 4 に示した。全 PEC 数は  $44.3 \pm 3.2 (\times 10^5)$  個から 3 日後に  $11.7 \pm 4.0 (\times 10^5)$  個と約 30% にまで減少、その後徐々に回復がみられた。PEC 内の macrophage 数は  $15.5 \pm 7.6 (\times 10^5)$  個から 3 時間後に既に  $4.3 \pm 3.2 (\times 10^5)$  個と約 30% に減少、その後徐々に回復した。

Table 7. Effect of Mitomycin C on the incidence of the tumor growth of i. p. transplanted  $1 \times 10^6$  tumor cells in nude mice

Treatment	Observation period (days)	Ascites	Peritoneum	Diaphragma	Mesenterium	Hepataduodenal ligament	Large omentum	Liver
None	91	2/5	3/5	2/5	5/5	5/5	5/5	2/5
Pretreatment <sup>1)</sup>								
MMC (5mg/kg)	51	5/5*	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
MMC (1mg/kg)	91	5/5*	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
Posttreatment <sup>2)</sup>								
MMC (5mg/kg)	130	0/5	3/5	1/5	1/5	0/5	1/5	0/5
MMC (1mg/kg)	91	0/5	0/5	1/5	0/5	1/5	1/5	0/5

1) MMC was injected in the peritoneal cavity 3 hours before i.p. inoculation of tumor cells.

2) MMC was injected in the peritoneal cavity 3 hours after i.p. inoculation of tumor cells.

\*: Significant differences were observed between pretreatment group and posttreatment group, pretreatment group and control group. ( $P < 0.05$ , by  $\chi^2$  test)

Table 8. Effect of Mitomycin C on the incidence of the tumor growth of i. p. transplanted  $1 \times 10^4$  tumor cells in nude mice

Treatment	Observation period (days)	Ascites	Peritoneum	Diaphragma	Mesenterium	Hepatoduodenal ligament	Large omentum	Liver
None	91	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Pretreatment <sup>1)</sup>								
MMC (5mg/kg)	91	1/5	1/5	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5
Posttreatment <sup>2)</sup>								
MMC (5mg/kg)	91	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

1) MMC was injected in the peritoneal cavity 3 hours before i.p. inoculation of tumor cells.

2) MMC was injected in the peritoneal cavity 3 hours after i.p. inoculation of tumor cells.

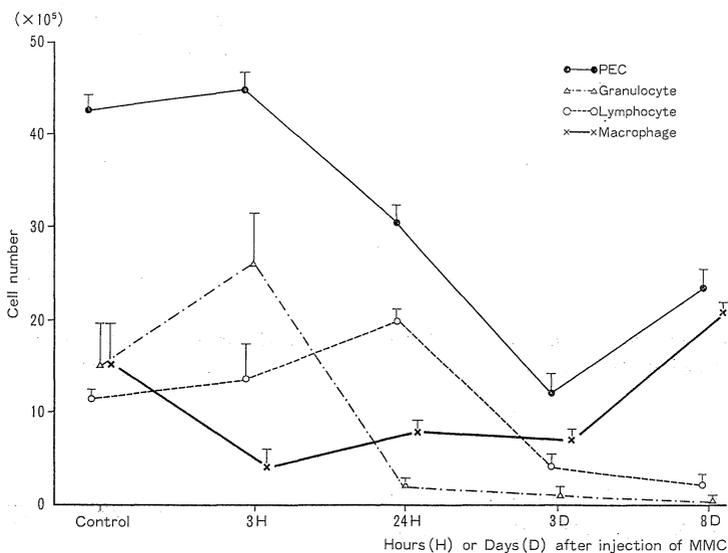


Fig. 4. Chronological changes of the number of PEC and its contents after intraperitoneal injection of MMC (5mg/kg) in nude mice.

#### 7. MMC 腹腔内投与による腹膜組織への影響

##### (1). 光学顕微鏡による腹膜組織の観察

MMC 5 mg/kg を ip し、光顕下に腹膜組織像を観察した。3 時間後からごく軽度の炎症性細胞浸潤が認められたが、明らかな細胞障害を認めなかった。

##### (2). 走査型電子顕微鏡による腹膜組織の観察

MMC 5 mg/kg を ip し腹膜中皮細胞の経時的変化を走査電顕で観察した。1 時間後および 3 時間後では対照群と同様にあまり変化はみられなかった。対照群 3 時間後の電顕像を Plate 7 に示した。MMC を ip した群では 3 時間後の電顕像を Plate 8 に示した。24 時間後の像は Plate 9 に示すように microvilli の脱落や数の減少、長さの短縮といった形態的变化をごく軽度認めた。48 時間後の像は Plate 10 に示すようにさらに microvilli の脱落、減少、短縮が著明となり、7 日後にも 48 時間後の像

と比較しても同程度の所見が観察された。以上より、MMC 投与後には chemical peritonitis が惹起され、腹膜組織の障害が観察された。

#### 8. 血漿 CEA 値の経時的変化

##### (1). 腫瘍細胞数による血漿 CEA 値の変化

腫瘍細胞数を  $1 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  個/0.2 ml に調整し、腹腔内移植後の血漿 CEA 値の経時的変化を Fig. 5 に示した。 $1 \times 10^3$  個および  $1 \times 10^4$  個を腹腔内移植した際の血漿 CEA の平均値は移植 3 週後に 2 ng/ml 以下の正常値を示し、10 週後でも上昇しなかった。 $1 \times 10^5$  個では 3 週後は正常値であったが、10 週後に  $10.5 \pm 9.7$  ng/ml と軽度上昇を認めた。 $1 \times 10^6$  個では 3 週後は正常値を示したが、10 週後に  $83.4 \pm 79.8$  ng/ml と高値を示し、さらに屠殺時には  $938.8 \pm 1579.0$  ng/ml と著明な上昇を認めた。すなわち癌性腹膜炎の成立に必要な

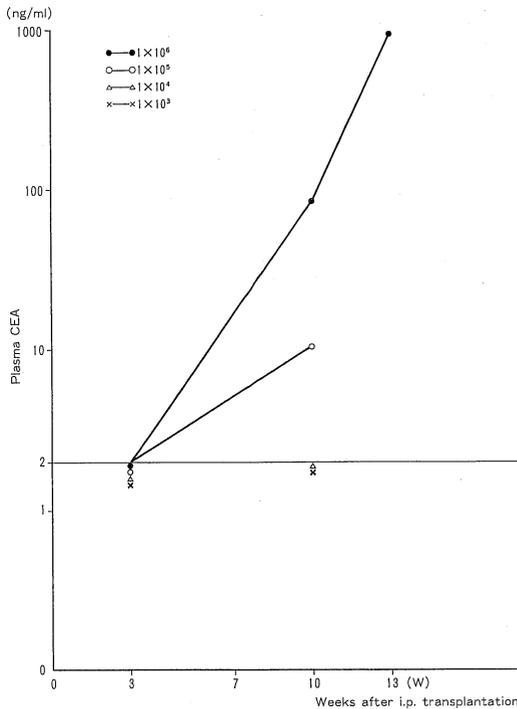


Fig. 5. Chronological change of plasma CEA level after i. p. transplantation of the tumor cells in nude mice.

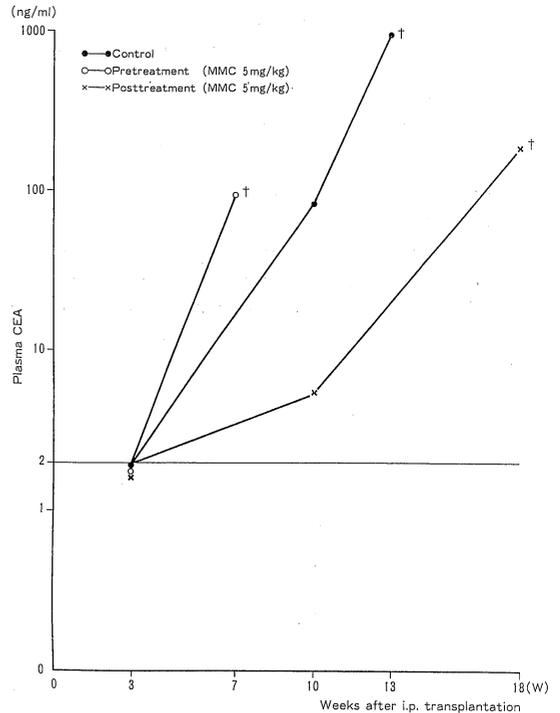


Fig. 6. Chronological change of plasma CEA level after i. p. transplantation in nude mice.

1 × 10<sup>5</sup>個以上の腫瘍細胞数を腹腔内移植すると血漿 CEA 値の上昇が認められ、しかも癌性腹膜炎の程度が増強すれば血漿 CEA 値が上昇する傾向にあることが観察された。

(2). NS-8 癌性腹膜炎モデルの血漿 CEA 値に及ぼす MMC 投与の影響

1 × 10<sup>6</sup>個の腫瘍細胞数を腹腔内移植する前後に MMC を ip した各群の血漿 CEA 値の経時的変化を Fig. 6 に示した。移植 3 週後では、各群とも血漿 CEA 値は 2 ng/ml 以下と正常値を示した。3 時間前に MMC 5 mg/kg を ip した群は、51 日後に瀕死の状態となり屠殺した。屠殺時の血漿 CEA 値は 93.6 ± 72.9 ng/ml と上昇し、対照群の 10 週後の 83.4 ± 79.8 ng/ml より高値を示した。対照群の屠殺時 91 日後の血漿 CEA 値は、938.8 ± 1579.0 ng/ml であった。一方、3 時間後に MMC 5 mg/kg を ip した群での 10 週後の血漿 CEA 値は 5.4 ± 6.4 ng/ml とごく軽度の上昇を認め、屠殺時の 130 日後でも 180.5 ± 225.9 ng/ml と対照群の屠殺時に比べ著明な低下を示した。

#### IV. 考 察

ヌードマウスを用いたヒト悪性腫瘍の移植系は 1969 年に Rygaard & Povlsen<sup>1)</sup>がヒトの大腸癌組織のヌードマウスへの移植継代に成功して以来、in vivo における優れた悪性腫瘍の培養系として注目されてきた。悪性腫瘍をヌードマウスの皮下に移植すると、境界明瞭な膨張性発育を示し転移することは少ない<sup>9)10)</sup>が、皮下の特定の部位<sup>11)</sup>や腹腔内<sup>12)~14)</sup>に移植することにより悪性増殖能が惹起され、高頻度に転移の発現が認められたと報告されている。胃癌に関しては Ueyama ら<sup>15)</sup>や Kuga ら<sup>16)</sup>の報告が最初で、その後 Takahashi ら<sup>12)</sup>により胃低分化腺癌の腹水型変換の成功例が報告され、ヒト胃癌のヌードマウスへの移植系が実験系として有用であることが示唆された。

実験動物を用いた癌性腹膜炎の研究はそれほど多くなく、宮越<sup>17)</sup>は ddN 系雄マウスを用い Ehrlich 腹水癌モデルを作製し、横隔膜腹膜下組織の変化を電顕にて観察し報告している。難波<sup>18)</sup>は白色家兎を用いて穿孔性腹膜炎モデルおよび Vx 2 腫瘍による癌性腹膜炎モデルを作製

し、電顕による横隔膜の超微形態学的変化の観察と播種した腫瘍細胞の横隔膜壁内進展形式について報告した。

ヌードマウスを用いた研究では、高尾<sup>19)</sup>らは<sup>60</sup>Co 400 radsの全身照射を施したヌードマウスにヒト胃癌由来SCK-8腫瘍細胞を腹腔内移植して癌性腹膜炎を作製し、癌性腹膜炎に対するCDDPの治療効果の研究を報告している。

実験モデルにおいて腹腔内移植された癌細胞が腹腔内播種性転移を発現する機序は、移植部位よりの遊離、浸潤、壁側腹膜や臓側腹膜への着床、増殖を経て播種巣を形成し、成立した播種巣表面から初回腹膜転移と同様にこぼれ落ちた癌細胞が近接臓器、さらに遠隔臓器にも播種性転移を起こしたり脈管周囲の癌細胞が脈管内への移行、管腔内移動、定着脈管外への逸出、転移巣での増殖などにより2次、3次の転移巣を形成して各段階を経て成立する<sup>20)</sup>と考えられる。本研究における癌性腹膜炎モデルでは、ヌードマウスの腹腔内は皮下と比べると血管も豊富で、腹腔内温度が腫瘍細胞の増殖に好適であるため、皮下と異なり安定した細胞増殖が行われる結果、浸潤性増生や転移形成に好影響をあたえると推察され<sup>21)</sup>、NS-8腫瘍細胞は腹腔内移植2週後に肝十二指腸韌帯、大網への着床、増殖が観察され、腸間膜、横隔膜などでの増殖を経て最終的には肝転移や癌性腹水を生じるという胃癌の腹膜播種性進展過程ときわめて類似した増殖進展を示すことが明かとなり、この点において癌性腹膜炎モデルとして有用であると考えられる。

胃癌の腹膜播種性転移は手術時の非治癒の要因として重要であるばかりでなく、治癒切除後の再発形式の中で最も頻度が高い。腹膜播種性転移は癌の末期的病態で、腹膜という広い面に癌が浸潤しており、外科的治療により根治的に治癒させることは困難である。北村ら<sup>22)</sup>は腹膜播種性転移陽性切除例の50%生存期間は $P_1$ で10.4か月、 $P_2$ で8.6か月、 $P_3$ で8.8か月、非切除例の50%生存期間は $P_1$ で3.0か月、 $P_2$ で4.1か月、 $P_3$ で4.4か月と予後不良であるが、非切除例であっても、化学療法を行った群は化学療法を行わなかった群に比較して有意に予後が良好であったと報告している。一方、S因子である胃癌の漿膜浸潤は腹膜播種性転移と密接な関係があり、予後を左右する最重要な因子の一つである。羽生ら<sup>23)</sup>によると組織学的深達度が漿膜下層までおよんだ胃癌切除例において、全切除例の5生率は49.1%であり、漿膜下層の浸潤幅が5 cm以上長い症例の5生率は19.8%と4 cm以下の短い症例の56.1%に比べ明らかに低いと報告している。漿膜面に広い癌浸潤を有する例は腹腔内遊離癌細胞が高頻度にみられ、遊離癌細胞陽性例は潜在性

の腹膜播種例であると考えられる。飯塚ら<sup>24)</sup>は $S_{0-1}$ では遊離癌細胞を認めなかったが、 $S_2$ で27%、 $S_3$ で65%の陽性率を示し、組織学的にse以上の症例については漿膜浸潤面積が20 cm<sup>2</sup>を越えると遊離癌細胞陽性率が急激に上昇し、20~30 cm<sup>2</sup>では59%に、30 cm<sup>2</sup>を越えると76%の高い陽性率を認め、遊離癌細胞が認められた例は生存率が有意に低かったと報告している。

胃癌の腹膜播種性転移の治療や腹膜再発予防のために、MMCを投与される場合がある。中島ら<sup>25)</sup>は腹膜播種を伴う胃切除症例で化学療法を併用しない場合、絶対非治癒切除例の3年生存率は0.8%、相対非治癒切除例では4%と予後不良であり、投与経路別の化学療法の効果を比較すると相対非治癒群ではMMC静注法が、絶対非治癒群ではMMCのipが有効であったと報告している。また田中ら<sup>26)</sup>や佐々木ら<sup>27)</sup>も漿膜浸潤陽性胃癌症例に対し、術中のMMC ipを行い生存率の改善を報告し、高橋ら<sup>28)</sup>は活性炭吸着MMCのipにより高い奏功率を報告している。

MMCは1956年に日本で開発されたベンゾキノ系抗癌剤で、作用機序は還元されたアルキル化剤がDNAの架橋形成を起こすことによりDNA合成を阻害すると考えられている。またキノ系抗癌剤はフリーラジカルを生成することが明かにされており、MMCにDNA切断作用も認められている<sup>6)29)30)</sup>。

MMCのip後の血中移行に関しては、腹腔内停滞時間が長く血中への移行は微量であるという報告もある<sup>29)</sup>が、原ら<sup>31)</sup>は癌性腹膜炎患者において腹腔内にMMCを1回投与するとすぐに血中に移行し30分後から1時間後に最高値に達し、除々に減少すると報告している。佐々木ら<sup>27)</sup>は漿膜浸潤胃癌の腹腔内にMMCを大量に投与すると血中濃度は10分後に最高値に達して120分後には痕跡程度に減少し、ipしたMMCの30%が10分以内に腹膜から速やかに吸収され血中に移行すると報告している。ヌードマウスにMMCをipした場合の血中および腹腔内濃度に関する報告は見あたらないが、本研究においてMMCはip後速やかに血中に移行し、腹腔内では3時間後に測定不能となった。血漿濃度は15分後に最高値となり、その後急速に減少し120分後には測定不能となった。

MMCの副作用としては大量投与した場合に食欲減退、嘔吐、下痢などの消化器症状や、白血球、血小板減少などの骨髄抑制があり、これらが主なdose limiting factorとなる<sup>32)</sup>。免疫系の障害としてOkabeら<sup>33)</sup>はマウスの脾および胸腺重量を減少させ、液性、細胞性免疫に影響を及ぼすことを報告し、岩本ら<sup>34)</sup>はMMCのマウスの免疫

系に及ぼす影響について、MMC 投与群は PEC が 1 日目に最も減少し 7 日目に正常域に回復したと報告しているが、本研究においては MMC をヌードマウスに ip すると PEC は 3 日目に最も減少し、その後徐々に回復がみられ、macrophage は MMC 投与 3 時間後に既に約 30% に減少し徐々に回復することが観察された。MMC の ip によりヌードマウスの免疫系に障害を及ぼしていることが示されたが、MMC の前投与により悪性増殖能が増強されることと免疫系の障害が直接関与しているかどうかは今後さらに詳細な検討が必要と思われる。

MMC 投与後の腹膜組織を顕微鏡で観察すると、明かな腹膜組織障害は観察できなかった。ヌードマウスの腹膜表面の形態を走査電顕により詳細に観察した報告は、著者の確認し得た範囲では見あたらない。Birbeck ら<sup>35)</sup>は BALB/c マウスにおいて Ehrlich 腹水癌細胞移植後の腹膜播種における癌細胞の着床初期像を透過電顕で観察し、転移のある腹膜の漿膜細胞欠損部に一致して癌細胞が着床すると報告している。また宮越<sup>17)</sup>は Ehrlich 腹水癌細胞を用いてマウスの横隔膜腹腔面の変化を透過電顕で経時的に観察し、腹膜中皮細胞に小型球形化、細胞相互の連結離開、剝離などの所見が観察されたと報告している。腹膜の抗癌剤による障害に関して黒川ら<sup>36)~38)</sup>は DDN 系マウスを用い MM<sub>2</sub> 腹水腫瘍細胞による癌性腹膜炎モデルを作製し、Adriamycin, Carboquone, OK-432, Cis-platinum, FT-207 などの薬剤の ip 後の変化を走査電顕で観察しており CDDP の ip により初期に chemical peritonitis が惹起され、続いて腫瘍細胞の変形や崩壊がみられたと報告している。本研究において MMC ip 後の腹膜中皮細胞の形態的变化を走査電顕により経時的に観察すると、24 時間後より腹膜中皮細胞自由表面の microvilli の脱落、数の減少、長さの短縮といった MMC の ip による chemical peritonitis が惹起され、腹膜組織障害を観察した。抗癌剤による腹膜中皮細胞の障害に関しては著者の報告<sup>39)</sup>以外あまりない。

CEA は 1965 年に Gold & Freedmann<sup>40)</sup>によって大腸癌組織から抽出された糖蛋白で大腸癌に対する特異抗原であると報告され、その後 Radioimmunoassay 法により微量測定が可能となり、各種疾患の患者血清から増加することが判明した<sup>41)42)</sup>。胃癌患者の血漿 CEA 値について江崎ら<sup>42)</sup>の検索では患者の約 30% に上昇がみられ、胃癌の進行度や癌腫の大きさに関連して陽性率が上昇したと報告している。藤田ら<sup>43)</sup>は担癌ヌードマウス血漿中のヒト CEA 値の研究において腫瘍重量の増加と強い相関をもって血漿 CEA 値は増加し、低分化型胃癌の担癌マウスの検索で腫瘍重量が体重の 1% に達すると血漿

CEA 値が 5 ng/ml 以上を示すものが出現し、2% を越えるとほとんどのものが 5 ng/ml 以上になったと報告している。また江崎<sup>44)</sup>はヌードマウスに移植された CEA 産生胃癌は形態のみならず CEA 産生という機能面でもその特性が維持され、組織内で産出された CEA は血中に腫瘍の大きさに相関して放出され、移植腫瘍は CEA が癌腫の成長を示す marker と成りうることから抗癌剤感受性試験の研究に用いることができると述べている。本研究においても MMC 前投与した群では癌性腹膜炎の進展に伴い血漿 CEA 値の急激な上昇が観察されたが、MMC 後投与した群では 10 週目の時点でも血漿 CEA 値はごく僅かしか上昇せず、屠殺時においても対照群に比較して低値を示した。癌性腹膜炎モデルにおいて、悪性増殖能の程度が血漿 CEA 値の上昇に反映されることが観察された。

本実験モデルに用いた NS-8 は CEA 産生株であり腫瘍細胞腹腔内移植後の経時的な観察により、腹腔内での腫瘍の増殖進展の状態をマウスを開腹手術することなく推測でき、しかもマウスの尾静脈よりの採血は一匹のマウスから繰り返し行うことができるのが最大の利点であると考えられる。

臓器の障害が腫瘍増殖や転移に及ぼす影響に関しては Dao ら<sup>45)</sup>は片側の肺に放射線を照射後ラットの尾静脈より腫瘍細胞浮遊液を注入し、形成される肺転移結節数を調べたところ照射側の肺転移の増加を報告し、Orr ら<sup>46)</sup>も Bleomycin による肺内皮細胞の障害が実験的肺転移の増強を促進したと報告している。澤田<sup>47)</sup>はヌードマウス可移植性ヒト胃癌株の脾臓内移植による肝転移モデルにおいて、四塩化炭素による急性肝障害が実験的肝転移を促進すると報告している。

漿膜浸潤胃癌は、肉眼的に明らかな腹膜転移が観察されない場合にも微小腹膜転移や腹腔内遊離癌細胞が陽性になる頻度が高いが、腫瘍細胞が腹膜組織に着床する前後における抗癌剤の影響を調べた報告は見あたらない。本実験において、MMC 前投与する状況は遊離癌細胞が存在しないときに抗癌剤を投与する場合は、MMC 後投与する状況は腹腔内に遊離癌細胞が存在するときに抗癌剤を投与する状況を想定している。実験の結果、ヌードマウス可移植性ヒト胃癌株から作製した腫瘍細胞浮遊液を腹腔内移植する 3 時間前に MMC を ip することにより、腹腔内での腫瘍の悪性増殖能が増強することが観察され、しかも MMC は ip 後速やかに血中に移行し 3 時間後には腹腔内の MMC 濃度は測定限界以下であった。dose dependent な抗癌剤である MMC を 5 mg/kg から 1 mg/kg に減量しても同様な結果を得た。さらに腹

腔内に移植する腫瘍細胞数を腹膜播種性転移が発生しない $1 \times 10^6$ 個に減少させても、ごく僅かであるがMMCの前投与により悪性増殖能の増強が観察された。ベンゾキノロン系の抗癌剤であるMMCは腹腔内局所にフリーラジカルを発生させる可能性があり、腹膜組織にchemical peritonitisが惹起され障害を起こすと考えられる。本研究において、ヌードマウスの腹腔内にMMC前投与すると走差電顕で腹膜中皮細胞の障害が観察され、腫瘍細胞の着床が容易となり悪性増殖能が増強したと推察される。MMC後投与の場合は腹膜組織に障害が発生してもNS-8腫瘍細胞にはMMCに対する感受性があるため腫瘍細胞への直接の障害により増殖が抑制され、癌性腹膜炎を生じるのに十分な腫瘍細胞が存在しなかったものと考えられた。臨床的には癌性腹膜炎患者の腹腔内に抗癌剤を用いる場合が多いが、抗癌剤による腹腔内局所の免疫系の障害や腹膜組織障害が惹起される可能性があると考えられる。以上の点からヌードマウスの皮下に継代維持されたヒト胃癌株を用いた癌性腹膜炎モデルは、ヒト胃癌の腹膜播種性転移の機序や癌性腹膜炎の新しい治療の開発に有用な情報を与える可能性のモデルであると考えられ、ヒト胃癌の腹膜播種性転移の成立や進展に及ぼすMMCの影響に関する基礎的な情報を与え、癌性腹膜炎に対する抗癌剤の腹腔内投与の効果を判定する有用な実験システムであると考えられる。今後癌性腹膜炎の治療や予防法を開発するにあたり、腹膜播種性転移促進の機序を解明することはさらに研究を要する課題であると思われる。

## V. 結 語

ヌードマウス可移植性ヒト胃癌株(NS-8)の腹腔内移植による癌性腹膜炎モデルを作製し、腹腔内悪性増殖能およびMMC腹腔内投与の影響について検索し、以下の結果を得た。

1. 本実験モデルにおいて癌性腹膜炎が成立するのに必要な腫瘍細胞数は、 $1 \times 10^6$ 個以上である。
2.  $1 \times 10^6$ 個以上の腫瘍細胞数を腹腔内移植すると、移植2週後には既に肝十二指腸靱帯、大網を中心に腫瘍の増殖がみられ、その後腸間膜、横隔膜などでも腫瘍増殖が観察され、最終的には肝転移や癌性腹水の貯留が認められた。
3. ヌードマウスにMMC 5 mg/kgをipすると、腹腔内のMMC濃度は急速に減少し3時間後には測定限界以下になった。血漿中のMMC濃度は急速に上昇し15分後に最高値に達したが、120分後には測定限界以下に減少した。

4. NS-8皮下移植腫瘍の発育に及ぼすMMCの影響をみると、皮下移植の3時間前あるいは3時間後にMMC 5 mg/kgをipするとどちらも腫瘍増殖を有意に抑制し( $P < 0.01$ )MMCに感受性を示したが、両者間の差はみられなかった。

5. 腫瘍細胞数を $1 \times 10^6$ 個に調整し腹腔内移植する3時間前にMMC 5 mg/kgをipすると、生存期間が短縮し癌性腹水の貯留や腹腔内各部位の腫瘍増殖が増加した。3時間後にMMCをipすると生存期間が延長し癌性腹水の貯留を認めず、腹腔内各部位の腫瘍増殖が減少した。MMCを1 mg/kgに減少しても、3時間前投与により悪性増殖能の増強と3時間後投与により悪性増殖能の抑制が観察された。

6. 癌性腹膜炎が成立するのに必要な腫瘍細胞数は $1 \times 10^6$ 個以上であるが、腫瘍細胞数を $1 \times 10^6$ 個に減少させた場合においても、MMC 5 mg/kgの3時間前投与により僅かではあるが、悪性増殖能の増強が観察された。

7. MMC 5 mg/kgをipするとPEC数、macrophage数の減少がみられ、腹腔内局所での免疫系の障害が観察された。

8. MMC 5 mg/kgをipすると光顕下では腹膜組織障害は観察されなかった。走差電顕下では24時間後からmicrovilliの脱落、数の減少、長さの短縮といったchemical peritonitisによる腹膜中皮細胞の障害が観察された。

9. ヌードマウスの尾静脈より採血した血漿CEA値は癌性腹膜炎の程度を反映していた。 $1 \times 10^6$ 個の腫瘍細胞数を腹腔内移植する3時間前にMMC 5 mg/kgをipした群は癌性腹膜炎の進展に伴い血漿CEA値の急激な上昇がみられ、51日後の屠殺時の血漿CEA値は対照群の10週後より上昇した。3時間後にipした群は10週後でも血漿CEA値がごく僅かしか上昇せず、130日後の屠殺時においても対照群に比べ著明な低値を示した。マウスの尾静脈より経時的に採血し血漿CEA値を測定することにより、癌性腹膜炎の程度を推定することが可能であった。

(本研究の要旨は、第90回日本外科学会総会、第49回日本癌学会総会、第76回日本消化器病学会総会、第56回胃癌研究会で発表した。本研究は、厚生省がん研究助成金(63・2)の支援を受けた。稿を終えるにあたり、本研究の機会と御校閲、御指導を賜った恩師中野博重教授に深甚の謝意を捧げるとともに、御校閲、御指導を賜ったがんセンター腫瘍病理小西陽一教授ならびに御校閲を賜った第三内科辻井 正教授に心から感謝いたします。また

本研究を援助して下さった教室ならびに腫瘍病理学教室の諸兄姉に感謝の意を表します。

MMC濃度測定をしていただいた協和メデックス株式会社富士工場分析センターならびに走差電顕の協力をしていただいた協和安全性研究所池上次郎主任研究員に感謝いたします。)

## 文 献

- 1) **Rygaard, J. and Povlsen, C. O.** : Heterotransplantation of a human malignant tumor to nude mice. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **77** : 758, 1969.
- 2) **Nakatani, K., Takahashi, S., Shiratori, T. and Konishi, Y.** : Heterotransplantation of human gastric carcinomas into nude mice. *World J. Surg.* **3** : 641, 1979.
- 3) 宮城信行 : ヌードマウスにおけるヒト胃癌100症例の移植成績および印環細胞癌の移植系の樹立について. *奈医誌.* **34** : 289, 1983.
- 4) 渡辺明彦 : ヌードマウスに移植したヒト胃癌の発育態度と患者の予後. *奈医誌.* **38** : 600, 1987.
- 5) 中谷勝紀, 宮城信行, 渡辺明彦, 西和田 敬, 澤田秀智, 奥村 徹, 山田行重, 矢野友昭, 志野佳秀, 中野博重 : ヌードマウスでのヒト胃癌の悪性増殖. *日癌治.* **26** : 579, 1991
- 6) 藤田 浩 : マイトマイシン類. *Pharma Medica* **3** : 118, 1985.
- 7) 近藤達平, 今泉宗久, 田口鐵男, 阿部令彦, 服部孝雄, 涌井 昭, 北野司久 : ヌードマウスを用いた制癌剤感受性試験の効果判定基準に関する研究. *癌と化学療法* **14** : 680, 1987.
- 8) 瀬戸 光, 二谷立介, 柿下正雄, 利波修一, 安井正一, 稲垣晶一, 水木敏雄, 河西由美子 : モノクローナル抗体を使用したCEAキット「CEA・RIABEAD」による血中CEAの測定-基礎的・臨床的検討とポリクローナル抗体キットとの比較. *医学と薬学* **11** : 1641, 1984.
- 9) **Sharkey, F. E. and Fogh, J.** : Metastasis of human tumors in athymic nude mice. *Int. J. Cancer* **24** : 733, 1979.
- 10) 玉置憲一 : ヌードマウスと人癌. *医学のあゆみ* **136** : 393, 1986.
- 11) **Kyriazis, A. A. and Kyriazis, A. P.** : Preferential sites of growth of human tumors in nude mice following subcutaneous transplantation. *Cancer Res.* **40** : 4509, 1980.
- 12) **Takahashi, S., Konishi, Y., Nakatani, K., Inui, S., Kojima, K. and Shiratori, T.** : Conversion of a poorly differentiated human adenocarcinoma to ascites form with invasion and metastasis in nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.* **60** : 925, 1978
- 13) 中谷勝紀, 宮城信行, 江崎友通, 白鳥常男 : ヌードマウスでのヒト胃癌の腹水型変換とこれを用いた制癌剤感受性試験. *最新医学* **37** : 1450, 1982.
- 14) 中谷勝紀, 宮城信行, 江崎友通, 酒本和則, 杉崎俊照, 白鳥常男, 高橋精一, 小西陽一 : ヒト胃癌のヌードマウスへの移植. 9. 皮下継代移植腫瘍細胞浮遊液の腹腔内移植成績. *日癌治誌.* **19** : 88, 1984.
- 15) **Ueyama, Y., Ohsawa, N., Tamaoki, N. and Nomura, T.** : Heterotransplantation of human neoplasms in nude mice. *Keio J. Med.* **24** : 415, 1975.
- 16) **Kuga, N., Yoshida, K., Seido, T., Oboshi, S., Koide, T., Shimosato, Y. and Nomura, T.** : Heterotransplantation of cultured human cancer cells and human cancer tissues into nude mice. *Gann* **66** : 547, 1975.
- 17) 宮越一穂 : Ehrlich腹水癌腹水に対するマウス横隔膜リンパ管前通路およびリンパ管の反応-電子顕微鏡的観察. *大阪医大誌.* **40** : 112, 1981.
- 18) 難波雄一郎 : Vx 2腫瘍細胞の横隔膜播種性進展に関する電子顕微鏡的研究. *日外会誌.* **90** : 1915, 1989.
- 19) 高尾尊身, 野村秀洋, 愛甲 孝, 前之原茂穂, 才原哲史, 加治佐 隆, 西 満正 : ヌードマウス可移植ヒト胃癌株を用いた癌性腹膜炎に対するCDDPの効果. *癌と化学療法* **12** : 1638, 1985.
- 20) 西 満正, 大山 満, 中島聡總, 大橋一郎, 西俣嘉人, 坂本五偉 : 癌性腹膜炎(播種)の発生病理. *外科* **35** : 385, 1973.
- 21) 高橋精一 : ヒト胃癌組織のヌードマウスへの移植と低分化腺癌の腹水型変換. *奈医誌.* **29** : 341, 1978.
- 22) 北村正次, 荒井邦佳, 宮下 薫 : 腹膜播種性転移を有する胃癌の外科治療および化学療法の効果. *日消外会誌.* **24** : 763, 1991.
- 23) 羽生 丕, 鴻野雅司, 谷 雅夫, 本田 徹, 神戸文雄, 丸山道生, 竹下公矢, 砂川正勝, 遠藤光夫 : 漿膜下まで浸潤する胃癌(ss癌)の予後因子, とくに漿膜下層における癌浸潤幅の重要性について. *日消外会誌.* **23** : 2039, 1990.

- 24) 飯塚保夫, 松井孝夫, 広岡保明, 小林陽子, 岸本弘之, 平岡 裕, 木村章彦, 古賀成昌: 漿膜癌浸潤部面積から見た胃癌患者の予後. 癌の臨床 **33**: 273, 1987.
- 25) 中島聰總, 小峪康利, 高木国夫, 梶谷 鏝: 胃癌の腹膜播種に対する投与経路別化学療法の比較—とくに腹腔内制癌剤投与について. 癌と化学療法 **5**: 623, 1978.
- 26) 田中承男, 岡 隆宏: 胃癌腹膜再発に対する術中マイトマイシンC腹腔内投与の予防効果. 交通医学 **41**: 279, 1987.
- 27) 佐々木通郎, 荻田征美: 胃癌に対するマイトマイシンC(MMC)術中腹腔内大量洗浄療法 その2 臨床成績. 癌と化学療法 **7**: 1427, 1980.
- 28) 高橋俊雄, 萩原明郎, 伊藤 孝: 癌性腹膜炎に対する抗癌剤の腹腔内投与—活性炭吸着制癌剤(MMC)の腹腔内投与. 癌と化学療法 **11**: 1550, 1984.
- 29) 戸恒博子: キノン系制癌剤. 蛋白質・核酸・酵素 **33**: 2781, 1988.
- 30) 井上雄弘, 小川一誠: 抗癌剤の分類と作用機序. medicina **26**: 214, 1989.
- 31) 原 泰寛, 河野 彬, 田中睦子, 西山立義, 広田暢雄: 腹腔ならびに胸腔内投与による Mitomycin C の血中移行について. 癌と化学療法 **7**: 1719, 1980.
- 32) 田口鐵男編: マイトマイシン—癌と化学療法の歩みとともに. 協和企画通信, 東京, 1984.
- 33) Okabe, M., Imai, R. and Morimoto, M.: The action of 7-N-(p-Hydroxyphenyl)Mitomycin C [M-83] in supressing murine immune response. J. Antibiotics **35**: 1055, 1982.
- 34) 岩本昭彦, 咲田雅一, 畑 幸樹, 萩原明於, 高橋俊雄: 活性炭吸着マイトマイシンCの免疫系に及ぼす影響の検討. 日外会誌. **90**: 1829, 1989.
- 35) Birbeck, M. S. C. and Wheatley, D. N.: An electron microscopic study of the invasion of ascites tumor cells into the abdominal wall. Cancer Res. **25**: 490, 1965.
- 36) 黒川胤臣, 岩佐 博, 三村一夫, 寺島 肇, 平出星夫, 溝口修身, 田巻国義, 加辺純雄, 門田俊夫, 初瀬一夫, 竹村克二, 大崎裕子, 林田郁子, 是木まさ子: 実験的癌の腹膜播種に対する制癌剤効果の走差電顕的観察—腹腔内投与を中心として. 防医大誌. **5**: 289, 1980.
- 37) 黒川胤臣, 玉熊正悦, 大崎裕子: 実験的腹水腫瘍に対する Cisplatinum 腹腔内投与の走差電顕的観察. 日癌治. **24**: 1447, 1989.
- 38) 黒川胤臣, 岩佐 博, 三村一夫, 寺島 肇, 平出星夫, 溝口修身, 加辺純雄, 田巻国義, 門田俊夫, 加瀬一夫, 河野道弘, 柿原 稔, 大崎裕子, 玉熊正悦: 実験的癌性腹膜炎に対する FT-207 の腹腔内投与に関する走差電顕的観察. 癌と化学療法 **11**: 881, 1984.
- 39) 山田義婦, 中谷勝紀, 渡辺明彦, 澤田秀智, 矢野友昭, 志野佳秀, 中野博重: ヒト胃癌のヌードマウス癌性腹膜炎モデルにおける Mitomycin C 前投与による悪性増殖能の増強. 日外会誌. **92**: 1036, 1991.
- 40) Gold, P. and Freedmann, S. O.: Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. J. Exp. Med. **121**: 439, 1965.
- 41) 平井秀松: CEA(その2・完)—測定法とその臨床的検討. 日本臨牀 **34**: 1486, 1976.
- 42) 江崎友通, 中谷勝紀, 宮城信行, 白鳥常男: 胃癌患者血中 CEA 値の検討. 日臨外誌. **43**: 233, 1982.
- 43) 藤田昌英, 大嶋一徳, 薄金眞雄, 早田 敏, 中野陽典, 田口鉄男: ヌードマウス移植ヒト消化器癌および乳癌株の特徴—とくにその CEA 産生性と抗癌剤感受性について. 日外会誌. **83**: 457, 1982.
- 44) 江崎友通: ヌードマウス可移植性 AFP および CEA 産生ヒト胃癌についての研究. 奈医誌. **35**: 385, 1984.
- 45) Dao, T. L. and Yogo, H.: Enhancement of pulmonary metastases by X-irradiation in rats bearing mammary cancer. Cancer **20**: 2020, 1967.
- 46) Orr, F. W., Adamson, I. Y. R. and Young, L.: Promotion of pulmonary metastasis in mice by Bleomycin-induced endothelial injury. Cancer Res. **46**: 891, 1986.
- 47) 澤田秀智: ヌードマウスにおけるヒト胃低分化腺癌の肝転移に関する研究. 奈医誌. **38**: 779, 1987.

## Explanation of plates

- Plate 1. Macroscopic view of carcinomatous peritonitis caused by intraperitoneal transplantation of NS-8 tumor cells( $1 \times 10^6$ ).
- Plate 2. Cytology of the ascites produced by intraperitoneal transplantation of NS-8 tumor cells( $1 \times 10^6$ ).
- Plate 3. Histology of tumor growth in the diaphragma.  
(H.-E. stain $\times 80$ )
- Plate 4. Histology of tumor growth in the mesenterium.  
(H. -E. stain $\times 40$ )
- Plate 5. Histology of tumor growth in the large omentum.  
(H.-E. stain $\times 50$ ).
- Plate 6. Histology of metastatic lesion in the liver.  
(H.-E. stain $\times 60$ )
- Plate 7. Peritoneum : 3 H after saline i. p. (SEM $\times 2900$ )
- Plate 8. Peritoneum : 3 H after MMC i. p. (SEM $\times 3000$ )
- Plate 9. Peritoneum : 24 H after MMC i. p. (SEM $\times 3000$ )
- Plate 10. Peritoneum : 48 H after MMC i. p. (SEM $\times 3000$ )

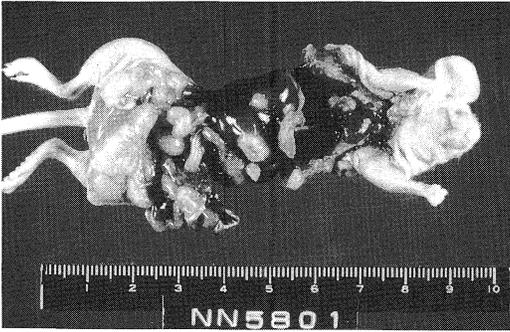


Plate 1.

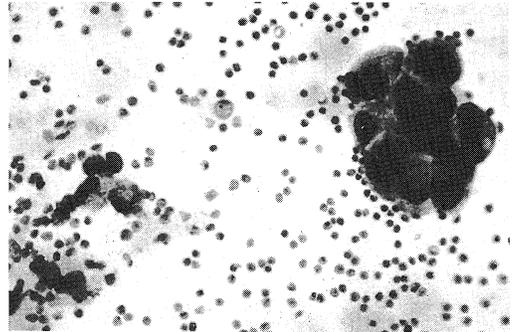


Plate 2.

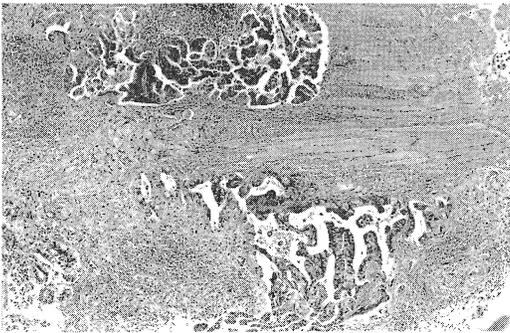


Plate 3.

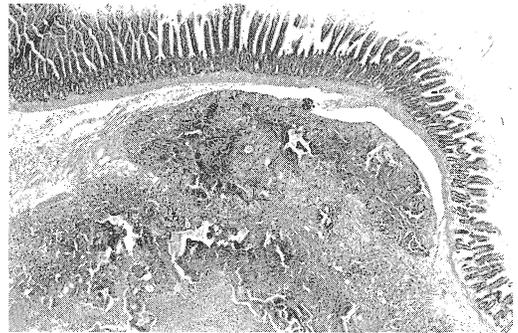


Plate 4.

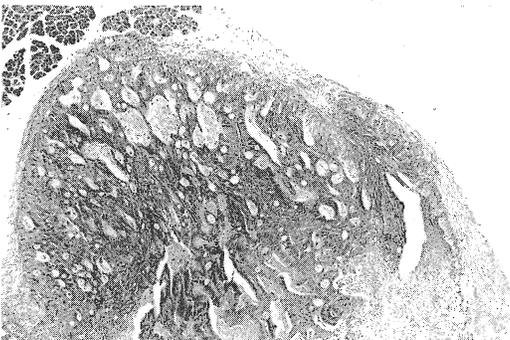


Plate 5.

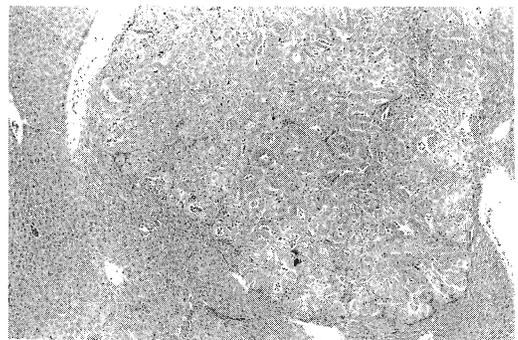


Plate 6.

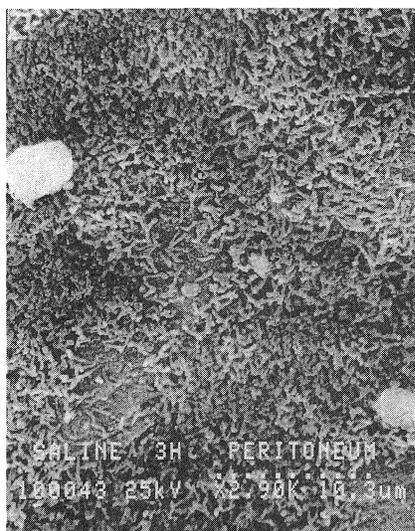


Plate 7.

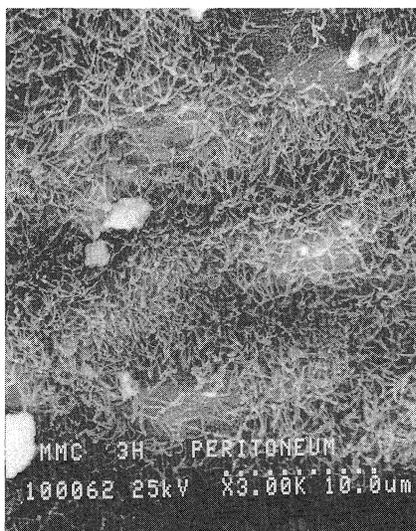


Plate 8.

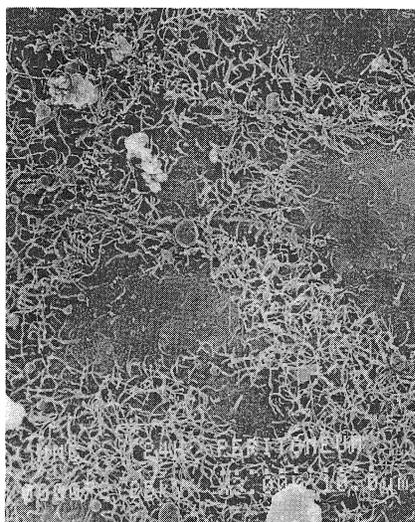


Plate 9.

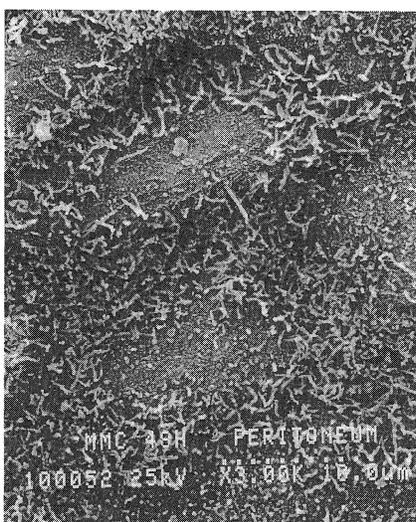


Plate 10.