

抗癌劑의 스크리닝方法에 關하여

李 殷 芳 · 權 寧 命*

(Received December 7, 1972)

Eun Bang Lee and Young Myung Kwon: Screening
Methodology for Antitumor Agents.

新藥의 探索·開發을 위한 醫藥의 技術(technology)은 現在 括目할 만한 發展相을 보이고 있다. 특히 人體의 癌에 有效한 藥物을 探索키 위한 스크리닝技術은 動物에 있어서 實驗的 人工癌의 誘發을 嚆矢로 하여, 人體癌을 動物에 移植하는데 成功함으로써 急進展을 이루고 있다. 山極等¹⁾이 1915년에 家兔의 耳殼에 타-알을 塗布하여 人工의 타-알癌을 誘發시킴으로써, 發癌作用의 Virchow 刺戟學說을 證明하였고, 筒井²⁾는 家兔의 耳殼대신에 마우스皮膚에 타-알을 塗布하여 發癌에 成功함으로써 그를 再確認한 바 있다. 그 후에 各種 動物에 皮膚癌, 肝癌, 肺癌, 胃癌等 各 器官과 組織에 癌을 誘發시키고 있으며, 1951年 Toolan³⁾은 人體癌을 X線 照射動物에 移植하고 이를 固定시킨 바 있다.

抗癌劑스크리닝은 現在 數 많은 方法들이 開發되어 있으며, 世界 各國의 癌研究所 藥効部에서는 各各 固有의 數種方法을 基準化하여 實施하고 있다. 그 方法은 主로 動物의 移植癌腫을 對象으로 實施하고 있으며 기타의 數種方法이 補助的으로 쓰여지고 있다.

現까지 알려진 스크리닝方法을 그 對象이 되는 生物의 種類에 따라 分類하면, 우선 癌腫을 使用하지 않는 試驗系와 癌腫을 使用하는 試驗系로 大別할 수 있는 바, Table I과 같다.

Table I—Classification of screening systems for antitumor agents.

-
1. A system using non-tumors
 - 1) Plants; detached onion root tips
 - 2) Animals; fertilized eggs (of a sea urchin, of a frog), drosophila, newt, hen embryos
 - 3) Microbes; protozoa, bacteria, fungi, virus (including phages)
 2. A system using tumors
 - 1) *in vitro*
 - a) Non-proliferated tumor cells
 - b) Proliferated tumor cells
 - 2) *in ovo*
 - 3) *in vivo*
 - a) Spontaneous tumors
 - b) Induced tumors (virus, chemicals)
 - c) Transplanted tumors
-

* Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea.

癌腫을 사용하지 않는 방법으로서는 양파의 根端細胞와 같은 植物을 사용하거나 성계受精卵蛙受精卵, 鷄受精卵, 초파리 등의 動物을 사용하거나 微生物을 사용하는 방법이 있다.

그러나 이들은 癌特異的인 것이 못되고 補助的 手段에 不過하며 다만 微生物을 사용하는 방법은 어느 程度의 有用性이 認定되고 있다. 即 大腸菌의 變形(特히 elongation)⁴⁾이나 phage로부터 溶原性 phage의 誘發⁵⁻⁷⁾을 指標로 하는 방법은 抗癌作用과 必然的인 關係는 없으나 經驗的으로 그의 相關性이 認定되고 있으며, 기타 感受性 virus나 phage의 增殖阻止^{8,9)} *Lactobacillus casei* 株의 核酸合成阻害¹⁰⁾, 感受性菌의 發育阻止, 原蟲의 運動停止나 增殖의 抑制, *Streptomyces griseoflavus* 株의 methionine이나 glutamate 依存性的 失活¹¹⁾, 呼吸能을 잃은 酵母變異株의 選擇의 阻止¹²⁾ 등이 利用된다.

그러나 역시 抗癌스크리닝을 위하여는 癌腫을 사용하는 것이 더욱 妥當性이 있다고 생각된다. 抗癌劑스크리닝을 위하여 梅澤¹³⁾는 다음과 같은 條件을 들고 있다. 即, a) 藥劑에 대한 感受性이 可能한 限 人體癌에 가깝게 推定될 수 있는 實驗材料를 씌우므로서 質的 感受性이 있어야 할 것. b) 試驗法이 될 수 있는 한 感度가 높아서 量的 感受性이 있을 것. c) 試驗法은 될 수 있는 限 正確한 結果를 얻을 수 있을 것. 即 精度가 좋고 再現性이 있을 것. d) 多數의 檢體를 簡易하게 시험할 수 있을 것. e) 結果를 迅速히 알 수 있을 것 等이다.

이 중에 a)는 가장 基本的인 것이어서 抗癌스크리닝에는 癌腫을 採擇한 實驗이 가장 널리 實施되고 있다.

癌腫을 사용하는 방법을 다시 3가지로 나눌 수 있다.

첫째로 *in vitro* 法에서는 癌細胞로서 HeLa S₃ cell, KB cell, 吉田肉腫細胞 등을 사용하고 培地에서의 이들 癌細胞의 變化를 보는 것이다. 여기에는 癌細胞의 形態學的 變化를 指標로 하는 境遇와 對照增殖에 대한 增殖抑制度를 細胞數計算으로 測定하는 境遇의 두 方法이 있다. 또한 contact test 라고 하여 *in vitro* - *in vivo* method 가 있는데 이는 被檢物質의 段階的 希釋液중에 腫瘍細胞의 一定數를 接種하여 37°에 一定時間 培養하고, 癌細胞를 遠心分離한 후 健康動物에 移植하여 이 動物의 life-span 과 그 動物體 移植癌細胞의 形態學的 變化를 對照群의 것과 比較判定하는 方法이다.¹⁴⁾

둘째로, *in ovo* 法은 一名 孵化鷄卵法으로서 發育鷄卵內에 癌을 接種하여 抗癌物質을 스크리닝하는 方法이다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 效果의 判定는 發育抑制, 細胞學的檢索에 의한다. 이는 短時間內에 大量取扱이 되고 embryo에 대한 藥物의 毒性을 同時에 比較할 수 있으며 動物實驗에 比하여 經濟的이나 細心한 注意와 어느 程度의 熟練이 必要하다. 다만 動物體內的 癌의 環境과 同等한 條件은 아니다.

따라서 보다 推獎할 수 있는 방법은 셋째로서, *in vivo* 法이다. 이 방법은 다시 動物의 自然發生癌, 誘發癌 그리고 移植癌腫에 대하여 試驗하는 3가지 方法으로 나눈다. 自然發生癌은 마우스의 肺腫瘍, 肝腫瘍 등이 그 例로서, niacin 不足飼料¹⁸⁾나 vitamin A의 缺乏이 마우스의 肺腫瘍發生頻度を 높인다고 報告하고 있다.¹⁹⁾ 또한 細胞菌環境因子의 영향에 대하여 swiss 系의 自然마우스와 無菌마우스의 肺腫瘍發生率을 보면, 前者에서는 201—600 日의 年齡層이 많고, 後者에서는 601—1000 日의 高年齡層이 많다.²⁰⁾

또한 마우스의 系統에 따라 發生頻度も 다르다. Table II는 그 發生頻도를 표시한 것이다.²¹⁾

Table II—Frequency of spontaneous lung-tumors in mice.

| Mouse strain | Per cent incidence by sex | | |
|--------------|---------------------------|--------|---------------|
| | Male | Female | Virgin female |
| DBA/1J | 3 | 1 | 0 |
| P/J | 0 | 3 | 2 |
| A/J | 6 | 32 | 26 |
| BALB/c scot | 32 | 30 | 14 |
| A/He | 44 | 23 | 30 |

即, A/J系 마우스에서의 發生率은 雌性(32%)와 處女(26%)가 많고 雄性(6%)에는 적다. P/J系에서는 雌性和 處女만이 發生한다. 다음에 誘發癌은 마우스나 흰쥐에 있어서 皮膚癌, 肺癌, 肝癌, 腺癌, 胃癌, 白血病 등이 있는 바²³⁾, 이 癌의 誘發을 위한 癌原性物質은 Table III에 表示한 바와 같이 化學物質, virus, hormone, radioactive substance 등이다.

Table III—Tumorigenic substances.

| | | |
|---------------|---|--|
| 1. Chemical; | 20-methylcholanthrene <i>p</i> -dimethylaminocobenzene (DAB) 4-nitroquinoline 1-oxide | 3,4-benzpyrene <i>o</i> -aminoazotoluene (OAT) dimethyl nitrosoamine (DMN) |
| 2. Virus; | | |
| DNA type; | papova virus, adenovirus T-12 | T-18, myxoma like virus. |
| RNA type; | mouse leukemia virus group, rous sarcoma virus | avian leucosis virus group. |
| 3. Hormone; | removal of the glands | |
| 4. Radiation; | X-ray, ¹³¹ I | |

Shear²³⁾에 의하면 M系 (Leaden) 및 A系 마우스 각각 4 및 19匹에 있어서 *o*-aminoazotoluene 1回 10mg을 約 2箇月 간격으로 6回 注射하였을때, 1年 以上을 生存한 11匹이 100%의 肝癌을 誘發시킨다고 報告하고 있다.

그러나 이상 記述한 自然發生癌이나 誘發癌에 대하여는 大量의 被檢物質을 스크리닝하기에는 實用的이 되지 못 함으로 移植癌腫에 의한 스크리닝이 繁用되고 있다. 人體癌을 動物에 移植한 異種移植癌이나 動物의 自然發生癌腫이나 誘發癌腫을 移植한 同種移植癌을 使用하고 있다. 現在까지 알려진 移植癌腫은 極히 많은 數가 알려져 있는 바, 이를 Table IV에 表示하였다.²⁴⁻²⁶⁾

即 現在까지 알려진 移植癌腫은 約 56種에 達하나, 美國 NIH의 Cancer Chemotherapy National Service Center (CCNSC)에서는 Sarcoma 180, adenocarcinoma 180, adenocarcinoma 755, leukemia L 1210, Ehrlich carcinoma 등 21種에 對하여 試驗法이 基準化되어 있고²⁵⁾, 最近에는 많은 削除를 加하여 lymphoid leukemia L1210, lymphocytic leukemia P 388, melanotic melanoma B16, Lewis lung carcinoma 및 Walker carcinoma 256 등을 基準化하고 있다.²⁶⁾

그들 癌腫은 腹水型和 結節型으로 大別되며 效果의 判定은 普通, 腹水型에서는 腹水貯溜의 抑制(體重增加의 抑制), 延命效果, 細胞學的 檢索 등에 依하고, 結節型에서는 腫瘍의 發育

Table IV—Classification of transplantable tumors.

| | | |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| 1. Carcinoma | | |
| Ehrlich carcinoma | Carcinoma 755 | Carcinoma RC |
| Carcinoma 1025 | Carcinoma EO 771 | Krebs 2 carcinoma |
| Carcinoma C3HBA | Carcinoma S-780 | Bashford carcinoma 63 |
| Lewis lung carcinoma | Miyono carcinoma | Guerin carcinoma* |
| Flexner-Jobling carcinoma | Brown-Pearce carcinoma** | |
| 2. Sarcoma | | |
| Sarcoma 180 | Lewis sarcoma T 241 | |
| Sarcoma 37 | Sarcoma MA 387 | |
| Osteogenic sarcoma HE 10734 | Ridgway osteogenic sarcoma | |
| Wagner osteogenic sarcoma | Jensen sarcoma* | |
| Sarcoma R 39* | Sarcoma 45 | |
| Yoshida sarcoma* | Takeda sarcoma* | |
| Rous sarcoma*** | | |
| 3. Leukemia | | |
| Leukemia L 1210 | Leukemia P 38 | Leukemia SN 36 |
| Leukemia AK 4 | Leukemia C 1498 | Leukemia L 4946 |
| Friend virus leukemia | Dunning leukemia IRC 741* | |
| 4. Hepatoma | | |
| Hepatoma 129 | Mouse ascites hepatomas | Rat ascites hepatomas* |
| 5. Carcinosarcoma | | |
| Walker carcinosarcoma 256* | | |
| 6. Lymphosarcoma | | |
| Mecca lymphosarcoma | Patterson lymphosarcoma | |
| Gardener lymphosarcoma | Murphy-Sturn lymphosarcoma* | |
| 7. Melanoma | | |
| Cloudman melanoma | Harding-Passay melanoma | B 16 melanoma |
| 8. Others | | |
| Walker carcinosarcoma 256* | Chloroleukemia AK 1394 | Shay chloroleukemia 123* |
| Lymphoma C3H-SK | Glioma 26 | |

*; rat **; rabbit ***; chick no mark; mouse

抑制, 때로는 動物의 延命效果, 組織學的檢索에 依한다. 動物移植癌腫을 腹水型으로 擇하느냐, 結節型으로 擇하느냐는 問題는, 結節型의 皮下腫瘤增大 阻止作用이 人體癌에 대한 有効性を 期待할 目的인 以上, 重要한 意義를 갖이고 있다. 그러나 Ehrlich carcinoma, sarcoma 180 等의 結節型에 있어서 擔瘤마우스의 致死는 長期日이 걸리므로 延命效果를 試驗하기에는 難點이 있다. 腹水型은 癌細胞의 變化를 經時的으로 容易하게 觀察할 수 있고 延命效果도 쉽게 볼 수가 있다. 이 腹水型에는 延命效果를 나타내지 않는 毒性物質도 細胞變化를 일으키고 가끔 腹水の 增加를 阻止함으로, 效果의 判定에는 반드시 延命效果를 基礎로 할 必要가 있는 것이다. 結果의으로 腹水型이든 結節型이든 간에 각각 長短點이 있고 한쪽型에만

有効한 藥劑도 있으므로 어느편이 좋은지는 한말로 말할 수 없다.

또한 上述의 各種의 癌腫에 있어서 어느 것을 擇하여 어느 方法으로 試驗하느냐 하는 것은 重要한 問題로 되어 있다. 山木²⁷⁾는 스크리닝에 쓰이는 移植癌腫의 條件으로서, a) 發育이 빨를것, b) 均一한 發育을 할것 c) 移植率이 優良할 것(100%일것), d) 自然治癒例가 없을 것을 들고 있다. 癌腫의 移植率은 宿主의 系統과 腫瘍의 組合에 의하여 左右된다. 田吉肉腫은 1943年의 發明當時에는 10^7 cell을 雜系의 albino rat의 腹腔內移植함으로써 移植率이 95%이고, 나머지 5%는 autoregression으로 나타났으나, 그 후에 흰쥐의 純化로서 現在의 Donryu系 흰쥐에 10^6 個의 腫瘍細胞 移植으로 100%의 移植率을 얻고 있다.²⁸⁾ 一般적으로 腫瘍細胞와 宿主와의 遺傳的背景에 差異가 있으면 宿主에 移植된 腫瘍細胞에 對하여 免疫學的인 抑制效果를 發揮하기 쉽다. 이러한 境遇에는 腫瘍細胞의 增殖速度가 그의 免疫抑制를 壓倒하면 動物은 腫瘍死에 이른다. 그러나 이러한 腫瘍死에 達할 경우에도 宿主의 免疫的인 作用은 腫瘍의 增殖에 어떤 抑制를 나타냄으로 이때에 抗癌劑를 投與하면 그 效果는 宿主의 免疫效果와 相加적으로 나타나서 判定에 差질이 招來케 된다. 따라서 可能한 限 純系動物을 使用함이 理想的이다. 抗癌스크리닝에 있어서 被檢物質의 投與量은 그 物質의 LD_{50} 에 近接한 量 또는 그의 1/2量 등으로 漸次 減量하면서 行한다. 그의 投與는 一回로서 試驗하기도 하나 一般적으로 1日 1回 7-10日의 連續投與를 하고 處置群의 平均生存期間이 對照群의 것보다 짧은 경우에는 用量過多로 因한 中毒死로 보고 減量하는 것이다. 處置期間中의 處置動物의 體重變化도 毒性表現과 關聯시켜 觀察할 必要가 있으며 下痢·神經障害에 의한 行動의 異常도 觀察記錄해야 한다. 大部分의 抗癌劑에는 血液像의 變化도 重要한 毒性의 指標이다. 動物死亡時의 解剖所見도 各種의 情報를 提供해 준다. 特殊器官의 增大·縮少, 肝臟의 組織所見이나 瘍管에 보이는 出血의 有無도 注目할 所見이다.

被檢物質의 投與는 普通, 腹腔內, 靜脈內, 皮下, 經口, 또는 筋肉에도 實施하고 있다. 腹腔內의 腫瘍에 대하여 靜脈內, 皮下, 經口等, 間接的인 部位에서 投與하는 경우는 그 宿主의 體內에서 物質이 投與部位로 부터 癌腫細胞에 到達하는 條件에 의하여 效果가 현저히 修飾될 수 있다. 따라서 그 物質이 적어도 抗癌效果가 있느냐 없느냐를 決定하는 一次스크리닝의 目的에는 腹腔內 直接 投與함이 有利하다고 본다.

本研究所에서는 韓國產植物에 대한 抗癌스크리닝을 하고 있다.²⁹⁾ 그러므로 그것을 中心으로 하여 抗癌劑스크리닝의 實際方法을 記述코자 한다. 이는 주로 美國, NIII의 CCNSC의 方法이고 그를 약간 改變한 것이다.

各種植物의 EtOH extracts의 乾燥物을 被檢物質로 하여 *in vitro*法과 *in vivo*法으로 施行하였다.

*In vitro*法으로서는 癌細胞로서 HeLa-S₃를 使用하여 20%牛血清이 첨가된 YLE培地에서 monolayer가 形成 될때 까지 37°에서 約 60-75時間 培養한다. 이렇게 培養한 培養瓶에 trypsin-versene液을 加하고 다시 새로운 培養液을 加하여 HeLa-S₃ cell數가 10^6 cell/ml가 되도록 현탁액을 만든다. 이 液 一定量을 screw cap tube에 分注하여 約 10°의 경사로 24時間 培養한 後 배양액을 버리면 器壁에 附着된 癌細胞만 남는다. 여기에 새로운 培養液을 一定量 加하고 被檢藥物 各各 3, 30, 300 μ g/ml 濃度の 현탁액을 加한다. 對照群에는 0.5% C.M.C. 현탁액 一定重을 加한다. 그리고 3日間 培養하여 Folin-phenol 試藥法³⁰⁾으로 細胞의 總蛋白質量을 測定하여 用量作用線에 의하여 ED_{50} 을 求한다. 有効의 判定은 一次

試驗에서 $ED_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$, 二次試驗에서 $ED_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ 로서 하는 바, Table VI에 表示한 基準에 의한다.²⁵⁾

Table VI—Evaluation criteria

| Test | Sample | Stage I | Stage II |
|--------------|-----------------------|--|----------------------------------|
| Sequential | Synthetics | $ED_{50} \leq 6 \mu\text{g/ml}$ | $ED_{50} \leq 4 \mu\text{g/ml}$ |
| | Plant extracts | $ED_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$ | $ED_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ |
| | Fermentation products | $ED_{50} > 1 : 100$ dilution | $ED_{50} > 1 : 100$ dilution |
| Confirmation | Synthetics | $ED_{50} \leq 4 \mu\text{g/ml}$ | |
| | Plant extracts | $ED_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ | |
| | Fermentation products | $ED_{50} > 1 : 500$ if known classes of cytotoxic agents are excluded. | |

In vivo 法에서는 마우스의 移植瘤腫을 使用하였고 그 瘤腫은 Ehrlich ascites, sarcoma 180 및 leukemia SN 36의 腹水型을 擇하였다. 使用한 動物은 ddD系 마우스로서 著者³¹⁾는 그 들 移植瘤腫의 移植率과 平均生存日數의 基礎인 調查結果를 報告한 바 있다. 이를 Table V에 表示한 바, 이는 1969年 9月부터 滿 3年間의 結果로서, 3種의 移植瘤腫에 대하여 각

Table V—Transplantation rate and survival time of mice

| | Ehrlich ascites | Sarcoma 180 | Leukemia SN 36 |
|------------------------------|-----------------|-------------|----------------|
| No. of mice | 893 | 935 | 860 |
| Transplantation rate (%) | 99.6 | 100 | 99.6 |
| Mean of survival time (days) | 15.0 | 14.9 | 15.8 |
| Standard deviation | 3.64 | 3.86 | 4.34 |
| Coeff. of variation (%) | 24.2 | 25.9 | 27.5 |

각 마우스 900餘匹의 移植率은 100%에 達하고 平均生存日數는 각각 15.0 ± 3.64 日, 14.9 ± 3.86 日, 15.8 ± 4.34 日이다. 이 平均生存日數는 Lettré³²⁾가 1957年까지 11年間에 걸쳐 3207匹의 마우스를 調査하여 14日이라는 結果와 大差가 없음을 알 수 있다.

以上과 같은 3種의 각 移植瘤腫 각 1×10^7 cells를 마우스 腹腔內에 接種하고 約一週日後에 腹水を 採取하여 각 瘤腫 1×10^7 cells/0.25ml가 되도록 희석하여 實驗用 接種에 使用한다. 即 이 稀釋한 腹水 0.25ml/mouse를 對照群과 試驗群의 腹腔에 각각 주사한다. 이들 操作은 無菌的으로 實施하고 腹水는 移植前에 bacterial culture로서 雜菌感染與否를 檢査한다. 이 節次를 Chart 1에 圖示하였다.

對照群은 14匹, 試驗群은 7匹의 마우스를 使用하고 被檢藥物은 10種을 同時에 實施할 수 있다. 이 藥物은 0.5% C.M.C.로 suspension하여 瘤腫移植 翌日부터, 對照群에는 生理食鹽水を 試驗群에는 被檢藥物의 0.5% C.M.C.懸液을 1日1回 腹腔內投與하는데, 死亡前까지 實施한다. 이때 每日의 體重을 측정하고 被檢藥物은 lethal dose가 400mg/kg以上일때는 400 mg/kg을 投與하고 對照群(C)에 대한 試驗群(T)의 平均生存日數가 85%以下일때는 被檢藥物의 毒性으로 看做하여 그 量을 半減한다. 效果의 判定은 美國 NIH의 CCNSC의 基準에 準하여, 스크리닝의 stage I에서는 $T/C \geq 125\%$, stage II에서는 $T/C \geq 156\%$ 일때 有効로 判

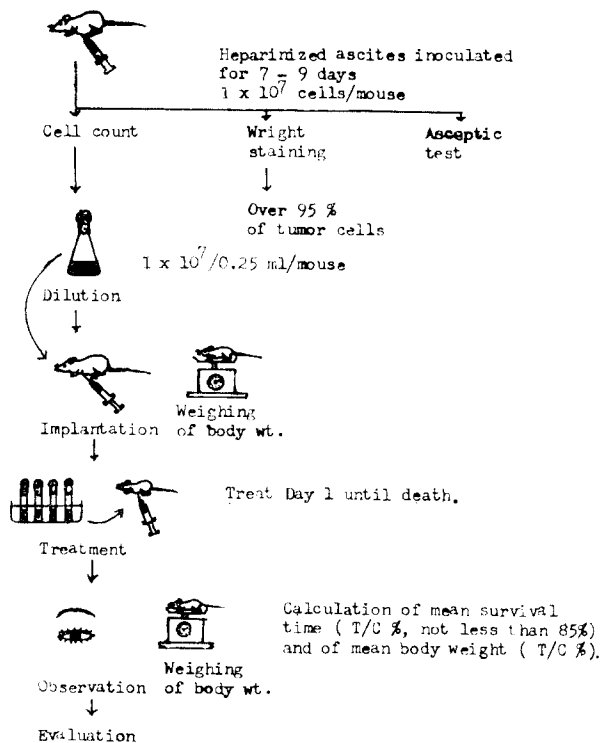


Chart 1—Experimental procedure of anti-ascitic tumor activity.

定하고 確認段階에 들어 간다. 이때에 stage I 및 II에서 사용한 用量을 X라고 하며, 化學物質에서는 3/2X, X, 2/3X, 4/9X의 4 用量에서 적어도 어느 一用量이 $T/C \geq 125\%$ 이어야 하고, 天然物質에서는 두 用量이 $T/C \geq 125\%$ 의 平均値를 나타내야 한다. 以下 判定基準은 Table VII에 準한다.

Table VII—Evaluation criteria.

| Test | Sample | Criteria |
|--|----------------------------------|---|
| Sequential (Step I) | Synthetics & Natural products | $T/C \geq 125\%$ in Stage I. $T/C \geq 156\%$ in Stage II. |
| Confirmation (Step II) | Synthetics | Dose-responsibility at four doses, 3/2X, X, 2/3X, 4/9X. $T/C \geq 125\%$ in any one dose. |
| | Natural products | Two successive dose-responsive tests. Repeatability. Replacement of the sample. Median $T/C \geq 125\%$. |
| Quantitative evaluation (Step III) | Synthetics | Reproducibility of $T/C \geq 150\%$. |
| | Natural products | Isolation of the active component and evaluation of the test on synthetics to be available. |

以上 本研究所에서 行하고 있는 스크리닝方法을 소개하였다. 一般的으로 스크리닝은 實驗能率이 좋고 結果의 信賴性이 높아야 한다. 그래서 能率과 信賴性에 重點을 두고 많은 方法들이 提示되고 있으나, 實際로 能率이 좋은 것은 信賴性이 낮고 信賴性이 높은 것은 能率이 좋지 못한 것이 大部分이다. 따라서 아직도 두 條件에 맞는 充分한 方法이 提示되고 있다고 볼 수는 없다.

抗癌스크리닝에 있어서 現在 應用되고 있는 方法에는 몇개의 問題點이 있다. 첫째로 宿主의 異種이다. 癌腫을 人體에서 스크리닝할 수는 없고 動物腫瘍을 對象으로 하여 試驗하고 있다는 點이다. 둘째로는 動物에의 移植性癌腫을 使用하고 있다. 大量의 被檢物質의 效果를 判定하기에는 自家發生의 所謂 autochthonous 한 腫瘍은 入手가 거의 不可能한 상태임으로 移植性癌腫을 擇하고 있다. 이 autochthonous의 宿主腫瘍關係와 移植腫瘍과는 效果發現條件이 다르다. 셋째로 癌腫의 異質性이다. 人體癌腫을 가지고 組織培養에 의한 試驗을 하여도 그 癌腫은 하나의 增殖性細胞이지 癌腫由來의 元組織에 關聯하는 分化의 形態가 아닌 것이다. 이러한 問題點을 안고 人體癌에의 有効性을 推定하지 않으면 안된다.

抗癌劑라면 우선 癌細胞의 增殖을 阻止하지 않으면 안된다. 이것은 癌의 本能에 대하여 알려지지 않은 點이 많다고 하여도 體內에서 增殖하는 癌細胞를 抑制하자하는 것으로서 抗癌劑의 檢定에는 增殖하고 있는 癌細胞集團을 實驗 model로 한 것이 移植性癌腫 model이다. 人體에 있어서 癌을 抗原으로 하는 宿主의 免疫發現은 매우 抑制된 狀態에 있다고 알려지고 있다. 이에 대하여 癌自體의 抗原性이 充分치 못할 경우가 있고, 그 抗原에 대한 宿主의 immunological tolerance의 狀態에 있다고 하는 見解가 있다. 어쨌든 간에 現實의 人體癌의 腫瘍宿主關係에는 惡性纖毛上皮腫이나 virus腫瘍性이 濃厚한 Burkitt腫瘍等, 한 둘의 例를 除하면, 宿主의 抗腫瘍免疫의 發現은 미미한 것이 보통이다. 그러나 스크리닝에 쓰이는 移植性實驗腫瘍에서는 宿主의 抗腫瘍免疫의 發現이 顯著한 것도 있어서 이러한 宿主腫瘍의 相關關係에서 나타난 抗癌效果는 宿主의 免疫效果와의 總和로 나타난다.³³⁾ 따라서 宿主의 免疫效果만을 增強하는 物質은 이 移植性癌腫에 有効하나 癌腫의 組織培養狀態에서는 無効한 것으로 나타난다.

그러면 어떠한 스크리닝方法을 擇하느냐 하는 問題에 대하여 確實한 論證은 아직도 없다. 다만 被檢物質의 數次 스크리닝過程에서 "false negative"를 나타내는 方法이어서는 안된다.

Armitage等³⁴⁾은 移植性癌腫以外에 組織培養, 微生物學的試驗 및 移植 人體癌腫에 의한 試驗을 必要를 言及하고 있으나, Geran等²⁶⁾은 移植性癌腫인 lymphoid leukemia L1210, leukemia p 388, melanotic melanoma B 16, lewis lung carcinoma, walker carcinoma 256의 5種에 의한 시험法과, cell culture法으로서 KB cell에 대하여 기준화되어 있다. 星等³⁵⁾은 多數의 스크리닝하는 方法을 檢討하여 SI80A와 L1210이 좋은 系라고 하며 특히 L1210은 primary screening의 tool로서는 좋은 癌腫으로 報告하고 있다. 현재까지 判明된 抗癌劑의 90%以上이 그에 有効하다. 吉田肉腫, walker carcinoma 256等은 alkyl化劑에 高感受性이고 adenocarcinoma 755는 代謝拮抗劑에 高感受性이며, 生存日數의 bias가 작고 移植細胞數와 生存日數사이의 강한 相關性이 있다고 한다.

抗癌劑의 스크리닝에는 단순한 有効性만으로 判定할 수는 없고 毒性을 問題視하지 않을 수 없다. 이에 星等³⁶⁾은 各種用量에 의한 T/C%를 用量—反應直線으로 表示하고 同一한 圖表에 毒性도 表示하여, 이로써 被檢藥物의 安全性을 나타내고 있다. 여기서 T/C%를 求할

경우에, ED₉₀을 指標로 하는데 이는 動物의 90%가 反應하는 用量이 아니고 癌腫의 90%를 抑制하는 量으로 나타내며 한편 毒性은 LD₁₀으로 나타내고 있다. 다시 被檢物質의 活性은 ILS₃₀(生存日數를 30% 延長하는 用量)으로, 毒性은 optimum dose로 表現하여 用量反應曲線을 그리고, 그 兩者의 比를 治療比라고 하여 定量的인 比較를 하고 있다.

지금까지 抗癌劑의 스크리닝方法에 대하여 論한바, 人體의 癌에 有效한 藥物을 選別하는데 目的이 있는 이상, 前述한 어느 方法을 擇하느냐 하는 問題는 바로 그 스크리닝의 成功與否를 決定하는 問題가 된다. 따라서 實驗 model에 있어서 그 機序가 다른 數種의 方法을 擇하여 試驗하고 그 結果로서 有効性を 判定하는 것이 重要하다고 思料된다. 또한 그 結果의 判定도 經驗의 蓄積과 銳利한 洞察力이 必要한 것이다. 한 物質이 醫藥으로 使用되기에는 毒性이 작고 活性이 커야한다. 特히 毒性에 있어서는 大動物을 使用한 慢性試驗을 거치고 臨床治療에 臨하여는 充分한 治療效果가 期待되어야 하는 것이다.

文 獻

1. 山極, 市川, 東京帝醫大紀要, **15**, 296 (1915)
2. 筒井, 癌, **12**, 111 (1918)
3. H.W. Toolan, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **77**, 572 (1951)
4. A. Matsumae and T. Hata, *J. Antibiot.*, **A17**, 164(1964)
5. H. Endo, M. Ishisawa, T. Kamiya and S. Sonoda, *Nature*, **198**, 258(1963)
6. B. Hanemann and A.J. Howard, *Appl. Microbial.*, **12**, 234(1964)
7. K.E. Price, R.E. Buck and J. Lein, *ibid.*, **12**, 428(1964)
8. I.N. Asheshov, E.A. Hall and H. Flon, *Cancer Res., Suppl.*, **3**, 52(1955)
9. F.M. Schobel, Jr. and H.E. Skipper, *ibid.*, **3**, 57(1955)
10. G.H. Hitchings and G.B. Elion, *ibid.*, **3**, 66(1955)
11. S. Mashima and Y. Ikeda, *Appl. Microbial.*, **6**, 45(1958)
12. Y. Okami, M. Suzuki and H. Umezawa, *J. Antibiot.*, **A11**, 87(1958)
13. 梅澤, 竹內, 新田, 醫學生物學最近의 展望, 第一集, 國立豫防衛生研究所編集, 東京, 1960, p-341
14. H. Satoh, *Gann*, **47**, 382(1956)
15. A. Taylor and N. Carmichael, *Texas Rept. Biol. Med.*, **6**, 504(1948)
16. D.A. Karnofsky, L.M. Parisette, P.A. Patterson and J.A. Jacques, *Acta Cancerologia*, **6**, 641(1949)
17. C.P. Dagg, D.A. Karnofsky, H.W. Toolan and J. Boddy, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **84**, 223(1954)
18. B.L. Freedlander and F.A. French, *Abst. Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **2**, 298(1958)
19. W.E. Smith, *ibid.*, **3**, 362(1962)
20. 宮川, 日病會誌, **50**, 53(1961)
21. W.C. Hoag, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **108**, 805(1963)
22. 宮川, 佐藤, 螺良, 實驗腫瘍學, 朝倉書店, 東京, 1969, p-60
23. M.J. Shear, *Am. J. Cancer*, **29**, 269(1937)
24. 新田, 醫藥品研究法, 朝倉書店, 東京, 1969, p-382
25. Cancer Chemother. Natl. Service Center, *Cancer Chemother. Rept.*, **25**, 1(1962)

26. R.I. Geran, N.H. Greenberg, M.M. Macdonald, A.M. Schumacher, and B.J. Abbott, *Cancer Chemother. Rept. Pt. 3*, **3**, 7(1972)
27. 蝶良, 蕨岡, 梶原, 山本, 醫學研究動物實驗法, 朝倉書店, 東京, 1956, p-531
28. 櫻井, 藥効의 評價(1), <藥理試驗法(下)>, 知人書店, 東京, 1971, p-1282
29. W.S. Woo, K.H. Shin and Y.M. Kwon, *This Journal*, **16**, 121(1972)
30. V.I. Oyama and H. Eagle, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **91**, 305(1956)
31. 李殷芳, 權寧命, 大韓藥學會 第21回 學術發表會, 1972年 11月
32. H. Lettré, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **76**, 558(1958)
33. 櫻井, 藥効의 評價(1), <藥理試驗法(下)>, 知人書店, 東京, 1971, p-1279
34. P. Armitage and M. A. Schneidermann, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **76**, 896(1958)
35. 星, 樽谷, *Farumashia*, **9**, 464(1973)
36. *Ibid.*, **9**, 467(1973)