

## 癌細胞と腹膜，その着床と治療に関する実験的研究

川崎医科大学 消化器外科（指導教授：佐野開三）

郡 家 信 晴

（昭和55年 8月29日受付）

### Scanning Electron Microscopic Studies on the Experimental Peritoneal Dissemination of the Rats and the Morphological Effects of Mitomycin C

Nobuharu Gunge

Division of Gastroenterological Surgery, Department of  
Surgery, Kawasaki Medical School

（Accepted on August 29, 1980）

腹膜播種の成立過程を追求するために、AH 130 細胞の  $5 \times 10^6$  個をラット腹腔内に注入し、腹膜面における着床増殖像の経日的変化を観察した。さらに、癌細胞移植後 3 日目より種々の量の MMC を腹腔内に投与して、腹膜播種に対する MMC の予防効果を検討した。また、移植後 6 日目より治療を開始して、腹膜播種癌細胞に対する効果を電顕的に観察し、以下のような結果を得た。

I. AH 130 移植後 3 日目までは、癌細胞の着床は肝表面、壁側腹膜において観察されず、中皮細胞の微絨毛にのみ軽度の変化を認めた。

II. 移植後 4 日目以後になって、肝表面、壁側腹膜の中皮細胞上に癌細胞の着床像を認めた。中皮細胞は、移植後 5～6 日目になると、凹凸不整でやや丸みを帯び、中皮細胞間結合に空隙を生じ、微絨毛も短縮傾向を示した。

III. 移植後 7 日目になると、中皮細胞上に一層の癌細胞の集合像が観察された。中皮細胞は変性して、紡錘型を呈していた。

IV. 移植 8 日目以後、癌細胞の集塊は多層化の傾向を示し、集塊同志があたかも融合する様な像が観察され、基底膜を破壊して浸潤していた。中皮細胞は変性し、一部では欠損して結合組織の露出が認められ、残存する細胞の微絨毛は短縮して癆痕状となっていた。これらの中皮細胞の変性は肝表面では壁側腹膜に比べ軽微であった。

V. AH 130 の着床増殖過程は、肝表面、壁側腹膜においてほぼ同じ時期に始まり、差異は認められなかった。

VI. 実験的腹膜播種の予防を目的として、AH 130 移植後 3 日目より MMC の腹腔内注入を開始したラット群において、MMC の総投与量 3,000 mcg/kg 未満では着床の早期にのみ有効であった。末期に至るまで予防効果を得るには、MMC に感受性の高い AH 130 においても、総投与量 4,000 mcg/kg の大量を必要とし、その際の中皮細胞の変性は強く、単独投与は予防法として適当であるとはいいがたい。

VII. AH 130 移植後 6 日目より治療を開始したラット群において、MMC の投与量の増加に比例して腹水量は漸減し、腹水中の癌細胞の変性も高度になったが、腹膜播種癌細胞

の増殖抑制効果はなく、総投与量 3,000 mcg/kg に至って有効であり、4,000 mcg/kg において著効を示した。この結果、腹水の減少、腹水中の癌細胞に対する治療効果と腹膜播種癌細胞に対する治療効果とは相関しているとはいいがたく、大量投与には限界があるために、投与法の工夫が今後の課題である。

**VIII. MMC 治療群において、肝表面、壁側腹膜の中皮細胞の変性を比較すると、癌細胞の増殖部位を除けば、肝表面の方が、細胞の配列は良く保たれており、欠損部位もほとんど認めなかった。肝表面の中皮細胞の方が癌細胞の浸潤や、MMC による損傷に対して抵抗性を持つことが示唆された。**

The formation mechanism of the peritoneal dissemination of hepatoma cells and the morphological effects of intraperitoneal chemotherapy by MMC to the dissemination were studied by means of scanning electron microscopy (SEM).

The rats were inoculated with  $5 \times 10^6$  AH 130 hepatoma cells and the peritoneum was observed by SEM from 1st to 10th consecutive days after tumour implantation. MMC as the preventive medicine against the experimental peritoneal dissemination was given intraperitoneally to the rats on 3rd day after implantation, while MMC was given on 6th day after implantation to investigate the morphological effects of MMC to the proliferated tumour cells adhering to the peritoneal surface.

The following results were obtained.

1. On the 3rd day after implantation, no tumour cells were found by SEM adhering to the liver surface and the parietal peritoneum, but the microvilli of the mesothelial layer were slightly damaged.
2. On the 4th day, a few tumour cells were found by SEM. On the 5th and the 6th days, the surface of the mesothelial layer became uneven and the mesothelial cells turned into round shape. The attraction between cells was broken. The microvilli were shortened.
3. On the 7th day, adhering tumour cells proliferated and congregated. The mesothelial cells turned into spindle-like shape.
4. On the 8th day, tumour cells formed a stratified mass and it increased in size and fused together. They infiltrated into connective tissue beneath the mesothelium. The mesothelial cells of the parietal peritoneum were considerably damaged and some parts of the cells exfoliated from the peritoneal surface but those of the liver surface were slightly damaged.
5. The process of the experimental peritoneal dissemination with AH 130 was almost the same at the liver surface whose ability of absorption was considered strong and the parietal peritoneum whose ability was weak.
6. Administration of MMC, started on the 3rd day after tumour implantation, was effective at an early stage of the experimental peritoneal dissemination. In the case of exceedingly high dose of MMC, the effects continued till the late stage of the dissemination, but mesothelial cells were damaged considerably. Intraperitoneal administration of MMC only was considered not a proper method

for the prevention of the dissemination.

7. In proportion to the dose of MMC, the ascitic fluid of the rats gradually decreased and hepatoma cells in ascites were damaged but the proliferation of disseminated cells was not suppressed. An improvement of the methods of administration is a future problem.

8. It was suggested that the mesothelial cells of the liver surface had strong resistance to tumour cell infiltration and the damage of MMC, compared with the parietal peritoneum.

## 結 言

癌の腹膜播種は，腹腔内臓器癌症例にしばしば認められる癌の進展形式の1つであり，また切除術後の転移再発としての頻度も高く，手術成績を不良にしている極めて大きな原因といえる。しかしその成立機序については，多くの研究がなされているにもかかわらずなお不明な点が多く，また適確な予防法や治療法もない現状である。

腹膜播種の成立機序に関する形態学的研究には，光学顕微鏡を用いた Willis<sup>1)</sup>，Wheatley<sup>2)</sup>，透過型電子顕微鏡（以下透過電顕と略す）を用いた Birbeck ら<sup>3)</sup> の研究，さらに Buck<sup>4)</sup> の走査型電子顕微鏡（以下走査電顕と略す），オートラジオグラフィを用いた研究などがある。我が国においても工藤ら<sup>5)</sup> の研究があるがなお多くの不明の点があり，機序の解明はなお今後に残された課題といえる。

予防法，治療法については，腹膜播種の成立過程が未解決であるためか，研究報告はきわめて少ないようである。しかしながら，腹膜播種という現象のほとんどは，原発臓器の漿膜面より剝離脱落した癌細胞が腹腔内に遊離し，原発病巣と離れた漿膜面に着床増殖すると考えられることから，臨床的には mitomycin C（以下 MMC と略す）の腹腔内投与<sup>6)</sup>，大動脈内注入<sup>7)</sup>などが試みられ，免疫の関与も考えられるため OK-432 の腹腔内投与<sup>8)</sup>なども行なわれてきたが未だ十分な効果を得るには至っていない。

本研究においては，腹膜播種の成立機序を追求するために，ラット腹膜面における腹水肝癌細胞 AH 130 の着床，増殖過程を，主に走査電

顕を用いて経日的に観察した。さらに MMC をラット腹腔内に注入し，抗癌剤が癌細胞の着床，増殖にいかなる影響を与えるかを形態学的に追求した。

## 実験材料および方法

### 1 実験材料

実験動物は，200 g 前後の雄性ドンリュウラット，移植腫瘍は，MMC に対して高感受性<sup>9)</sup>を示し，漿膜浸潤は比較的強いとされる腹水肝癌 AH 130 を用いた。

MMC は市販の1バイアル 2 mg 力価のものを，その都度生理食塩水に溶解して用いた。

### 2 実験方法

(1) 未処置ドンリュウラットの腹膜（壁側腹膜，肝表面，大網，小腸漿膜）を採取し，走査電顕を用いて観察した。次に AH 130 の細胞  $5 \times 10^6$  個をラット腹腔内に移植し，移植後1日目より10日目まで連日ラットを屠殺し壁側腹膜，肝表面を採取し，電顕試料を作製した。

(2) ドンリュウラットを A～H までの8群に分け，AH 130 の細胞  $5 \times 10^6$  個を腹腔内に移植した。A～D までの4群は移植後3日目より，MMC (100 mcg/kg, 200 mcg/kg, 400 mcg/kg, 600 mcg/kg, 800 mcg/kg, 1000 mcg/kg) の各投与量を1～4回腹腔内に注入し，移植後6日目，9日目，10日目に屠殺し，壁側腹膜，肝表面を採取し，電顕試料を作製して実験(1)で観察したものと比較検討した。さらに6日目より，MMC 100 mcg/kg, 200 mcg/kg, 400 mcg/kg, 600 mcg/kg, 800 mcg/kg, 1,000 mcg/kg の各投与量を1～4回腹腔内に注入

し、移植後9日目、10日目にラットを屠殺し、腹水量を計測した後、壁側腹膜、肝表面を採取し、電顕試料を作製した。また MMC 腹腔内注入後の腹水中 MMC 濃度を 知るために、各ラットより注入後5分の腹水を採取し、bioassay法にて MMC の濃度を測定した。さらに MMC 注入後、24時間目、48時間目の腹水を採取し、Popanicolaou 染色を施し、AH 130 細胞や他の腹水中の細胞成分の変化を観察した。

(3) 腹膜の MMC による組織障害度を検討するために MMC (100 mcg/kg, 200 mcg/kg, 400 mcg/kg, 600 mcg/kg, 800 mcg/kg, 1,000 mcg/kg) を4日間腹腔内に連日投与し、さらに大量の 1 mg/rat を1回から2回注入し、48時間後に壁側腹膜を採取し、電顕試料を作製した。

#### (4) 走査電顕試料作製法

ラットをエーテル麻酔下にて開腹、腹膜を採取し、生理食塩水、Millonig's phosphate buffer で軽く洗滌した後、Millonig's phosphate buffer 加 2.5% glutaraldehyde で90分間固定、同上磷酸緩衝液で80分間洗滌の後、1% osmic acid 水溶液にて60分間固定した。固定された試料を50%~100% ethanol 列にて脱水し、isoamylacetate で ethanol 置換を行ない臨界点乾燥の後に、金パラジウム蒸着を施し、日立 HHS-2R 型走査電子顕微鏡で観察した。

#### (5) 透過電顕試料作製法

走査電顕にて観察した試料を90% ethanol にもどし30分間浸漬した後、95%に30分間、100%に30分間2回浸漬し、propyleneoxide を通して、型のごとくルベアック 812 に包埋した後、重合させた試料を超薄切片とし、uranyl acetate と lead citrate の二重染色を行ない、日立 HS-9 型透過電子顕微鏡にて観察した。

#### (6) パパニコロー染色

ラット腹腔内に MMC 注入後24時間、48時間目の腹水を、1 ml マイクロシリンジで採取し、型のごとく脱水、パパニコロー染色し、腹水中の細胞の変化を観察した。

#### (7) bioassay 法

ラット腹腔内に MMC 注入後、1 ml マイク

ロシリンジで経時的に腹水を採取し、E-coli B を用いた薄層寒天培地にカップを立て腹水を注入、阻止円の径を測定して MMC 濃度に換算した。

## 実験結果

### 1 癌細胞の腹膜への着床、増殖像の経日的変化

腹膜の部位の違いによる、癌細胞の着床ならびに増殖の様相を観察するために、壁側腹膜、

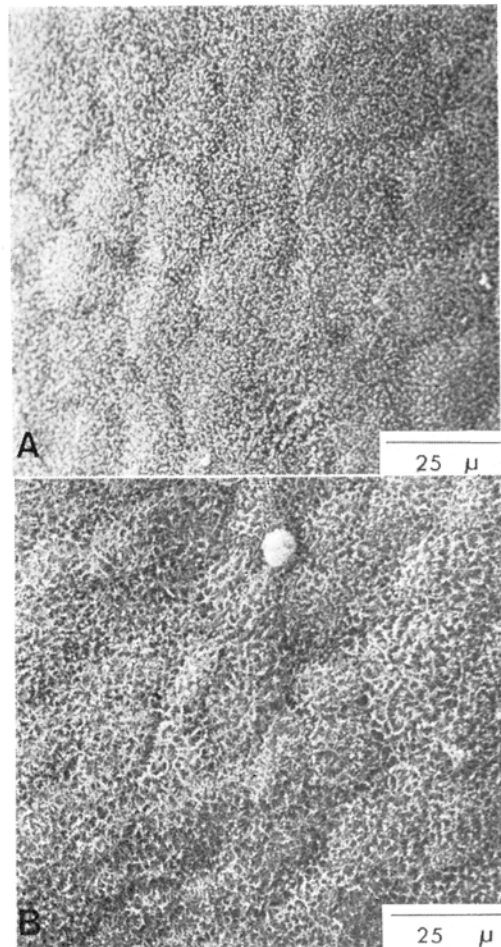
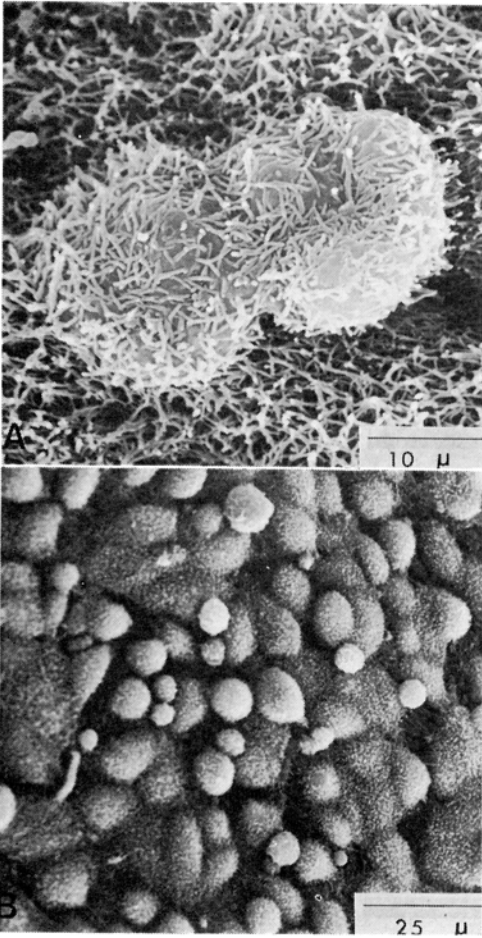


Fig. 1. A Scanning electron micrograph of the liver surface on the 2nd day after inoculation of tumor cells. The basic ultrastructural features are not altered. ( $\times 800$ )

Fig. 1. B On the 3rd day. Liver surface. The microvilli turn into net-like figure. Tumor cells are not observed. ( $\times 800$ )



**Fig. 2. A** On the 4th day. Parietal peritoneum. A tumor cell in mitotic phase is observed on mesothelial layer. ( $\times 2,000$ )

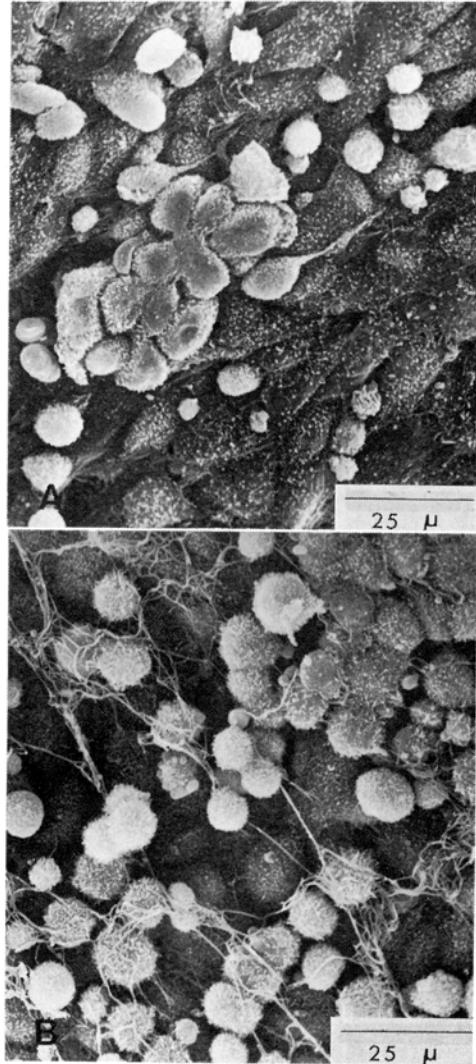
**Fig. 2. B** On the 6th day. Parietal peritoneum. Tumor cells on peritoneal surface increased in number. Microvilli are shortened. The attraction between cells is broken. ( $\times 800$ )

肝表面，小腸漿膜，大網の4箇所を同時に観察したが，本稿では特に，吸収能の相異に起因する着床，ならびに増殖の時期と電顕像の違いを追求する目的で吸収能が弱いとされる壁側腹膜と，反対に強いとされる肝表面とにおける着床増殖過程の検索結果を記す。

#### 走査電顕的観察

(1) AH 130 を腹腔内に移植後1日目，2日目には，壁側腹膜および肝表面に特に異常は認められない (**Fig. 1-A**)。

(2) 移植後3日目には，壁側腹膜および肝表面 (**Fig. 1-B**) の両者において，中皮細胞自体の変化は特に認められないが，微絨毛は変性して網目様，枯枝様を呈している。なお肝表面には，細胞の吸着を認めるが，同定が困難であ



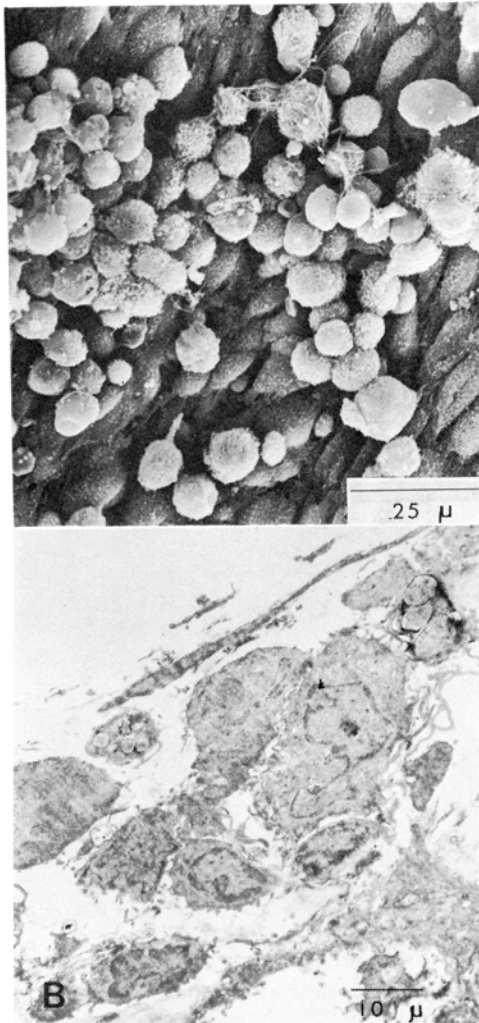
**Fig. 3. A** On the 7th day. Parietal peritoneum. Tumor cells proliferate and congregate. Mesothelial cells surrounding the tumor cell mass turn into spindle-like figure. And some parts of cells exfoliated from the peritoneal surface. ( $\times 800$ )

**Fig. 3. B** On the 8th day. Parietal peritoneum. Tumor cells make stratified mass. And fibrin like substances are observed over the tumor cells. ( $\times 800$ )

るため、細胞の種類は必ずしもはっきりしない。

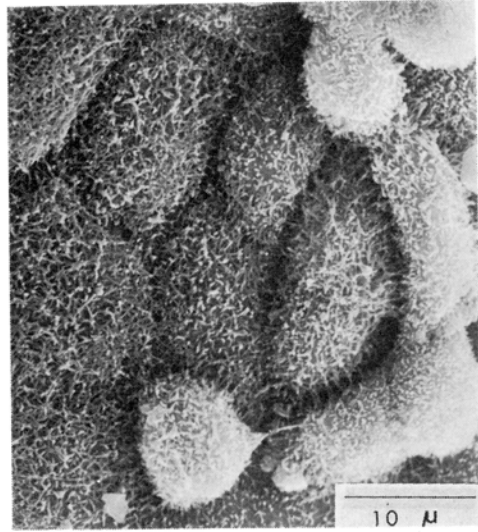
(3) 4日目になると、中皮細胞の微絨毛の変化は著明となり、しばしば癌細胞の分裂像を中皮細胞上に認めることができる (Fig. 2-A: 壁側腹膜)。

(4) 移植5~6日目以後の観察では、肝表面、壁側腹膜の両者において癌細胞の増殖像は



**Fig. 4. A** On the 9th day. Parietal peritoneum. Stratified tumor cell masses increase in number and size and fuse together. ( $\times 800$ )

**Fig. 4. B** Transmission electron micrograph of "Fig. 4. A". Tumor cells infiltrate into the connective tissue beneath the mesothelium. ( $\times 2,000$ )



**Fig. 5.** On the 9th day. Liver surface. Mesothelial cells are not spindle-like figure and the attraction between the cells is still maintained. The cells exfoliated from the peritoneal surface are not observed. ( $\times 2,000$ )

ほぼ同様である。したがって以下、主として壁側腹膜について記述する。中皮細胞に注目すると、細胞はやや丸みを帯び、細胞間結合に間隙を生じており、微絨毛はやや短縮傾向を示す。また大小不同の多数の細胞が観察される (Fig. 2-B: 6日目の壁側腹膜)。

(5) 移植後7日目になると、癌細胞は一部で一層の集合像を示し、中には偽足様突起を出しているのが認められる (Fig. 3-A: 7日目の壁側腹膜)。

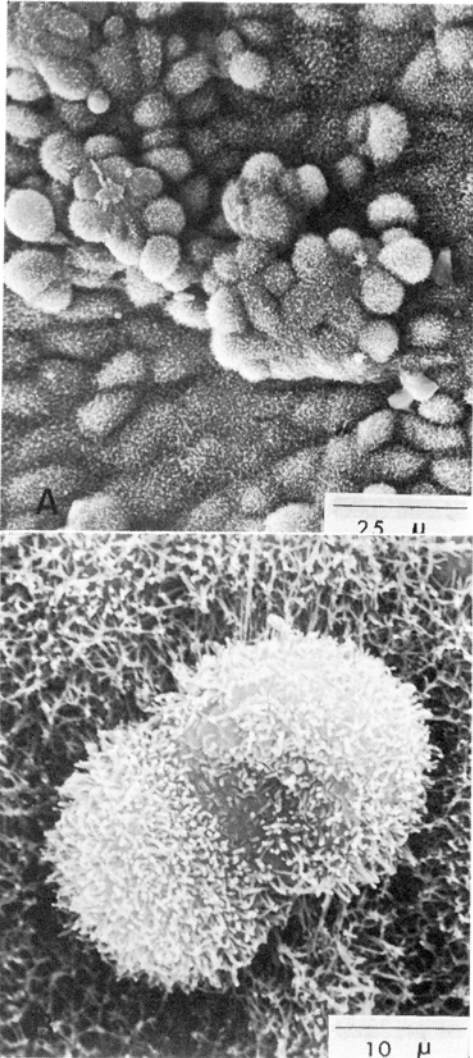
(6) 移植後8日目になると、癌細胞の集塊の増加が観察され、増殖部位は中皮細胞の欠損部にほぼ一致している。中皮細胞の破壊は著しく、一部では欠損像を認め、結合組織の露出が観察され、フィブリン様物質が癌細胞上をネット状に覆っている部位も認められる (Fig. 3-B: 8日目の壁側腹膜)。

(7) 移植後9日目になると、癌細胞集塊は多層化の傾向を示し、集塊同志が互いに融合する様な像も認められる。中皮細胞は著しい変性を受け癌細胞の増殖部、非増殖部において欠損し、結合組織の露出が認められる (Fig. 4-A:

9日目の壁側腹膜). これを透過電顕で観察すると，癌細胞が基底膜を破壊して浸潤している (Fig. 4-B: 9日目の壁側腹膜). 肝表面と壁側腹膜を比較すると，癌細胞の増殖部位を除けば，肝表面のは軽微であり，細胞間結合も良く保たれている (Fig. 5: 9日目の肝表面).

## 2 AH 130 の着床増殖に対する MMC の影響

(1) AH 130 移植後3日目より MMC を腹

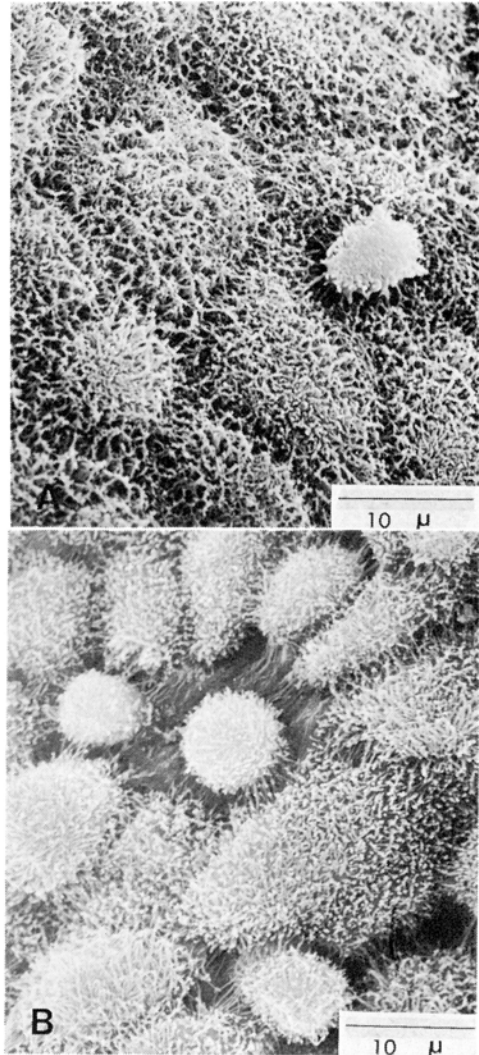


**Fig. 6. A** On the 6th day after inoculation of tumor cells. MMC 200 mcg/kg  $\times$  1. Tumor cells are congregated. ( $\times$ 800)

**Fig. 6. B** On the 6th day. Parietal peritoneum. MMC 200 mcg/kg  $\times$  2. A tumor cell in mitotic phase is observed. ( $\times$ 2,000)

腔内に注入した A, B, C, D の 4 群についての検索.

① AH 130 移植後6日目の観察では，MMC の総投与量が少ない場合を走査電顕で観察すると，腹膜面に多数の細胞 (同定の問題があ



**Fig. 7. A** On the 6th day. Parietal peritoneum. MMC 800 mcg/kg  $\times$  1. Tumor cells adhering to the peritoneal surface are not observed. The attraction between cells is fairly maintained, compared with "Fig. 7. B". ( $\times$ 2,000)

**Fig. 7. B** On the 6th day. Parietal peritoneum. MMC 1,000 mcg/kg  $\times$  1. In some parts of the mesothelial layer, the attraction between cells is broken. ( $\times$ 2,000)

り、細胞の種類は不明)が付着しており、一部では層状の癌細胞の集合像がみられる。また、中皮細胞自体の変化は乏しいが、細胞間結合に間隙を生じ、微絨毛は短縮傾向を示す(Fig. 6-A: MMC 100 mcg/kg 1回投与壁側腹膜)。この癌細胞の集合像は、MMCを注入しない場合では、移植7日目以後にしか観察できないものである。また、しばしば、肝表面、壁側腹膜において、癌細胞の分裂像が観察され、壁側腹膜の癌細胞は偽足様突起を出しているのが観察される(Fig. 6-B: 肝表面)。MMCの投与量の増加に従って、走査電顕並びに透過電顕上で、腹膜面に癌細胞を証明するのは困難となるが、中皮細胞の変化は、MMC投与量の多い方に強い。Fig. 7-Aは、600 mcg/kg 1回投与、Fig. 7-Bは、

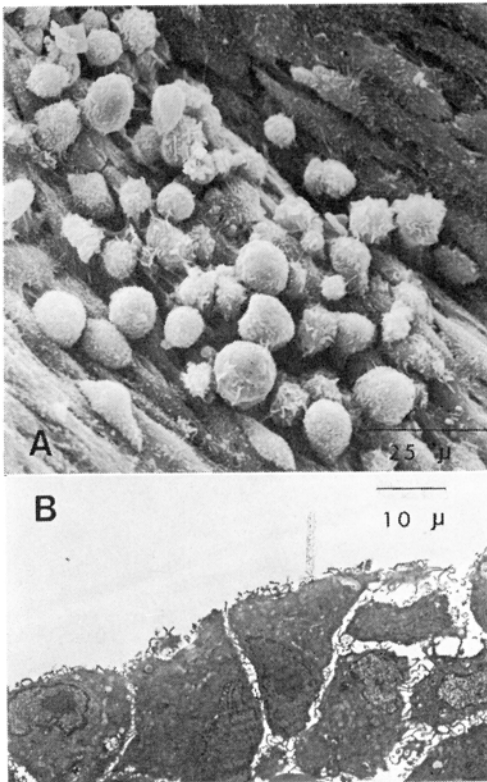


Fig. 8. A On the 9th day. Parietal peritoneum. MMC 1,000 mcg/kg  $\times 1$ . Stratified tumor cell masses are observed. ( $\times 800$ )

Fig. 8. B Transmission electron micrograph of "Fig. 8. A". ( $\times 2,500$ )

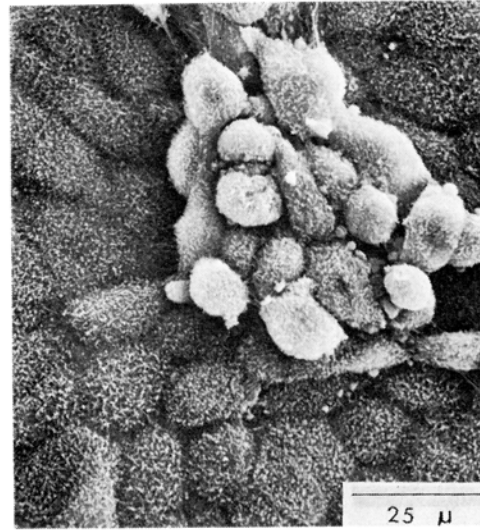
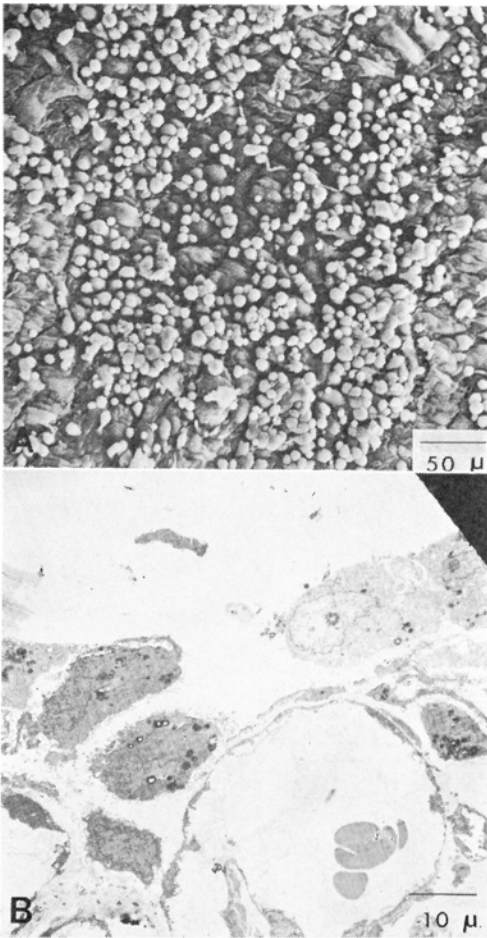


Fig. 9. On the 9th day. Liver surface. MMC 1,000 mcg/kg  $\times 2$ . Stratified tumor cell masses are observed. The attraction and the arrangement of mesothelial cells are still maintained fairly. ( $\times 800$ )

1,000 mcg/kg 1回投与後の壁側腹膜を示すが、少量投与の方が中皮細胞の変化は少なく、細胞間結合も良く保たれており、微絨毛の短縮傾向も軽微である。

② AH 130の移植後9日目、10日目の走査電顕像では、6日目の観察で着床癌細胞を認めない1,000 mcg/kgのMMC投与量においても癌細胞の集塊を認め、一部では層状になった像がみられる(Fig. 8-A, Fig. 8-B: 1,000 mcg/kg 1回投与、壁側腹膜)。しかしながら、1,000 mcg/kg 2回投与後の肝表面を走査電顕で観察すると、癌細胞は集塊を形成しているが、周囲の中皮細胞は壁側腹膜に比べ変性は乏しく、細胞間結合も良く保たれており(Fig. 9; 1,000 mcg/kg 2回投与、肝表面)壁側腹膜に比して、肝表面の方が、癌性腹水やMMCなど中皮細胞を破壊する因子に対して、強い抵抗性を示している。さらにC群、D群と投与回数が増加し、総投与量が3,000 mcg/kg程度になると、晩期効果も出現したが、腹膜面に癌細胞を証明できない程度の効果を得るには、総投与量4,000 mcg/kgを必要とすることがわかっ



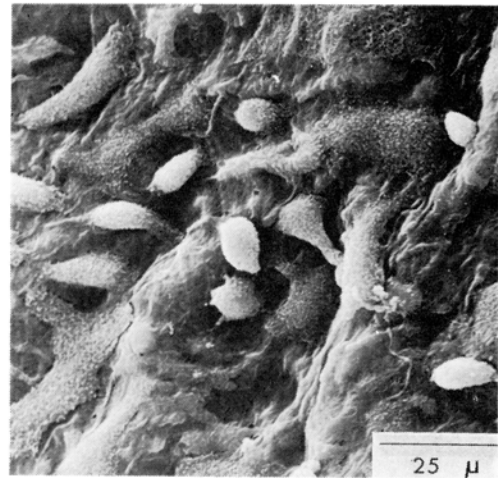


**Fig. 10. A** On the 10th day. Parietal peritoneum. MMC 800 mcg/kg  $\times 4$ . Tumor cells are observed sporadically. They are not congregated and do not make stratified mass. ( $\times 200$ )

**Fig. 10. B** Transmission electron micrograph of "Fig. 10. A". ( $\times 3,000$ )

た。Fig. 10-A, Fig. 10-B は 800 mcg/kg 4 回投与後の走査電顕像、透過電顕像を示すが、走査電顕では、散在性に多数の細胞が認められ、一部に癌細胞の集塊もある。中皮細胞の破壊は著明で、結合組織の露出が見られる。Fig. 11 は 1,000 mcg/kg 4 回投与後の走査電顕像を示すが、癌細胞の破壊欠損像が主体をなしているのが観察される。

(2) AH 130 移植後 6 日目より、MMC をラット腹腔内に注入した E, F, G, H の 4 群についての検索。



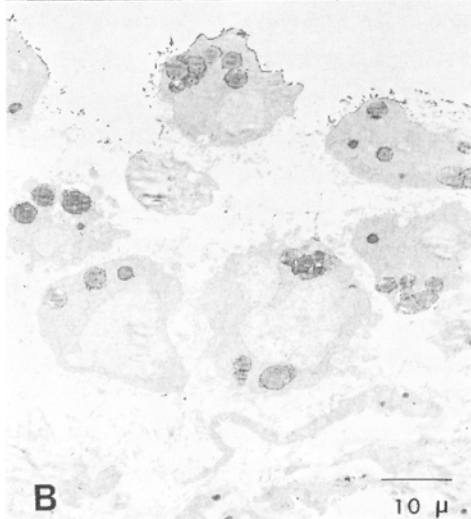
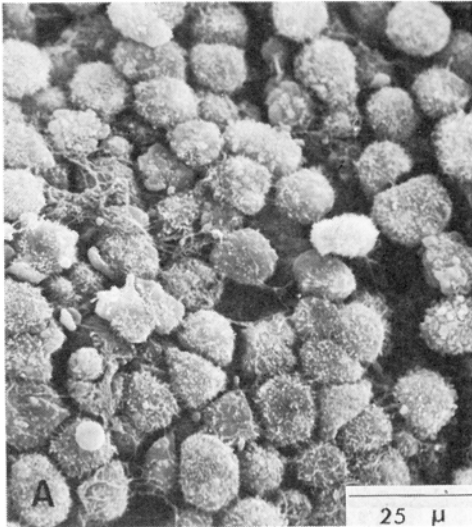
**Fig. 11.** On the 10th day. Parietal peritoneum. MMC 1,000 mcg/kg  $\times 4$ . Destroyed tumor cells are observed on mesothelial layer and connective tissue. ( $\times 800$ )

MMC の 100 mcg/kg~1,000 mcg/kg 注入時の腹水中濃度を測定すると、0.28 mcg/ml~2.8 mcg/ml である。腹水浮遊癌細胞に対する効果を MMC 濃度と総投与量について検討すると、総投与量が同様である場合には、1 回大量投与の方が細胞数の減少、細胞の変化が強く認められ、濃度依存性のあることを示している。腹膜面を走査電顕で観察すると、総投与量 1,000 mcg/kg 程度では、全腹膜面を覆う様に多層化した癌細胞集団を認め、中皮細胞が一部に顔を出しているのが観察され、またフィブリン様物質を認め、近接する癌細胞はお互いの微絨毛をからみあわせている (Fig. 12-A, 12-B: 10 日目の壁側腹膜)。このような集合多層化した癌細胞が、腹膜面を覆うような像は、MMC 未処置の場合には観察されない。

さらに MMC 投与量を増加させた場合について検討する。Fig. 13-A, Fig. 13-B は、それぞれ 1,000 mcg/kg 3 回投与後の壁側腹膜の電顕像を示すが、MMC の作用により変性したと思われる細胞群の着床を認め、中皮細胞は大小不同で一部に欠損像がある。肝表面 (Fig. 14) では、癌細胞の集合像を認めるが、周囲の中皮細胞の変性は軽微である。1,000 mcg/kg 4 回投与後 (Fig. 15) では著明な効果を認め、癌

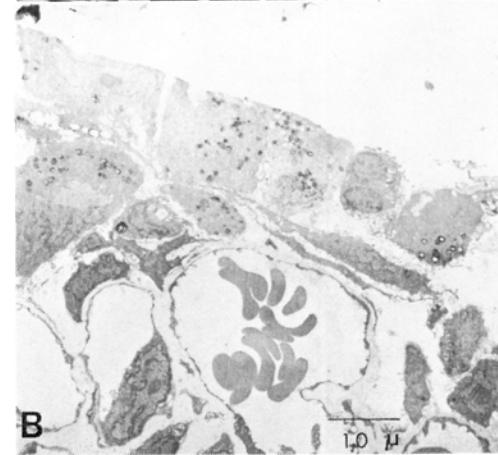
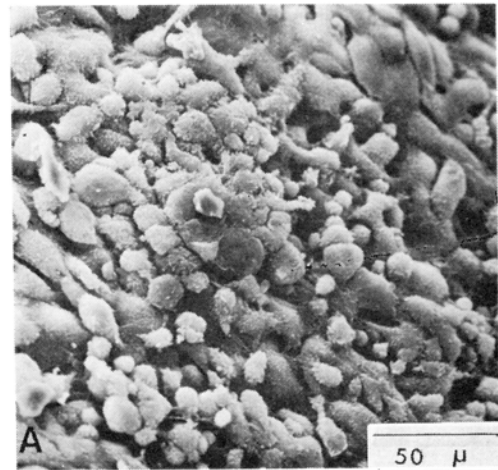
細胞の着床増殖像はほとんどなく、中皮細胞の変化が主な像となっている。

次に治療効果の1つである腹水の減少について、H群を例にとると **Table 1** に示す如くである。しかしながら、H群 No. 2 においては、腹水浮遊癌細胞の変性を認め (**Fig. 16**)、腹水は軽度に減少するが、逆に腹膜面では多数の増殖



**Fig. 12. A** On the 10th day. Parietal peritoneum. MMC 200 mcg/kg  $\times 4$ . Numerous tumor cells are proliferated on mesothelial layer. ( $\times 800$ )

**Fig. 12. B** Transmission electron micrograph of "Fig. 12. A". The mitochondria are swollen but other organelles appear unaffected. ( $\times 2,000$ )



**Fig. 13. A** On the 9th day. Parietal peritoneum. MMC 1,000 mcg/kg  $\times 3$ . Many destroyed tumor cells are observed. Almost all the part of the mesothelial cells are exfoliated from the mesothelial layer. ( $\times 400$ )

**Fig. 13. B** Transmission electron micrograph of "Fig. 13. A". ( $\times 2,000$ )

した癌細胞集塊が観察される。

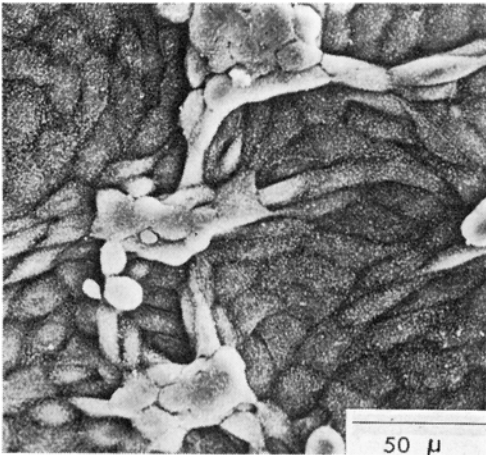
投与量が増加すると腹水浮遊癌細胞の変化も著明となり、腹水も漸減するが、腹膜面における増殖像は不変であり、効果が認められるのは、No. 3, No. 4 ときわめて大量の MMC が投与された場合のみである。

### 3 マイトマイシンCのラット腹膜障害性に対する検討

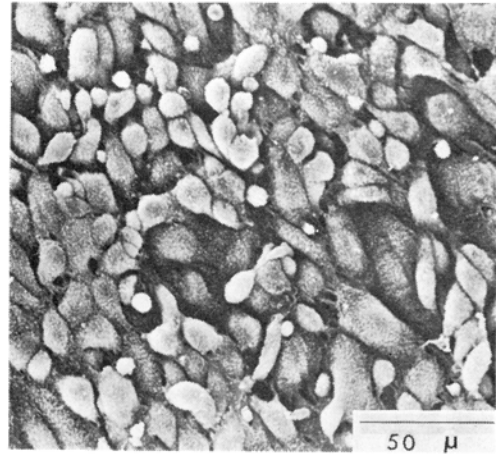
投与量 400 mcg/kg の場合、走査電顕による観察では、中皮細胞や中皮細胞の微絨毛に特に

変化を認めない。200 mcg/kg 4日間連日投与の場合にも、中皮細胞に変化は特に認めないが、微絨毛に網目様変化がみられる (Fig. 17).

しかし一方、透過電顕では中皮細胞の核、細胞質いずれにも変化は認めない。400 mcg/kg 4日間連日投与の場合には、走査電顕で観察す

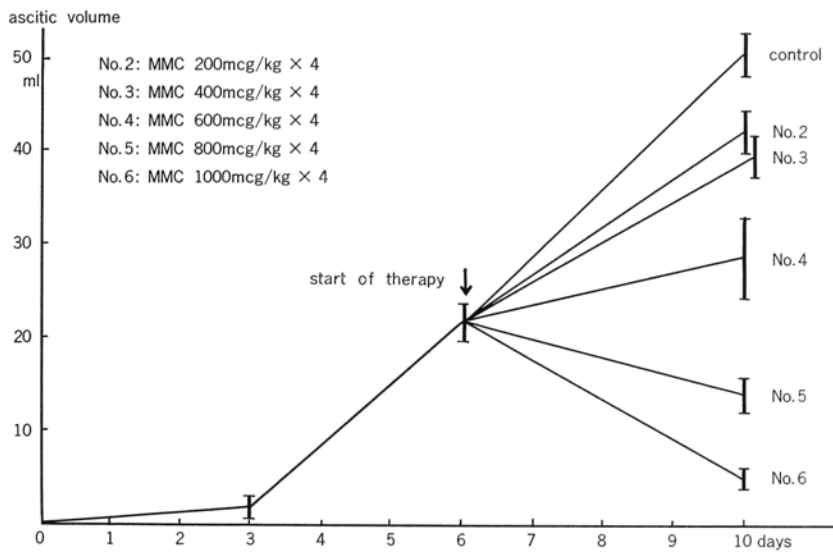


**Fig. 14.** On the 9th day. Liver surface. MMC 1,000 mcg/kg  $\times$  3. Destroyed tumour cell masses are observed. Mesothelial cells are spindle-like figure but the arrangement of cells is still maintained. ( $\times$ 400)



**Fig. 15.** On the 10th day. Parietal peritoneum. MMC 1,000 mcg/kg  $\times$  4. Several destroyed cells are observed. ( $\times$ 400)

ると中皮細胞は丸みを帯び、微絨毛は短縮しており、さらに、投与量を増加させると中皮細胞や微絨毛の変化は著明となる。Fig. 18-Aは1,000 mcg/kg 4日投与後のラット腹膜の走査電顕像であるが、中皮細胞間結合に空隙を認め、微絨毛の短縮傾向が明らかである。これを透過電顕で観察すると、肥厚した中皮細胞が認められ、核の変化は著明でないが、細胞質には



**Table 1.** The effect of MMC on the production of ascitic fluid in Donryu rats after receiving  $5 \times 10^6$  AH 130 hepatoma cells.

空胞があり、ミトコンドリアの腫大などが観察される (Fig. 18-B). さらに大量 1 mg/ml

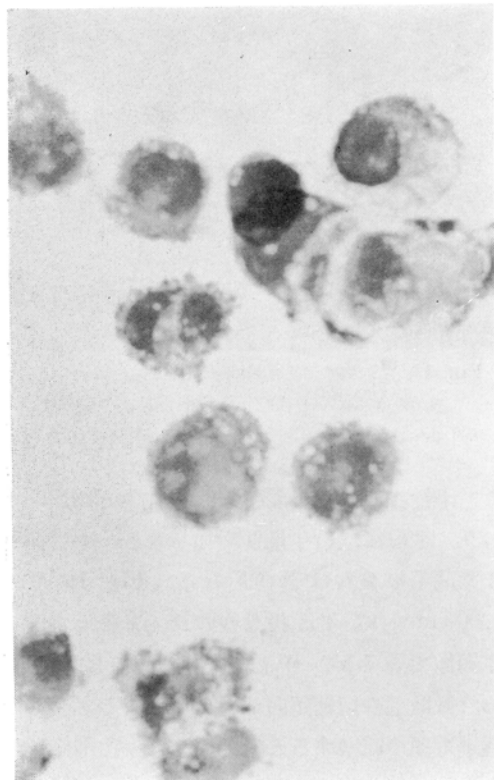


Fig. 16. Destroyed AH 130 hepatoma cells in ascitic fluid. MMC 200 mcg/kg  $\times 4$ . Papanicolaou's stain. ( $\times 400$ )

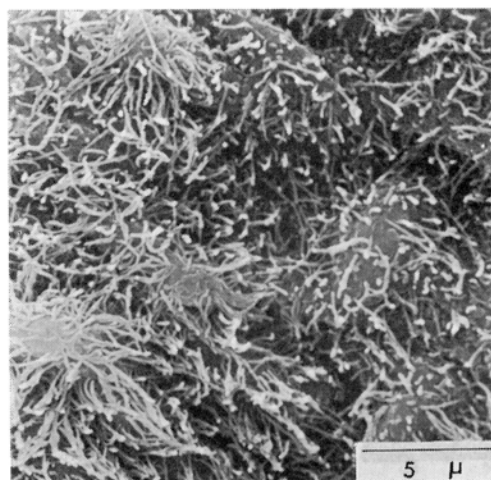


Fig. 17. Microvilli turn into net-like figure. MMC 200 mcg/kg  $\times 4$ . ( $\times 4,000$ )

を2回投与の場合、走査電顕による観察では、中皮細胞の変性は著しく、微絨毛はきわめて短縮し、痙攣状になっており、これを透過電顕で観察すると、萎縮した中皮細胞や肥厚膨化した中皮細胞が認められ、細胞の核、細胞質は空胞変性を起こして壊死脱落するものと思われる (Fig. 19).

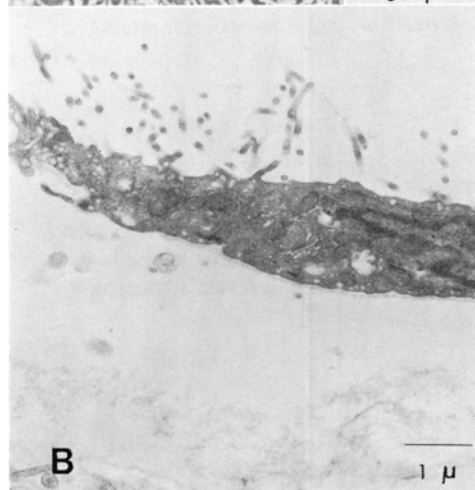
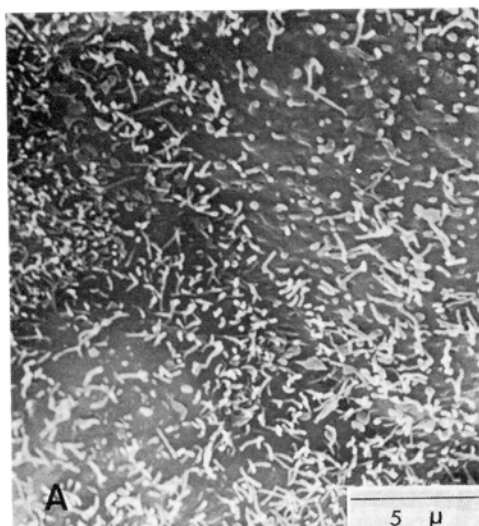


Fig. 18. A The microvilli are shortened and scattered. MMC 1,000 mcg/kg  $\times 4$ . ( $\times 4,000$ )

Fig. 18. B Transmission electron micrograph of "Fig. 18. A". The mitochondria are swollen but other organelles appear unaffected. ( $\times 10,000$ )

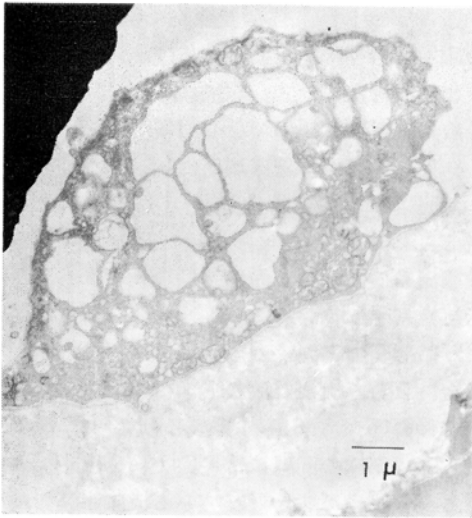


Fig. 19. The mesothelial cell is destroyed intensively. The inner structure of the cell is lost. MMC 1 mg/kg  $\times 2$ . ( $\times 8,000$ )

## 考 察

### 1 癌細胞の着床，増殖像について

#### (1) 着 床 像

癌細胞の着床や増殖という問題のうち，血行性，リンパ行性の転移については多くの研究がなされて来たが，遊離細胞の腹膜面における着床や増殖に関しては詳細な研究は少ない。腹膜播種の一形成過程として，腹腔内に剝離脱落した遊離癌細胞が腹膜上に着床，増殖すると考えられるので，AH 130 細胞内の腹腔注入後の腹膜表面を，走査電顕，透過電顕を用いて経日的に観察した。走査電顕は物体の表面を立体的に高倍率で観察できるので，腹膜播種の観察に有用であるが，表面のみの観察であるために細胞の同定が困難であるという欠点がある。しかし培養細胞，遊離細胞についてはそれぞれ，Wetzel<sup>10)</sup>，Kaneshima ら<sup>11)</sup>の細胞同定法があるが，組織では未だ行なわれていないようである。著者は細胞同定のために同一標本を走査電顕，透過電顕を用いて観察し，また一部を江川ら<sup>12)</sup>の方法を参考にして光顕標本作製したが，満足できる成績はえられなかった。

腹膜播種の成立過程について，Birbeck<sup>3)</sup>は透過電顕を用いて，Ehrlich 腹水癌細胞の壁側

腹膜における着床，増殖像を観察している。それによると癌細胞の段階的な着床増殖過程を示し，中皮細胞が剝離脱落し，基底膜の露出した部位に一致して癌細胞が着床するとし，この段階までに8日間を要するという。そしてその後はすみやかに基底膜を破壊し，癌細胞が浸潤増殖するという結果を得ている。また，走査電顕では，Buck<sup>4)</sup>が Walker 256 肉腫の壁側腹膜における播種像を観察し，Birbeck<sup>3)</sup>とほぼ同様の結果を得ている。しかし工藤<sup>5)</sup>は AH 100 B の播種像を肝表面，大網において観察し，中皮細胞にほとんど変化のない早期に，中皮細胞上に直接癌細胞が着床するという Birbeck<sup>3)</sup>，Buck ら<sup>4)</sup>と異なる結果を報告している。これは Wood<sup>13)</sup>，Chew<sup>14)</sup>が観察した血行性転移過程，すなわち腫瘍細胞が血管内皮に付着後，内皮細胞を破壊して，血管外へ浸透する過程と類似するとしている。著者が観察した AH 130 の着床は，ある程度中皮細胞の変性が進行した時期に，直接中皮細胞上ないし中皮細胞間結合の隙間にそって認められた。これは Birbeck<sup>3)</sup>が観察した基底膜露出後の着床と，工藤<sup>5)</sup>が観察した中皮細胞の変化がほとんど認められない早期の着床との中間的な結果といえる。また著者は着床した癌細胞の分裂像をしばしば走査電顕上で認めたが，これらは Birbeck<sup>3)</sup>が着床した癌細胞は盛んに分裂増殖するという見解と一致する。このような着床像の相異は，腫瘍細胞の種類の違いやその他いろいろの宿主側の要因に左右されるものと考えられる。Kojima ら<sup>15)</sup>の実験報告によると，腫瘍細胞の種類によって粘着性が異なり，自由細胞の多い腫瘍系ほど粘着性が強く，転移率も高いとしている。また血行性転移の実験において，腫瘍細胞の血管外遊出に要する時間は，Jones<sup>16)</sup>の Walker 癌肉腫細胞を用いた研究では 24 時間から 48 時間であり，Wood<sup>17)</sup>の V<sub>2</sub> 扁平上皮癌細胞を用いた実験では 5 時間から 8 時間であるという違いがみられる。このように腫瘍細胞の種類によって転移の過程は変化することが考えられる。

宿主側の要因については，腹膜の部位の違いによる微絨毛の密度の相異，吸収能の相異，癌

細胞による障害性に対する感受性の相異などが考えられる。微絨毛の密度については、工藤<sup>5)</sup>の AH 100B を用いた研究報告によれば、微絨毛の疎な部位でも、着床増殖過程にほとんど差違はないとしている。また、吸収能については、腹膜の部位によって若干の差があることは一般に知られた事実であり<sup>18)</sup>、腹膜の吸収能と転移の分布とは比例するという研究報告もある<sup>19)</sup>。著者は吸収能の強いとされる肝表面、吸収能の低い壁側腹膜における AH 130 の着床増殖像を同時に観察した。肝表面においては比較的早期に細胞成分の付着を観察できたが、壁側腹膜に比べその後の増殖過程はほぼ同様であり、吸収能の相異によって着床時期が明らかに異なるという成績は得られなかった。Wood<sup>13)</sup>による血行性転移の実験では、血管内皮にゆるく付着している細胞は、離れて循環中に流れ去るか、その場で死んでしまうかのいずれかであると結論しており、着床については吸収能の関与もさることながら、腫瘍細胞の種類による粘着能の相異がより大きく関与しているのではないかと思われる。馬場<sup>20)</sup>は腫瘍より出てくる液性因子と腫瘍の浸潤について述べており、Wood<sup>13)</sup>は血行性転移の実験で、腫瘍細胞が最初に付着する部位は血管の口径、血流量、血管運動能からは決定できないとし、腫瘍細胞表面の性質やトロホプラスチン様物質を遊離する能力に依存するのではないかといっている。腹膜播種においても何らかの液性因子の関与が考えられ、著者の実験においては、癌細胞の着床を認めない時期にすでに中皮細胞に変化のあとが認められた。癌細胞の粘着性の弱い場合には、何らかの液性因子によって中皮細胞の変性が進行し、着床に適した段階になってはじめて着床が起こり、粘着能の強い場合には吸着後ただちに着床し、浸潤増殖するのではないかと考えられる。また組織障害と着床との関係についての Buck<sup>4)</sup>の研究によれば、障害された腹膜には早期に癌細胞が着床すると報告しており、また癌細胞着床以前に起こる中皮細胞の変化は、癌性腹水の液性成分によるもので、肝表面に比べ、壁側腹膜の方により強い変化を認めるとい

う報告もある<sup>21)</sup>。著者の観察では、AH 130 の着床増殖過程の肝表面の変化は、壁側腹膜に比べ比較的軽微であり、この傾向は MMC 注入後の走査電顕的観察でより明らかであった。この結果、癌細胞の着床増殖に対して、肝表面は壁側腹膜より比較的抵抗性が強いと考えられる。AH 130 の着床増殖過程において癌細胞は吸収能力の強い肝表面に早期に吸着されるが、抵抗性も強いために、癌細胞の粘着性もあって、壁側腹膜と同様の着床増殖過程をとったと考えられる。次に着床の形態については、血行性転移の場合、電顕的観察によると、癌細胞は、内皮細胞の間に偽足様突起を出して着床すると一般には考えられている<sup>22)</sup>。腹膜播種の場合はどうか。Birbeck<sup>3)</sup>は腫瘍細胞が基底膜に直接に密着していたとし、微絨毛や偽足様突起の関与については触れていないが、工藤<sup>5)</sup>は偽足様突起を出したり、微絨毛がからみ合ったりして、中皮細胞上に接着していたと述べている。この着床形態の相異は、腫瘍細胞の違いによって着床過程が異なるためではないかと思われる。著者の観察では、走査電顕上で中皮細胞上に着床した腫瘍細胞が偽足様突起を出したり、微絨毛をからませている像を観察できたが、偽足様突起や微絨毛と基底膜との関係については明らかにできなかった。

## (2) 増殖像

着床した細胞がどのような過程をとって増殖するかについては、血行性転移の場合、Wood<sup>13)</sup>や Jones<sup>16)</sup>の実験報告によると、1つは着床細胞の脈管外へのくぐり抜けであり、もう1つは Chew<sup>14)</sup>の報告にあるように内皮細胞の破壊による浸潤である、そのどちらかの過程を経た後、癌細胞は脈管外で増殖すると一般的には考えられている<sup>22), 23)</sup>。腹膜播種の場合には、Birbeck<sup>3)</sup>は基底膜を破壊し浸潤増殖するといっているが、工藤<sup>5)</sup>は基底膜破壊前に中皮細胞上で一層の増殖像を示し、その後中皮膜細胞を破壊して組合組織内に浸入するとしている。著者の観察でも基底膜破壊以前に中皮細胞上で増殖が始まり、基底膜を破壊するころには、多層の癌細胞集塊を形成していた。このような増殖

の場や速度の相異は，腫瘍細胞の種類の違いによると考えられる。また，着床増殖における基底膜露出は何を意味するであろうか。著者の観察では，末期になると癌細胞が増殖していない部位でも，中皮細胞の欠損と結合組織の露出が認められた。Birbeck<sup>30)</sup>のいう選択的親和性があれば，この露出部位にも，増殖像が認められるはずであり，宿主のもつ何らかの別の因子の関与を思わせる。Murryら<sup>24)</sup>は転移癌細胞は基底膜の type IV collagens に特異的に付着すると報告している。また，増殖部位における中皮細胞の破壊については，Sylvénら<sup>25)</sup>のいう癌細胞集塊の出す化学物質の影響も考えられ，また癌性腹水中に含まれる何らかの化学物質の影響によることも推測される。

## 2 着床，増殖に対する MMC の影響

転移の形成過程に不明な点が多いため，転移を抑制する治療法は未だ初歩の段階であるが，血行性転移を防止する薬剤として，ICRF 159<sup>26)</sup>やプロテアーゼ阻害剤<sup>27)</sup>などが実験的に試みられている。一方腹膜播種の予防治療について西村は，成立機転の各段階に応じた効果的な方法を考慮する必要があるとしている。臨床上進行した癌症例では，術中腹腔内細胞陽性例を認め<sup>29)</sup>，着床を予防する必要性から，MMC の術中大量静注法，および MMC の腹腔内投与などが古くから試みられてきた。

しかし MMC の腹腔内投与<sup>6)</sup>については投与後の腸管癒着，また有効性という問題で，着床の予防法としてこれが適当であるかどうかの結論は出ていない。

今回行った実験において，AH 130 移植後，3日目より MMC の腹腔内注入を開始した 4 群は，癌細胞の着床が認められない時期を選択したもので，腹膜播種の予防を目的として設定した。ところで AH 130 は MMC に対する感受性が高く，100 mcg/kg，200 mcg/kg の連日投与及び，500 mcg/kg の 5 日間連日投与で十分に延命効果があり，一部には完全に治癒する実験群もあり，大量間歇投与法に相当すると報告されている<sup>9)</sup>。しかしながら腹膜播種に対しては

どうであろうか。きわめて少量投与の場合には，AH 130 細胞の早期増殖というかえって悪い結果が得られた。この原因については，1つは MMC の中皮細胞に対する障害性に着目したが，実験 3 において，この程度の投与量では中皮細胞に変化を認めないという結果がでたため，本機序の解明はできなかった。さらに投与量を増加させると，経過中に癌細胞の着床抑制効果を認めたが，1,000 mcg/kg，2 回投与後でも早期効果しかなく，末期になると，癌細胞は腹膜面で集塊を形成し，基底膜下に浸潤していた。抗癌剤の予防的腹腔内投与は，一定量までは早期効果しか得られなかった。これについては，抗癌剤により増殖を抑制され，少数となった癌細胞が，のちに急激に分裂増殖を起し，MMC によって，より脆弱化された腹膜面において，着床増殖したものと推測している。着床，増殖を抑制するには，さらに MMC の大量を必要としたが，腹膜面の変性も著明で，この時期にさらに癌細胞の剝離遊出という現象が加われば，着床増殖には適した条件となることが予想される。腹膜播種の 1 つの成立機序が腹腔内遊離癌細胞の漿膜面における着床，増殖と考えるならば，予防法については，1 つは，著者が観察した癌細胞着床前の中皮細胞の変性防止が必要であると思われる。中皮細胞の変性は，癌細胞が分泌すると思われる何らかの物質の関与が強く考えられるために，この物質の作用を抑制する薬剤の使用が必要であろう。他の 1 つは当然のことながら癌細胞の破壊である。抗癌剤の腹腔内投与は，腹腔内遊離癌細胞と抗癌剤との接触時間が長く，抗癌剤の適当な投与方法と思われる。MMC の単独では，実験的腹膜播種を抑制するのにきわめて大量を必要とし，中皮細胞の障害も大きいために，投与法の改良工夫が検討されるべきであろうし，さらに線溶系や免疫との関連なども考慮されなければならない。一方，癌性腹膜炎の治療については，臨床薬理学的検討，免疫の関与，線溶の問題をふまえて，さまざまな投与方法，投与経路の開発が行なわれ<sup>6)-8), 31), 32)</sup>，近年，Hyperthermochemotherapy<sup>33)</sup>の臨床応用も導入されてきた。しか

しながら実験的に腹膜播種細胞に対する抗癌剤の効果を検討した報告は少ないので、現在までに最も頻繁に用いられて来た MMC を使用して、検討を試みた。治療開始の指標としては、AH 130 移植後、7日以後に層状の増殖像を腹膜面に認めるので、移植後6日目を治療開始の期日とした。総投与量 1,000 mcg/kg 程度では、腹水浮遊細胞の軽度変性、腹水の軽度減少も認め、一応治療効果はあるが、腹膜面では、きわめて多数の癌細胞集塊が観察され、播種癌細胞に対する治療効果は認められなかった。しかも、MMC 未処置の群に比べ、処置群の方がより強い増殖像を示した。これは浮遊癌細胞に比べ、着床癌細胞は治療効果が低いことを立証するものとも思われるが、増殖像が対照より増強されるという機序はなお不明である。さらに投与量を増加させると、浮遊癌細胞に著明な変性を認め、細胞数も減少し、腹水は減少するが、腹膜面での癌細胞の増殖像は MMC 未処置のものとはほぼ同様であり、同一個体での治療効果に著しい差が存在した。治療効果を認めるのは、総投与量 3,000 mcg/kg になってからであり、4,000 mcg/kg では著明な効果が得られた。しかしながら、MMC に対して感受性の高い AH 130 に対しても大量投与を必要とし、大量投与には限界があるため投与法の工夫が今後の課題であろう。

また、MMC の単独腹腔内投与について、見るべき有効性はないという報告もあるが<sup>35)</sup>、最近腹腔内投与に関して、5-Fu の有用性を述べた報告もあり<sup>36)</sup>、また実験的に腹膜播種癌細胞に対する制癌剤腹腔内投与の有効性を述べた報告<sup>34)</sup>もあるので、癌性腹膜炎に対して腹腔内投与による積極的な治療法が、今後期待される。

## 結 語

AH 130 を用いて、ラットにおける実験的腹膜播種の形成過程を観察した。さらに、MMC をラット腹腔内に注入して、腹膜播種に対する効果を検討した。

I AH 130 移植後3日目までは、癌細胞の着床は肝表面、壁側腹膜において観察されず、中皮細胞の微絨毛にのみ軽度の変化を認めた。

II 移植後4日目以後になって、肝表面、壁側腹膜の中皮細胞上に癌細胞の着床像を認めた。中皮細胞は、移植後5～6日目になると、凹凸不整でやや丸みを帯び、中皮細胞間結合に間隙を生じ、微絨毛も短縮傾向を示した。

III 移植後7日目になると、中皮細胞上に一層の癌細胞の集合像が観察された。中皮細胞は変性して、紡錘型を呈していた。

IV 移植8日目以後、癌細胞の集塊は多層化の傾向を示し、集塊同志があたかも融合する様な像が観察され、基底膜を破壊して浸潤していた。中皮細胞は変性し、一部では欠損して結合組織の露出が認められ、残存する細胞の微絨毛は短縮して癍痕状となっていた。これらの中皮細胞の変性は肝表面では壁側腹膜に比べ軽微であった。

V AH 130 の着床増殖過程は、肝表面、壁側腹膜においてほぼ同じ時期に始まり、差異は認められなかった。

VI 実験的腹膜播種の予防を目的として、AH 130 移植後3日目より MMC の腹腔内注入を開始したラット群において、MMC の総投与量 3,000 mcg/kg 未満では着床の早期にのみ有効であった。末期に至るまで予防効果を得るには、MMC に感受性の高い AH 130 においても、総投与量 4,000 mcg/kg の大量を必要とし、その際の中皮細胞の変性は強く、単独投与は予防法として適当であるとはいいがたい。

VII AH 130 移植後6日目より治療を開始したラット群において、MMC の投与量の増加に比例して腹水量は漸減し、腹水中の癌細胞の変性も高度になったが、腹膜播種癌細胞の増殖抑制効果はなく、総投与量 3,000 mcg/kg に至って有効であり、4,000 mcg/kg において著効を示した。この結果、腹水の減少、腹水中の癌細胞に対する治療効果と腹膜播種癌細胞に対する治療効果とは相関しているとはいいがたく、大量投与には限界があるために、投与法の工夫が今後の課題である。



VIII MMC 治療群において，肝表面，壁側腹膜の中皮細胞の変性を比較すると，癌細胞の増殖部位を除けば，肝表面の方が，細胞の配列は良く保たれており，欠損部位もほとんど認めな

かった。肝表面の中皮細胞の方が癌細胞の浸潤や，MMC による損傷に対して抵抗性を持つことが示唆された。

## 文 献

- 1) Willis, R. A.: The spread of tumours in the human body, 3rd ed. London, Butterworth, 1973, p. 49
- 2) Wheatley, D. N. and Ambrose, E. J.: Tumour cell invasion from transplantable ascites tumours into host tissues. *Br. J. Cancer* 18: 730—742, 1964
- 3) Birbeck, M. S. C. and Wheatley, D. N.: An electron microscopic study of the invasion of ascites tumor cells into abdominal wall. *Cancer Res.* 25: 490—497, 1965
- 4) Buck, R. C.: Walker 256 tumor implantation in normal and injured peritoneum studied by electron microscopy, scanning electron microscopy and autoradiography. *Cancer Res.* 33: 3181—3188, 1973
- 5) 工藤浩史：腹水肝癌細胞 AH 130 移植ラットにおける実験的腹膜播種像の走査電顕的視察。日外会誌 80: 147—163, 1979
- 6) 竹中正治，谷田 秀，竹内 隆，宗像雅大，阿部重郎：制癌剤の腹腔内投与について。最新医学 28: 965—974, 1973
- 7) 吉川謙蔵，北岡久三，伊藤一二：胃癌の化学療法 —特に大動脈挿管持続注入法による効果の検討—。癌の臨床 19: 776—778, 1973
- 8) 前田迪郎，金山博友，飯塚保夫，清水法男，金島新一，阿部重郎，谷田 理，竹内 隆，古賀成昌：腹膜転移例に対する OK-432 (Picibanil) の腹腔内投与 —腹水細胞の変化を中心として—。癌と化学療法 4: 655—659, 1977
- 9) 芝 茂，田口鉄男：マイトマイシンの基礎と臨床。東京，医学書院 1967, p. 38
- 10) Wetzel, B., Erickson, B. W., Levis, B. R., et al.: The need for positive identification of leucocytes examined by scanning electron microscopy, *IIT Res. Inst. Chicago*, 1973, p. 535
- 11) Kaneshima, S., Koga, S. and Tanaka, K.: A simple method for cellular identification of free cells by light microscopy. *J. Electron Microsc.* 26: 355—358, 1977
- 12) 江川重松，生田房弘：エボン包埋切片でのヘマトキシリン・エオジン染色法について。脳と神経 26: 394—396, 1974
- 13) Wood, S. Jr.: *In "Pathobiology annual"*, vol. 1, ed. by Ioachim, H. L. London, Butterworth, 1971, p. 281
- 14) Chew, E. C., Josephson, R. L. and Wallace, A. C.: *In "Fundamental aspects of metastasis"*, ed. by Weiss, L. Amsterdam-Oxford, North-Holland Publishing Co. 1976, p. 121
- 15) Kojima, K. and Sakai, I.: On the role of stickiness of tumor cells in the formation of metastasis. *Cancer Res.* 24: 1887—1891, 1964
- 16) Jones, D. S., Wallace, A. C. and Fraser, E. E.: Sequence of events in experimental metastasis of Walker 256 tumor: Light, immunofluorescent and electron microscopic observation. *J. natl. Cancer Inst.* 46: 493—504, 1971
- 17) Wood, S. Jr.: Pathogenesis of metastasis formation observed in vivo in the rabbit ear chamber. *Arch. Path.* 66: 550—568, 1958
- 18) 秋田八年，迫田晃郎：腹膜の滲出と吸収。外科 35: 362—367, 1974
- 19) 宮崎素彦 ほか：腹膜播種性転移の形成機序に関する実験的研究（第4報）転移巢の分布と腹膜の局所吸着性との組織学的検討。第36回日本癌学会総会記事 1977, p. 247

- 20) 馬場恒男: 腫瘍の浸潤機序における実質と間質の相関について. 癌の臨床 12: 438—443, 1966
- 21) 喜安佳人 ほか: 癌性腹水の腹膜漿膜細胞に及ぼす影響. 第38回日本癌学会総会記事 301, 1979
- 22) Baldwin, R. W.: Secondary spread of cancer. London, Academic Press Inc. 1978, p. 27
- 23) 鈴木磨郎, 佐藤春郎: 癌細胞の血管付着機構 —血行性転移における 定着機構—. 血液と脈管 3: 501—509, 1972
- 24) Murray, J. C., Liotta, L., Rennard, S. I. and Martin, G. R.: Adhesion characteristics of murine metastatic and nonmetastatic tumor cells in vitro. Cancer Res 40: 347—351, 1980
- 25) Sylven, B. and Bois-Svenson, I.: On the chemical pathology of interstitial fluid-1. Proteolytic activities in transplanted mouse tumors. Cancer Res. 25: 458—468, 1965
- 26) Salsbury, A. J., Burrage, K. and Hellmann, K.: Histological analysis of the antimetastatic effect of (±)-1, 2, -Bis (3, 5-dioxopiperazin-1-yl) propane. Cancer Res. 34: 843—849, 1974
- 27) Latner, A. L., Longstaff, E. and Pradham, K.: Inhibition of malignant cell invasion in vitro by a proteinase inhibitor. Br. J. Cancer 27: 460—464, 1973
- 28) 西 満正, 大山 満, 中島聡総, 大橋一郎, 西俣嘉人, 坂元五偉: 癌性腹膜炎(播種)の発生病理. 外科 35: 385—390, 1974
- 29) 中島聡総, 及川隆司, 大橋一郎, 原島三郎, 平田守男, 中村恭一, 梶谷 鏝: 進行胃癌における術中腹腔細胞診の意義. 癌の臨床 23: 27—34, 1977
- 30) 服部孝雄, 森 彬, 平田克治, 伊藤一二: 胃癌の術中マイトマイシン大量投与の遠隔成績. 癌の臨床 19: 241—248, 1973
- 31) Krakoff, I. H., Cvitkovic, E., Currie, V., Yeh, S. and Lamonte, C.: Clinical pharmacologic and therapeutic studies of Bleomycin given by continuous infusion. Cancer 40: 2027—2037, 1977
- 32) 中島聡総, 小嶋康利, 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—630, 1978
- 33) Spratt, J. S., Adcock, R. A., Muskovin, M., Sherrill, W. and McKeown, J.: Clinical delivery system for intraperitoneal hyperthermic chemotherapy. Cancer Res. 40: 256—260, 1980
- 34) Kurokawa, T., et al.: Intraperitoneal chemotherapy for cancer dissemination in the mouse. —Observation with scanning electron microscopy. J. clin. Electron Microscopy 12: 470, 1979
- 35) 谷川允彦 ほか: MMCの動脈内注入及び腹腔内注入療法に関する検討. 第38回日本癌学会総会記事 1979, p. 313
- 36) Speyer, J. L., Collins, J. M., Detric, R. L., Brennen, M. F., Buckpitt, A. R., Londer, H., Devita, B. T. Jr. and Myers, C. E.: Phase I and pharmacological studies of 5-fluoro-uracil administered intraperitoneally. Cancer Res. 40: 567—578, 1980