

# 7, 12-Dimethylbenz (a)anthracene 誘発ラット乳癌に 及ぼすホルモンの影響に関する電子顕微鏡的研究

岡山大学医学部第一外科教室 (主任: 田中早苗教授)

大 杉 紘

(昭和52年 8月22日受稿)

## 第 1 章 緒 言

乳癌にはホルモン依存性を有するものが多く、進行、再発乳癌に対し種々のホルモン療法が行なわれ、有効なことが知られている。1961年、Huggins<sup>1)</sup>が Sprague-Dawley 系雌ラットに 7, 12-Dimethylbenz (a)anthracene (以下 DMBA と略す) を単一胃内投与することにより短期間で高率に乳癌が発生することを報告して以来、これを用いて多くの研究がなされてきた。DMBA 誘発ラット乳癌 (以下 DMBA 乳癌と略す) の発生、増殖には prolactin および estradiol が強く関与しており、これらホルモンをその個体内において増加させると乳癌の増殖は促進し、これを減少させると乳癌は退縮する。私は DMBA 乳癌を用いて、prolactin および estradiol を投与して増大した腫瘍、および receptor site に働き抗 estrogen 作用をもつ nafoxidine hydrochloride の投与または両側卵巣・副腎切除術により退縮した腫瘍の微細構造上の変化を電子顕微鏡を用いて観察し、ホルモン処置を行っていない対照群と比較検討した。

## 第 2 章 実験材料および実験方法

### 1. DMBA 乳癌の作成

生後 45 日齢前後の Sprague-Dawley 系雌ラットを日本クレア社より購入し、岡山大学医学部第 1 外科教室動物飼育室にて、オリエンタル固型飼料および水道水にて約 10 日間飼育して環境に慣らした。生後 55 日齢 (体重約 150g) に Sigma 社より購入した DMBA 10mg を 1ml のオリーブ油に一昼夜攪拌溶解し、経胃的に 2 週間間隔で 2 回投与した。

### 2. ホルモン投与、nafoxidine hydrochloride 投与 および両側卵巣・副腎切除

発生した乳腺腫瘍を 1~3cm 径に触知した時、

以下の 7 群に分類した。この研究に使用した乳腺腫瘍は組織学的に腺癌であったもので、良性腫瘍は除外した。また、腫瘍の発育様式を増大型、増大停止型、退縮型に分類し、退縮型は除外した。

- (1) prolactin (bovine prolactin, 45~50 I. U. / mg, 帝国臓器社) 1 I. U. / 日投与群
- (2) estradiol-17 $\beta$  (Sigma 社) 2  $\mu$ g / 日投与群
- (3) estradiol-17 $\beta$  20  $\mu$ g / 日投与群
- (4) prolactin 1 I. U. / 日および estradiol-17 $\beta$  2  $\mu$ g / 日の併用投与群
- (5) nafoxidine hydrochloride ; diphenyldihydronaphthalene derivative with the chemical name 1-[2-[p-(3, 4-dihydro-6-methoxy-2-phenyl-1-naphthyl)phenoxy] ethyl] pyrrolidine ; (Upjohn 社) 100  $\mu$ g / 日投与群
- (6) 両側卵巣切除群
- (7) 両側卵巣・副腎切除群

(1)~(5)群の prolactin, estradiol-17 $\beta$ , nafoxidine hydrochloride の投与方法は 10 日間または 20 日間の連日背部皮下注射である。

(6), (7)群の手術方法は、12時間絶食後エーテル麻酔下にて、第 1 腰椎の高さで背部皮膚に約 1cm の横切開を加え、皮下は腰椎の左右 2ヶ所を鉈的に剝離して腹腔内に達し、卵巣および副腎を剔除した。乳腺腫瘍剔除後剖検に供し、卵巣、副腎が完全に剔除されているのを確認した。また副腎を剔除した(7)群には術直後より hydrocortisone 0.5mg を連日背部皮下に注射した。

### 3. 腫瘍径の測定

腫瘍の大きさは最大径およびそれに直角する径の 2 方向を測定した。その 2 つの径を乗じて、著明に退縮 (ホルモン処置前の 1/2 以下)、退縮、ほとんど変化なし、増大、著明に増大 (ホルモン処置前の 2 倍以上) に分類した。

## 4. 電子顕微鏡材料作成および観察方法

第2章, 第2節で述べた7群のうち, 腫瘍の増大傾向のあった prolactin, estradiol-17 $\beta$  の併用投与群, 腫瘍の退縮傾向のあった nafoxidine hydrochloride 投与群および両側卵巢・副腎剔除群の3群において組織像の変化を観察した。

ホルモン処置 (prolactin, estradiol-17 $\beta$ , nafoxidine hydrochloride) の投与または両側卵巢・副腎剔除) 前に, エーテル麻酔下にて腫瘍の一部を採取し対照とした。ホルモン処置後10日目または20日目に2.5% glutaraldehyde・cacodylate buffer にて経心臓的に全身灌流を行なった後に腫瘍を剔除した。光学顕微鏡材料は10%ホルマリンにて固定, パラフィンに包埋し hematoxylin-eosin 染色を行なった。電子顕微鏡材料は腫瘍剔除後直ちに細切し, 2.5% glutaraldehyde・cacodylate buffer にて約3時間前固定, 蔗糖を含む cacodylate buffer (pH. 7.4) にて12時間洗浄し, 1% osmic acid・cacodylate buffer にて2時間後固定, エタノール系列にて脱水して Epon 812 に包埋した。Porter-Blum MT-I 型 ultramicrotome にて薄切し, uranyl acetate および lead citrate で二重染色を行ない, 日立 HU-12 型電子顕微鏡を用いて観察した。厚切り切片を toluidine blue で染色し, 光顕的に組織像の確認を行なった。

## 第3章 実験成績

## 1. DMBA 乳癌の発生およびホルモン処置による腫瘍の大きさの変化 (表1)

200匹のラットに DMBA を投与し, 35匹, 17.5% が早期に死亡した。DMBA 投与後4ヶ月で165匹中

134匹, 81.2% に乳腺腫瘍が発生した。腫瘍は多発傾向があり1匹平均の腫瘍数は3.2個であった。この研究に使用したのは29匹, 65腫瘍である。

## (1) prolactin 1 I. U./日投与群 (表2)

3例中, ほとんど変化なし, 増大, 著明に増大が各1例であった。

(2) estradiol-17 $\beta$  2 $\mu$ g/日 (適当量) 投与群 (表2)

4例中, ほとんど変化なし1例, 著明に増大3例であった。

(3) estradiol-17 $\beta$  20 $\mu$ g/日 (大量) 投与群 (表2)

10例中, 著明に退縮1例, 退縮2例, ほとんど変化なし3例, 増大2例, 著明に増大2例であった。

(4) prolactin 1I. U./日および estradiol-17 $\beta$  2 $\mu$ g/日の併用投与群 (表3)

12例中, 増大4例, 著明に増大8例であった。

以上(1)~(4)の prolactin, estradiol-17 $\beta$  投与群では, (4)の両者併用投与群で12例中12例, 100% に腫瘍の増大がみられた。(2)の estradiol-17 $\beta$  適当量投与群では4例中3例, 75% が著明に増大し, 退縮するものはみられなかったのに反し, (3)の estradiol-17 $\beta$  大量投与群では10例中腫瘍の増大したのは4例, 40% であり, 3例, 30% では腫瘍が退縮した。

(5) nafoxidine hydrochloride 100 $\mu$ g/日投与群 (表4)

10例中, 著明に退縮5例, 退縮4例, ほとんど変化なし1例で, 90% に腫瘍の退縮がみられた。

## (6) 両側卵巢剔除群 (表5)

5例中, 著明に退縮2例, 退縮3例であった。

## (7) 両側卵巢・副腎剔除群 (表6)

21例中, 著明に退縮9例, 退縮6例, ほとんど変化なし4例, 増大1例, 著明に増大1例であった。

表1 ホルモン処置による腫瘍の大きさの変化

ホルモン処置	ラット数	腫瘍数	著明に退縮	退縮	ほとんど変化なし	増大	著明に増大
prolactin 1 I. U./日	2	3	0	0	1	1	1
estradiol 2 $\mu$ g/日	2	4	0	0	1	0	3
estradiol 20 $\mu$ g/日	4	10	1	2	3	2	2
prolactin + estradiol 1 I. U./日 + 2 $\mu$ g/日	4	12	0	0	0	4	8
nafoxidine 100 $\mu$ g/日	5	10	5	4	1	0	0
卵巣剔除	3	5	2	3	0	0	0
卵巣・副腎剔除	9	21	9	6	4	1	1

表2 prolactin および estradiol 単独投与群

ラット 番 号	ホルモン及び投与量/日	投与期間	腫瘍の大きさ (cm)		結 果
			投 与 前	投 与 後	
1	prolactin 11.U.	10日	2.0×1.7	2.3×1.9	増 大
2	"	20日	1.0×1.0	1.5×1.4	著 明 に 増 大
"	"	"	1.5×1.5	1.5×1.4	ほとんど変化なし
3	estradiol 2 µg	10日	1.0×1.0	2.0×1.7	著 明 に 増 大
"	"	"	2.4×1.9	4.0×3.5	著 明 に 増 大
4	"	20日	1.5×1.0	1.4×1.1	ほとんど変化なし
"	"	"	触知せず	1.2×1.0	著 明 に 増 大
5	estradiol 20 µg	20日	1.3×1.2	1.0×1.0	退 縮
"	"	"	1.7×1.4	1.6×1.6	ほとんど変化なし
"	"	"	3.0×2.7	3.9×3.2	増 大
"	"	"	1.7×1.7	1.6×1.3	退 縮
6	"	"	1.5×1.1	1.8×1.7	増 大
7	"	"	1.5×1.0	1.6×1.0	ほとんど変化なし
"	"	"	1.0×1.0	触知せず	著 明 に 退 縮
8	"	"	1.0×1.0	1.0×1.0	ほとんど変化なし
"	"	"	0.3×0.3	1.0×0.9	著 明 に 増 大
"	"	"	触知せず	1.3×0.9	著 明 に 増 大

表3 prolactin 11.U. および  
estradiol 2 µg 併用投与群

ラット 番 号	投 与 期 間	腫瘍の大きさ (cm)		結 果
		投 与 前	投 与 後	
9	10日	1.8×1.2	2.7×2.2	著明に増大
10	20日	1.7×1.5	2.6×1.7	増 大
"	"	1.2×1.0	1.5×1.3	増 大
"	"	1.8×1.0	1.9×1.4	増 大
"	"	触知せず	1.2×1.2	著明に増大
"	"	触知せず	1.7×1.2	著明に増大
"	"	触知せず	1.4×1.4	著明に増大
11	"	1.3×1.0	1.8×1.5	著明に増大
"	"	触知せず	1.0×0.8	著明に増大
12	"	1.6×1.4	2.8×2.2	著明に増大
"	"	2.5×1.3	2.9×1.9	増 大
"	"	触知せず	2.4×1.3	著明に増大

(6)および(7)の外科的ホルモン療法群では、26例中20例、76.9%において腫瘍の退縮をみたが、増大するものも2例、7.7%みられた。

(1)~(7)群で、腫瘍が多発している場合には同一ラットにおいても、増大する腫瘍と退縮する腫瘍がみられることもあった。

## 2. 組織所見

(1)ホルモン処置前の DMBA 乳癌(対照)

### ①光学顕微鏡所見

腫瘍細胞は比較的大型で、クロマチン分布の均等な類円形の核を持ち、その核・胞体比は高い。核分裂像は散見される。これら腫瘍細胞が増殖して、低円柱状の細胞よりなる多層性の乳頭状腺管構造、あるいは類殻形の細胞よりなる胞巣状の充実性構築を

表4 nafoxidine 投与群

ラット 番 号	投与 期 間	腫瘍の大きさ (cm)		結 果
		投 与 前	投 与 後	
13	20日	2.2×2.0	1.5×1.3	著明に退縮
"	"	2.5×2.0	1.8×1.8	退 縮
14	"	1.8×1.7	1.0×0.8	著明に退縮
15	"	1.4×1.0	1.0×0.8	退 縮
"	"	2.1×1.5	1.5×1.1	退 縮
16	"	1.2×1.0	0.6×0.6	著明に退縮
"	"	1.5×1.1	0.9×0.7	著明に退縮
"	"	1.7×1.0	1.2×0.8	退 縮
17	"	1.1×1.1	1.1×1.0	ほとんど変化なし
"	"	2.3×1.8	1.0×1.0	著明に退縮

表5 卵巣切除群

ラット 番 号	術後 期 間	腫瘍の大きさ (cm)		結 果
		術 前	術 後	
18	10日	1.4×1.0	0.7×0.7	著明に退縮
"	"	1.0×1.0	0.8×0.7	退 縮
19	"	2.0×1.7	1.5×1.0	著明に退縮
20	20日	1.0×1.0	0.9×0.8	退 縮
"	"	1.6×1.4	1.4×1.2	退 縮

示し、また相互に移行するものもある(図1)。間質量は比較的少なく随機性である。乳頭状腺管構造(図2)を示す腫瘍細胞は1~2個の核小体を持ち、胞体は比較的好塩基性に富み、細胞境界は不明瞭なものが多い。筋上皮細胞は非連続的に認められる。胞巣状構造(図3)を示す腫瘍細胞は数個の核小体を持ち、胞体は明るいものが多く、細胞境界も明瞭なものが多い。

表6 卵巣・副腎剔除群

ラット 番 号	術後 期間	腫瘍の大きさ (cm)		結 果
		術 前	術 後	
21	10日	2.0×1.5	1.2×0.9	著明に退縮
"	"	1.5×1.2	1.3×1.1	退 縮
"	"	1.3×1.0	触知せず	著明に退縮
22	"	触知せず	1.2×1.1	著明に増大
"	"	1.1×1.0	0.3×0.3	著明に退縮
"	"	3.0×2.9	3.0×2.8	ほとんど 変化なし
23	20日	1.4×1.0	1.0×0.9	退 縮
"	"	1.1×1.0	0.5×0.3	著明に退縮
24	"	1.2×1.1	0.8×0.8	著明に退縮
25	"	1.6×1.5	1.4×0.9	退 縮
26	"	2.0×1.6	2.0×1.7	ほとんど 変化なし
27	"	1.1×0.9	0.4×0.4	著明に退縮
"	"	1.2×1.1	1.2×1.0	変化など
"	"	2.2×1.5	2.2×1.3	変化など
"	"	2.1×1.3	1.9×1.1	退 縮
28	"	1.6×1.5	1.9×1.5	増 大
"	"	1.0×1.0	触知せず	著明に退縮
"	"	1.2×1.2	0.7×0.7	著明に退縮
"	"	1.2×1.0	触知せず	著明に退縮
"	"	3.0×1.7	2.1×1.5	退 縮
29	"	1.4×1.4	1.2×1.0	退 縮

## ②電子顕微鏡所見

腫瘍細胞は一般に大型、低円柱状で、細胞内小器官の発達はあまりみられず、核・胞体比が大きい。これら腫瘍細胞が連続的に排列して癌胞巣を形成し腺腔形成の傾向が強い。腫瘍細胞には胞体の明るくみえるものと暗くみえるものが認められる。癌胞巣の最外層には基底膜が存在するが一部不明瞭となっているところもみられる。腫瘍細胞と基底膜の間には筋上皮細胞が非連続的に存在する。間質の発達は乏しい。腫瘍細胞相互の接着状態は細胞間隙が広くこの傾向は間質側程著明である。ところにより細胞間嵌合が認められ(図4)、腺腔に近い部ではデスモゾームが認められる。腺腔に面した腫瘍細胞の自由表面には微絨毛が存在し、その長さ、方向、分布状態は一定でない。胞体内には tonofilament の発達が認められるところもある(図5)。糸粒体は球状ないし桿状で、クリスタの不明瞭なものも多くみられる。粗面小胞体は扁平囊状のもの、内腔の拡大したものの小胞状のものなど種々みられるが、発達は一般に乏しい。ゴルジ装置もあまり発達していない。遊離のリボゾームは豊富でポリゾーム化の傾向がみられる。ライソゾーム、脂肪滴はあまり認められない(図6)。核は一般に大型で、卵形のものや不整形のものがみられ、クロマチン分布は均等で、核小体は不明瞭なものや1~2個みられるものなど種々存在する(図

4)。核膜は比較的明瞭であるが一部膨化し、いわゆる perinuclear space の不規則な拡大も認められる(図6)。

(2) prolactin および estradiol-17 $\beta$  の併用投与により増大した DMBA 乳癌

## ①光学顕微鏡所見

腺管の増生は著明で、乳頭状腺管構造を示すものと腺房構造を示すものがみられる(図7)。前者(図8)では、腫瘍細胞は一般に円柱状でやや大型となり、核は類円形から楕円形で、核・胞体比は高い。核小体は1~2個みられやや腫大し、核分裂像が散見される。核上ないしは核下に分泌顆粒が増加して胞体が明澄にみえるものが多い。筋上皮細胞は不明瞭となる。間質はより狭小となり円形細胞の浸潤もより強い。後者(図9)では、核・胞体比は低く、核は1~2個の核小体を持ち、クロマチンの分布は均等である。胞体はほとんど分泌顆粒で占められ明澄にみえる。筋上皮細胞は対照と著変を認めない。小葉間結合組織の増生を認め、円形細胞浸潤はほとんど認められない。

## ②電子顕微鏡所見

腫瘍細胞はより大型となり核も大型で、核・胞体比は増加する。腫瘍細胞相互の接着状態は対照と同様に細胞間隙が広がっている(図10)。微絨毛の発達は良好となり、一般に長さも長くなっている。ゴルジ装置の発達は良好で数も増加し、分布は一定せず胞体内の種々な部分にみられる。遊離のリボゾームも増加している(図11)。粗面小胞体の発達は良好となり、扁平囊状のものや内腔の拡大しているものが多数みられる。核には著変を認めない(図11, 12)。筋上皮細胞は一般に減少し、腫瘍細胞が直接基底膜に接しているところが多くみられ、不規則な凹凸を有する細胞質突起が間質側に延びているのが認められる。基底膜は一部不明瞭となっている。間質では膠原線維の形成が不良で線維の走行は一定でなく、microfibril や無定形物質を認める(図12)。また、腫瘍により著明な分泌を認めるものがあり、分泌顆粒は脂肪滴および蛋白顆粒である。脂肪滴は円形ないし楕円形で、大きさは1~4 $\mu$ のものが大多数で、胞体内のあらゆる部分に出現している。蛋白顆粒は膜を有する約0.5 $\mu$ の空胞内にみられ、その局在は核上部特に腺腔に面した部分が多い(図13, 14)。

(3) nafoxidine hydrochloride の投与により退縮した DMBA 乳癌

## ①光学顕微鏡所見



間質は著明に増生し小葉構造はほとんどみられず管内型の線維増生の認められる腺管と囊胞状拡張腺管がみられる。腫瘍細胞は一般に小型で、前者(図15)の細胞は骰子状で一部では重層化を示すところもある。核は類球形または不整形で核膜は明瞭であり、核小体は1個みられ、核分裂像はほとんど認められない。分泌顆粒はほとんどみられない。筋上皮細胞は連続して認められる。後者(図16)の細胞は扁平で一層となり、核は骰子状ないし短杆状で核小体は不明瞭である。

#### ②電子顕微鏡所見

腫瘍細胞は著明に小型となり胞体に乏しい。腫瘍細胞相互の接着状態は細胞間隙が狭小となり細胞間嵌合の発達乏しい(図17)。微絨毛の発達は不良で長さは短く数も減少し、その表面は細顆粒状物質を含む無定形物質で一様に被われている(図18)。細胞内小器官の発達は不良で、糸粒体の数は減少し、粗面小胞体はほとんどみられず、ゴルジ装置の発達も乏しい。遊離のリボゾームも減少している。電子密度の高い、種々の大きさのライソゾームが多数出現している。ライソゾームは0.5～1 $\mu$ の空胞の中および周辺に集まっている場合が多いが、細胞によってはライソゾームが数十個集まって核を圧排しているところもみられる。しかし、二次ライソゾームとなった食胞や巨大な自家食胞を形成しているところはみられない。脂肪滴もほとんど出現していない(図19)。核は小型となり、卵円形のものもあるが不規則に陥凹したものも多く、この不整形の核ではクロマチンが周辺部へ多く集まってみられ、核小体は不明瞭となるものが多い(図17, 19)。筋上皮細胞は筋原線維の発達が著明で、腫瘍細胞に比して大型であり比較的連なって腫瘍細胞周囲を取り囲んでいる(図17, 20)。基底膜の発達は良好でところどころ肥厚した部分もあり、その基底膜から連続して間質側に放射状に延びる基底膜様構造がみられ、さらにその周囲には基底膜様物質を多数認める。その外側にはこれに接して、明瞭なる周期性横紋を有する膠原線維の発達が著明である(図21)。

(4) 両側卵巣・副腎剔除術により退縮した DMBA 乳癌

#### ①光学顕微鏡所見

腫瘍内における腺管増生はまだ著明に認められるが、腫瘍細胞は円柱状、骰子状でさらには扁平化するものも多数に認められる。核は短杆状から類円形で、核小体は1～2個認められるものもあるが一般

には顕著でない。核分裂像はほとんど認められない。胞体には分泌顆粒が増加し、核下に著明に認めるものもある。腺管は大小不同で、拡張してみられるものや管内型の線維増生を認めるものもある。拡張した腺腔内には好塩基性から好酸性分泌物を認めることもあり、さらに腫瘍細胞の脱落も著明である(図22, 23)。一般に筋上皮細胞は連続して著明にみられ腫瘍細胞の脱落に伴い筋上皮細胞が管腔内に露呈する所見もみられる(図24)。間質の増生も著明で一部では硝子様化が認められる。これら間質には円形細胞および好酸球等の炎症性細胞浸潤がみられる。

#### ②電子顕微鏡所見

腫瘍細胞は小型となり、核・胞体比は減少する。腫瘍細胞相互の接着状態は細胞間嵌合の発達が乏しくなる。微絨毛の発達はやや乏しくなり、腺腔内には無構造物質や脱落した腫瘍細胞を認めることもある(図25)。糸粒体は減少し膨大してクリスタの消失しているものが多くみられる。粗面小胞体の発達は不良で、定型的な扁平囊状のものは少なく内腔の拡大したものが多くなり、その周囲に付着したリボゾームの配列も不整で一部脱落しているところもみられる。ゴルジ装置には著変が認められない。遊離のリボゾームは減少している(図26)。核は類球形または短杆状であるが部位によっては不規則に屈曲したものもみられ、核小体の不明瞭なものが多くなる。胞体内には種々の大きさの脂肪滴が多数出現している(図25, 26)。また、電子密度の高い、種々の大きさのライソゾームが多数出現し、そのライソゾームは一次ライソゾームのみならず種々の形態をとる二次ライソゾームとして認められ、食胞や巨大な自家食胞となる。周囲の細胞質基質と境界不鮮明で中に遊離のリボゾーム、小胞体、ライソゾームを含み周囲と比して淡明にみえる無構造なもの、多数のライソゾームが集まり、胞体を融解して空胞化していると思われるもの(図27)、糸粒体等の他の細胞内小器官を貪食し多数の脂肪滴、空胞と混在して巨大となり、胞体の大部分を占めて核を偏在させているもの(図28)、自家食胞は均質無構造な物質で占められ核も融解されつつあると思われるもの、巨大な空胞だけとなっているもの(図29)などがみられる。筋上皮細胞は比較的連なって腫瘍細胞周囲を取りまいており、この胞体内にも脂肪滴の出現が認められる(図25, 30)。変性壊死が進むと腫瘍細胞は脱落するが筋上皮細胞は残在し、さらに、壊死巣と腫瘍細胞の間には筋上皮細胞が多数みられ、それらの突起が

長く延びている。壊死巣と筋上皮細胞の間には、筋上皮細胞にそって電子密度のやや高い、巾約0.5 $\mu$ の基底膜様構造が認められ、一部では不明瞭となって壊死巣と連続しているが如くみられる。壊死巣内には図28でみられたような、ライソゾーム、脂肪滴、細胞質成分の混在した自家食泡が認められることもある(図31)。また、壊死巣内には無定形物質の他に細線維様構造が認められる。腫瘍細胞が完全に脱落して筋上皮細胞のみで壊死巣と間質を境しているところもみられる(図32, 33)。壊死巣を取り囲むが如く延びた筋上皮細胞の一部が途切れている部分では基底膜様構造のみが残ってみられる。筋上皮細胞の壊死巣側には基底膜様構造が一部では波状にうねりさらに幾重にも多層化して壊死巣内に連続している(図34)。残っていた基底膜様構造も消失して周囲間質と直接接した壊死巣内には、無定形物質の他に微細線維や周期性横紋のみられる膠原線維が認められる(図35)。筋上皮細胞の間質側には基底膜が比較的保たれているが、一部では不明瞭なところもみられる(図28, 33)。間質では線維芽細胞が増加し、膠原線維の発達が著明である(図25, 29, 30, 33)。

#### 第4章 考按

1961年、Huggins<sup>1)</sup>が生後50~52日齢、体重140~150gのSprague-Dawley系雌ラットに、20mgのDMBAを投与することにより、投与後2ヶ月以内に100%乳癌が発生したと報告して以来、これを用いて多くの研究がなされてきた。DMBAの投与方法はHugginsの原法以外、15mg<sup>2)</sup>、30mg<sup>3)</sup>、50mg<sup>4)</sup>を胃内1回投与するもの、2mg<sup>5)</sup>、5mg<sup>6,7)</sup>を静脈内注射するものなど種々の方法が試みられている。DMBA投与後の早期死亡については、Huggins<sup>1)</sup>は20mg投与で0%、50mg投与で100%、Young<sup>4)</sup>は50mg投与で25.9%、Teller<sup>3)</sup>は30mg投与で20%であったと報告している。死亡原因は副腎の壊死が主である。乳腺腫瘍の発生率は62~100%、1匹あたりの腫瘍数は2.1~12.2 $\pm$ 1.2個であったと報告<sup>1,2,3,4,6,9,10)</sup>されている。DMBA投与後の早期死亡率、腫瘍の発生率1匹あたりの腫瘍数は報告者によりかなりのばらつきがみられるが、これはDMBAの投与量、投与方法等により、異なっているものと思われる。私は、DMBA 10mgを2週間間隔で2回投与する方法を試みたが早期死亡率は17.5%、腫瘍発生率は81.2%、1匹あたりの腫瘍数は3.2個であった。

腫瘍の発育様式は、Young<sup>4)</sup>が増大型、増大停止

型、退縮型の3様式があると報告しTeller<sup>3)</sup>、Kiang<sup>2)</sup>、中村<sup>11)</sup>らが同様の観察を行なっている。DMBA乳癌は転移がない<sup>5,10)</sup>か稀れ<sup>12)</sup>であるが、大きくなると筋肉、皮膚へ浸潤し、潰瘍形成、壊死、感染を併発してラットを死亡させる。私の実験では発育様式が退縮型のもの、腫瘍の最大径が3cm以上のものまたは潰瘍形成、壊死、感染を併発したものを除外した。また、転移は全例認められなかった。

DMBA乳癌の発生、増殖にはホルモン、特に prolactin および estrogen が強く関与しており、これらホルモンの作用や重要性に関して多くの研究がなされてきた。Talwalker<sup>10)</sup>は卵巣剔除ラットには乳癌が発生しないが、これに growth hormone および prolactin を投与すると44%に、estradiol 1 $\mu$ g または10 $\mu$ g を投与するとそれぞれ33%、23%に乳癌が発生することより、乳癌の発生には下垂体ホルモンが最も重要なもので estrogen は下垂体よりの prolactin、growth hormone 分泌を刺激することにより乳癌の発生に関与していると述べている。Nagasawa<sup>13)</sup>は乳癌触知後15日目に卵巣・副腎剔除を行ない、その翌日より prolactin を投与すると乳癌は増殖を続け、術後20日目より prolactin を投与すると一旦退縮していた乳癌が元に戻ることで乳癌の増殖には prolactin が最も重要であると述べている。Meites<sup>14)</sup>は下垂体がない場合は乳癌の発生、増殖をみないが、卵巣は欠除してもある程度乳癌の発生、増殖をみることがあり prolactin が最も重要で estrogen は prolactin の分泌を刺激した prolactin と共に直接乳腺組織に作用して乳癌を発生させやすくするに過ぎないと述べている。一方、Welsch<sup>8)</sup>は卵巣剔除ラットに下垂体を移植しても乳癌が発生しないことより、Sinha<sup>15)</sup>は下垂体の median eminence を損傷すれば血中 prolactin 値が上昇して乳癌の増殖は促進するが、これらラットに卵巣剔除を行なうと血中 prolactin 値は高いにもかかわらず乳癌は急速に退縮していき、これに卵巣を移植すると血中 prolactin 値は変化しないが乳癌は増大することより、また Leung<sup>16)</sup>は抗 estrogen 作用をもつ naf-oxidine hydrochloride の投与により退縮した乳癌をもつラットまたは卵巣・副腎剔除後 estrogen の効果がなくなる7-11日目のラットに prolactin を投与しても乳癌の再増殖は阻害されることより、estrogen が最も重要であると述べている。

DMBA投与前に prolactin または estrogen が減少すると乳癌の発生は阻害されるが、反対にこれら

ホルモンが増加しても乳腺組織が発達して発癌剤の働きから乳腺が保護されることにより乳癌の発生は阻害される<sup>6,8,10,14,17,18,19</sup>。発生した乳癌の増殖は、適当量の estrogen (2 $\mu$ g)<sup>2</sup>, prolactin の増加<sup>13,14,15,20,21,22</sup>, 妊娠<sup>12</sup> などにより促進され、大量の estrogen (20 $\mu$ g)<sup>2,14</sup>, 抗 estrogen 製剤<sup>16</sup>, 卵巣または卵巣・副腎切除術<sup>4,11,13,14,15,16,23,24,25,26</sup>, androgen<sup>11,23</sup>, prolactin の減少<sup>14,20,21,22</sup>, ストレス<sup>27,28</sup> などにより阻害される。私の実験では estradiol-17 $\beta$  2  $\mu$ g の適当量投与により75%の腫瘍が増大したのに反し estradiol-17 $\beta$  20  $\mu$ g の大量投与では腫瘍の増大は40%であり、逆に30%は腫瘍が退縮した。また estradiol-17 $\beta$  2  $\mu$ g の適当量および prolactin 1 I.U. の併用投与により100%腫瘍が増大した。卵巣切除および卵巣・副腎切除により腫瘍が退縮したのは76.9%であったが諸家の報告をみると、Teller<sup>3</sup>は65.7%, Leung<sup>16</sup>は90%以上、中村<sup>11</sup>は75% Young<sup>4</sup>は81%, 石田<sup>26</sup>は60%などであり、ほぼ同程度の効果であった。nafoxidine hydrochloride の投与では90%で腫瘍が退縮した。Leung<sup>16</sup>は75%で腫瘍の増殖が阻害されたが25%では無効であったと報告している。nafoxidine hydrochloride は非ステロイド性の、抗 estrogen 作用をもつ薬剤で clomiphene や chlorotrianisene と類似している。作用機序は target tissue において cytoplasmic estrogen receptor と結合して合成物となることにより estrogen の働きを阻害するとされている。

DMBA 乳癌の組織像については Young,<sup>4</sup> Daniel,<sup>9</sup> Stevens,<sup>29</sup> 中村<sup>11</sup> 等が光顕的に観察して種々の分類を行なっている。また Fukunishi,<sup>30</sup> 今,<sup>31</sup> Murad,<sup>9</sup> 石田<sup>26</sup> 等は電顕像についても合わせ報告している。私の観察でも種々の組織像がみられたが、大別すると低円柱状の細胞よりなる乳頭状腺管構造を示すものと、類毬形の細胞よりなる泡果状の充実性構築を示すものに分類できる。腫瘍細胞は比較的大型で、核・胞体比が高く、核分裂像が散見され、間質量は比較的少なく髄様性である。また、Young,<sup>4</sup> Daniel<sup>9</sup> の報告している分泌型と思われるものも36.3%にみられる。電顕像では、細胞内小器官の発達が一般に乏しく、遊離のリボソームが豊富で、核は大型である。腫瘍細胞相互の接着状態は細胞間嵌合、デスモソームが認められ、細胞間隙は間質側程広がっている。筋上皮細胞は非連続的に存在し、基底膜は一部不明瞭となっていてところもみられる。Murad<sup>31</sup> は筋上皮細胞の多層化を観察し、腺上皮細胞に比し

て筋上皮細胞の増殖が著明であると報告しているが、私の観察ではこのような所見はみられない。

ホルモン投与により増大した DMBA 乳癌の組織像についての報告はみられない。腫瘍細胞の大型化、核・胞体比の増加、糸粒体の発達、遊離のリボソームの増加等の所見は、腫瘍細胞におけるエネルギー代謝、蛋白合成が盛んで、腫瘍の増殖が著明であることを示唆している。一方、分泌についてみると、粗面小胞体およびゴルジ装置の発達は良好となり、脂肪滴および蛋白顆粒の著明な分泌が認められる。粗面小胞体の膜に付着したリボソームで蛋白が合成されて小胞腔内に分離・蓄積され、ゴルジ装置に運ばれて分泌顆粒となり腺腔内へ放出される。放出機序は、脂肪滴は黒住<sup>32</sup> の II 型、蛋白顆粒は II および IV 型とされている。山崎<sup>33</sup> は prolactin および estradiol を併用投与したラット乳癌を観察し、私の観察した DMBA 乳癌でみられたと同様に、粗面小胞体、ゴルジ装置の著明な発達および脂肪滴、蛋白顆粒の著明な分泌が特徴的であったと報告している。

nafoxidine hydrochloride の投与により退縮した DMBA 乳癌の組織像についての報告はみられない。腫瘍細胞は著明に小型となり、細胞内小器官は全て発達に乏しく、遊離のリボソームも減少している。核は小型で不規則に陥凹したものが多数となり、クロマチンが核周辺部に多く集まってみられ、核小体は不明瞭なものが多い。核分裂像はほとんど認められない。ホルモン依存性を有する DMBA 乳癌において、nafoxidine hydrochloride の抗 estrogen 作用により腫瘍細胞の増殖が抑制されて腫瘍が退縮したものと思われる。また、ライソソームおよび小空胞が多数出現していることより腫瘍細胞の変性が考えられるが、卵巣・副腎切除群でみられたような巨大な自家食胞、空胞形成や著明な変性壊死像はみられない。管腔面では微絨毛の発達が乏しく、その表面は無定形物質で一様に被われている。これは特徴的な所見の一つであるが、この無定形物質の出現機序は不明である。

筋上皮細胞は連続して腫瘍細胞周囲を取り囲み、腫瘍細胞に比して大型である。このことは、筋上皮細胞には、estrogen 依存性が乏しく、nafoxidine hydrochloride の抗 estrogen 作用が筋上皮細胞に及ぼす影響が少ないためと思われる。基底膜の発達は良好で、これから連続して間質側に放射状に延びる基底膜様構造がみられ、その周囲には基底膜様物

質を多数認める。これは腫瘍が急速に縮小して基底膜の一部が取り残された状態となり、このような所見を呈したと考えられる。しかし、同じ腫瘍の縮小であっても、変性壊死像を主とする卵巣・副腎剔除群ではこのような所見は顕著でない。間質の膠原線維の発達が著明なことも特徴的所見の1つである。

卵巣剔除、卵巣・副腎剔除により退縮したDMBA乳癌の組織像については光顕的にはYoung<sup>4)</sup>・中村<sup>11)</sup>、電顕的にはKataoka<sup>34)</sup>・石田<sup>36)</sup>の報告がみられる。Young<sup>4)</sup>は上皮の扁平化、核の小型化、核分裂像の減少、腺房の形、大きさの不規則化、分泌による甲状腺類似像、間質の発達不良を観察し報告している。中村<sup>11)</sup>は腫瘍細胞の萎縮平坦化、核分裂像の消失、大小不同の囊胞状腺腔の形成、線維化を観察し、腫瘍細胞の変性壊死の所見はほとんどみられなかったと報告している。Kataoka<sup>34)</sup>は卵巣剔除後早期の変化を重視し、初期変化は核にあらわれたと報告している。石田<sup>36)</sup>は癌胞巣の縮小、上皮細胞の扁平単層化、間質結合組織の増加、電顕的にはライソゾームの増加、脂肪滴、食胞、自家食胞、多胞体、ミエリン様構造の出現が最も特徴的な所見であったとし、その他に核萎縮、糸粒体の膨化、クリスタの消失、遊離のリボゾームの減少、時に暗調細胞の出現、腺腔内の壊死様物質の貯留、核・胞体比の減少を観察し、癌細胞の変性過程の像であったと報告している。私の観察においても、腫瘍細胞は小型化し、核・胞体比は減少、核分裂像もほとんどみられなくなる。細胞内小器官では、糸粒体の膨化腫大してクリスタの消失しているものが多くなり、粗面小胞体は内腔の拡大したものが多く、その周囲に付着したリボゾームの配列が不整で一部脱落したところもみられる。遊離のリボゾームは減少している。核は不規則に屈曲して核小体の不明瞭なものが多くなっている。これらの所見は、腫瘍細胞におけるエネルギー代謝、蛋白合成が低下して腫瘍の増殖が抑制されている状態を示している。また、小野江<sup>35)</sup>は細胞死の早期変化として、糸粒体の腫大、核質のクロマチン凝集、粗面小胞体のリボゾームの脱落を観察しているが、私の観察結果もこれにほぼ一致する所見である。

胞体内には脂肪滴、ライソゾーム、巨大な自家食胞、空胞の出現が目立つ。ライソゾームは一層の限界膜に囲まれ、中に各種加水分解酵素を含有している小体であり、消化機転を行っていない加水分解酵素を有する一次ライソゾームと加水分解作用が行なわれている二次ライソゾームに分類される。二次

ライソゾームは外来性の物質摂取に由来して生じた異物食胞と、細胞内の自己融解に由来する自家食胞に分けられる。また、ライソゾームは細胞変性の場合に限らず、種々の病的条件下や生理的変動下におかれた組織細胞あるいは正常細胞、さらには代謝活動の活発な細胞内にもみられる<sup>36,37)</sup>。しかし、私の研究でみられたライソゾーム、自家食胞は、脂肪滴や空胞の出現、細胞内小器官や核の変化等と合わせ考え、腫瘍細胞の変性により出現したものと思われる。

筋上皮細胞にも脂肪滴の出現しているものがみられるが、腫瘍細胞にみられるような変性所見はほとんど認められない。むしろ、腫瘍細胞の変性が進み、壊死に陥って脱落した場合には、壊死巣の周囲に筋上皮細胞が多数みられ、それらの突起が基底膜様構造を伴って壊死巣を取り囲むようになる。また、壊死巣内には無定形物質の他に細線維様構造が認められる。基底膜の形成機序については議論が多いが、最近の研究では、基底膜は上皮細胞により形成されるという見解が一般的である<sup>38,39)</sup>。膠原線維は一般に間葉性細胞によって合成されるが、Hay<sup>39)</sup>は角膜の上皮細胞にも、またMurad<sup>40)</sup>は筋上皮細胞にも膠原線維の合成能があることを示唆している。壊死巣とそれを取り囲んだ筋上皮細胞との間にみられた基底膜様構造、および壊死巣内にみられた細線維様構造は筋上皮細胞により誘導されたもので、壊死巣の線維化が徐々に進んでいくものと考えられる。一方、癌胞巣周囲の間質では線維芽細胞が増加し、膠原線維の発達が著明である。図34、35でみられるように、周囲間質と壊死巣を境している筋上皮細胞の一部が途切れて基底膜様構造だけとなり、さらにこれも切れて発達著明な間質と線維化のみられる壊死巣が連なり、壊死巣が間質成分で置き換わっていくものと思われる。

## 第5章 結 語

ホルモン環境の変化がDMBA乳癌に及ぼす影響を研究するために、prolactin, estradiol-17 $\beta$ の投与、receptor siteに働き抗estrogen作用を有するnafoxidine hydrochlorideの投与および両側卵巣、卵巣・副腎剔除術を行ない、腫瘍の変化特に微細構造を電子顕微鏡にて観察し、次の結果をえた。

1. estradiol-17 $\beta$  2  $\mu$ g/日の適当量を投与したものでは75%に腫瘍の著明な増大がみられ、退縮するものはみられなかったのに反し、estradiol-17 $\beta$  20  $\mu$ g/日の大量を投与したものでは30%に腫瘍の退

縮がみられた。prolactin 1 I.U./日および estradiol-17 $\beta$  2  $\mu$ g/日の併用投与では 100% に腫瘍の増大がみられた。

2. prolactin および estradiol-17 $\beta$  の併用投与により増大した DMBA 乳癌の形態的变化は、腫瘍細胞の大型化、核・胞体比の増加、細胞内小器官の発達、遊離のリボゾムの増加、間質の狭小化であった。また、腫瘍の一部には脂肪滴、蛋白顆粒の著明な分泌像がみられた。

3. nafoxidine hydrochloride 100  $\mu$ g/日を投与したものは 90% に腫瘍の退縮がみられた。

4. nafoxidine hydrochloride の投与により退縮した DMBA 乳癌の形態的变化は、腫瘍細胞の小型化、細胞内小器官の発達不良、遊離のリボゾムの減少、ライソゾームの増加、小空胞の形成、核の不整、クロマチンの核周辺部への集合、核分裂像の消失、基底膜の発達、間質の線維成分の著明な増生であった。また、筋上皮細胞は腫瘍細胞に比して大型で、連続的に周囲を取り囲み、抗 estrogen 作用の影響が少なかった。

5. 両側卵巣、卵巣・副腎切除を行なったものでは 76.9% に腫瘍の退縮がみられた。

6. 両側卵巣・副腎切除術により退縮した DMBA 乳癌の形態的变化は、腫瘍細胞の小型化、核・胞体比の減少、核分裂像の消失、糸粒体の膨大およびクリスタの消失、粗面小胞体の内腔拡大およびそ

の周囲に付着したリボゾムの配列不整、遊離のリボゾムの減少、脂肪滴、ライソゾーム、巨大な自家食胞、空胞の出現、さらには腫瘍細胞の変性壊死像であった。壊死巣周囲には筋上皮細胞が増加し、その突起が基底膜様構造を伴って壊死巣を取り囲むようになり、壊死巣内には無定形物質以外に細線維様構造がみられた。間質では膠原線維の発達が著明であった。すなわち、卵巣・副腎切除術によりまず腫瘍細胞が変性壊死に陥って脱落し、筋上皮細胞のみが残存し、最後にはこれも脱落して腫瘍の上皮成分が間質成分と置換される。

7. 以上、DMBA 乳癌を用いてホルモン、抗 estrogen 製剤の投与や外科的ホルモン療法に反応する微細構造上のさまざまな変化を観察したが、これらの事実はヒト乳癌に対するホルモン療法の基礎的な微細構造上の変化を示唆するものと考えられる。

稿を終わるにあたり御懇篤なる御指導と御校閲を賜った岡山大学第一外科教室、田中早苗教授に深甚なる謝意を表わすとともに、本研究を直接御指導下さいました山本泰久博士、藤井康宏講師、石川純博士に深謝いたします。また、電子顕微鏡撮影に御協力頂きました田中正信氏に深く感謝いたします。

本論文の要旨は、第50回、51回中国四国外科学会、および第8回日本臨床電子顕微鏡学会に発表した。

## 文 献

- 1) Huggins, C., Grand, L. C. and Brillantes, F. P. : Mammary cancer induced by a single feeding of polynuclear hydrocarbons, and its suppression. *Nature*, **189** : 204, 1961.
- 2) Kiang, D. T. and Kennedy, B. J. : Combination of cyclophosphamide and estrogen therapy in DMBA-induced rat mammary cancer. *Cancer*, **28** : 1202, 1971.
- 3) Teller, M. N., Stock, C. C., Stohr, G., Merker, P. C., Kaufman, R. J., Escher, G. C. and Bowie, M. : Biologic characteristics and chemotherapy of 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene-induced tumors in rats. *Cancer Res.*, **26** : 245, 1966.
- 4) Young, S., Cowan, D. M. and Sutherland, L. E. : The histology of induced mammary tumors in rats. *J. Path. Bact.*, **85** : 331, 1963.
- 5) Murad, T. M. and Haam, E. : Studies of mammary carcinoma induced by 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene administration. *Cancer Res.*, **32** : 1404, 1972.
- 6) Kledzik, G. S., Bradley, C. J. and Meites, J. : Reduction of carcinogen-induced mammary cancer incidence in rats by early treatment with hormones or drugs. *Cancer Res.*, **34** : 2953, 1974.

- 7) Huggins, C., Morii, S. and Grand, L. C. : Mammary cancer induced by a single dose of polynuclear hydrocarbons. : Routes of administration. *Ann. Surg.*, **154** (Supplement) : 315, 1961.
- 8) Welsch, C. W., Clemens, J. A. and Meites, J. : Effects of multiple pituitary homografts or progesterone on 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in rats. *J. Nat. Cancer Inst.*, **41** : 465, 1968.
- 9) Daniel, P. M. and Prichard, M. M. L. : Three types of mammary tumour induced in rats by feeding with DMBA. *Brit. J. Cancer*, **18** : 513, 1964.
- 10) Talwalker, P. K., Meites, J. and Mizuno, H. : Mammary tumor induction by estrogen or anterior pituitary hormones in ovariectomized rats given 7, 12-dimethyl- 1, 2-benzanthracene. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **116** : 531, 1964.
- 11) 中村隆一 : DMBA 誘発乳腺腫瘍の発育に対する卵巣切除および男性ホルモンの影響について, 京府医大誌, **81** : 415, 1972.
- 12) Huggins, C. and Yang, N. C. : Induction and extinction of mammary cancer. *Science*, **137** : 257, 1962.
- 13) Nagasawa, H. and Yanai, R. : Effects of prolactin or growth hormone on growth of carcinogen-induced mammary tumors of adreno-ovariectomized rats. *Int. J. Cancer*, **6** : 488, 1970.
- 14) Meites, J. : Relation of prolactin and estrogen to mammary tumorigenesis in the rat. *J. Nat. Cancer Inst.*, **48** : 1217, 1972.
- 15) Sinha, D., Cooper, D. and Dao, T. L. : The nature of estrogen and prolactin effect on mammary tumorigenesis. *Cancer Res.*, **33** : 411, 1973.
- 16) Leung, B. S., Sasaki, G. H. and Leung, J. S. : Estrogen-prolactin dependency in 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene-induced tumors. *Cancer Res.*, **35** : 621, 1975.
- 17) Nagasawa, H., Yanai, R., Shodone, M., Nakamura, T. and Tanabe, Y. : Effect of neonatally administered estrogen or prolactin on normal and neoplastic mammary growth and serum estradiol- 17 $\beta$  level in rats. *Cancer Res.*, **34** : 2643, 1974.
- 18) Huggins, C., Moon, R. C. and Morii, S. : Extinction of experimental mammary cancer. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **48** : 379, 1962.
- 19) Beuving, L. J. : Effects of ovariectomy on preneoplastic nodule formation and maintenance in the mammary glands of carcinogen-treated rats. *J. Nat. Cancer Inst.*, **43** : 1181, 1969.
- 20) Quadri, S. K., Kledzik, G. S. and Meites, J. : Effects of L-dopa and methyl dopa on growth of mammary cancers in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142** : 759, 1973.
- 21) Quadri, S. K., Clark, J. L. and Meites, J. : Effects of LSD, pargyline and haloperidol on mammary tumor growth in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **142** : 22, 1973.
- 22) 長澤 弘 : 実験的乳がんに対する prolactin の役割(その2). ホルモンと臨床, **19** : 707, 1971.
- 23) Teller, M. N., Kaufman, R. J., Bowie, M. and Stock, C. : Influence of estrogens and endocrine ablation on duration of remission produced by ovariectomy or androgen treatment of 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary tumors. *Cancer Res.*, **29** : 349, 1969.
- 24) Griswold, D. P., Jr. and Green, C. H. : Observations on the hormone sensitivity of 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in the Sprague-Dawley rat. *Cancer Res.*, **30** : 819, 1970.
- 25) Young, S. and Cowan, D. M. : Spontaneous regression of induced mammary tumours in rats. *Brit. J. Cancer*, **17** : 85, 1963.
- 26) 石田常博 : シロネズミおよびヒト乳癌細胞の卵巣ならびに副腎切除術後の変化に関する電子顕微鏡的研究. *J. Clin. Electron Microscopy*, **7** : 33, 1974.

- 27) Pradhan, S.N. and Ray, P. : Effects of stress on growth of transplanted and 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene-induced tumors and their modification by psychotropic drugs. J. Nat. Cancer Inst., **53** : 1241, 1974.
- 28) Ray, P. and Pradhan, S.N. : Brief communication: Growth of transplanted and induced tumors in rats under a schedule of punished behavior. J. Nat. Cancer Inst., **52** : 575, 1974.
- 29) Stevens, L., Stevens, E. and Currie, A.R. : Histological studies and measurement of nucleic acid synthesis in rat mammary tumours induced by 9, 10-dimethyl-1, 2-benzanthracene (DMBA). J. Path. Bact., **89** : 581, 1965.
- 30) Fukunishi, R. : Studies on tumor induction in rats with 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene, with special references to the morphogenesis and fine-structural changes in the target organs. Acta Path. Jap., **18** : 51, 1968.
- 31) 今 清 : ラット乳腺の超微構造とホスファターゼ活性の局在, 及び 7, 12-DMBA による腫瘍誘発過程におけるそれらの変動, 関西医大誌, **22** : 81, 1970.
- 32) Kurosumi, K. : Electron microscopic analysis of secretion. Int. Rev. Cytol., **11** : 1, 1961.
- 33) 山崎泰弘 : ホルモンの影響によるラット乳腺の形態的变化に関する電子顕微鏡的研究. 岡山医学会雑誌, **89** : 1359, 1977.
- 34) Kataoka, M. : An electron microscopic study of nucleolar changes induced by ovariectomy or administration of some anticancer agents in the rat mammary tumor cells. Nagoya Med. J., **18** : 33, 1972.
- 35) 小野江為則, 布施裕輔 : 細胞死の超微構造的変化, 医学のあゆみ, **69** : 398, 1969.
- 36) 小川和朗, 斉藤多久馬, 馬屋原宏 : ライソゾームの微細構造—最近の問題点—, 細胞, **2** : 2, 1970.
- 37) 倉橋和啓 : ライソゾームの機能. 細胞, **2** : 14, 1970.
- 38) 野田春彦, 永井裕, 藤本大三郎編 : コラーゲン, 南江堂, 東京, 1975.
- 39) Hay, E.D. and Dodson, J.W. : Secretion of collagen by corneal epithelium. I. Morphology of the collagenous products produced by isolated epithelia grown on frozen-killed lens. J. Cell Biol., **57** : 190, 1973.
- 40) Murad, T.M. and von Haam, E. : Ultrastructure of myoepithelial cells in human mammary gland tumors. Cancer, **21** : 1137, 1968.

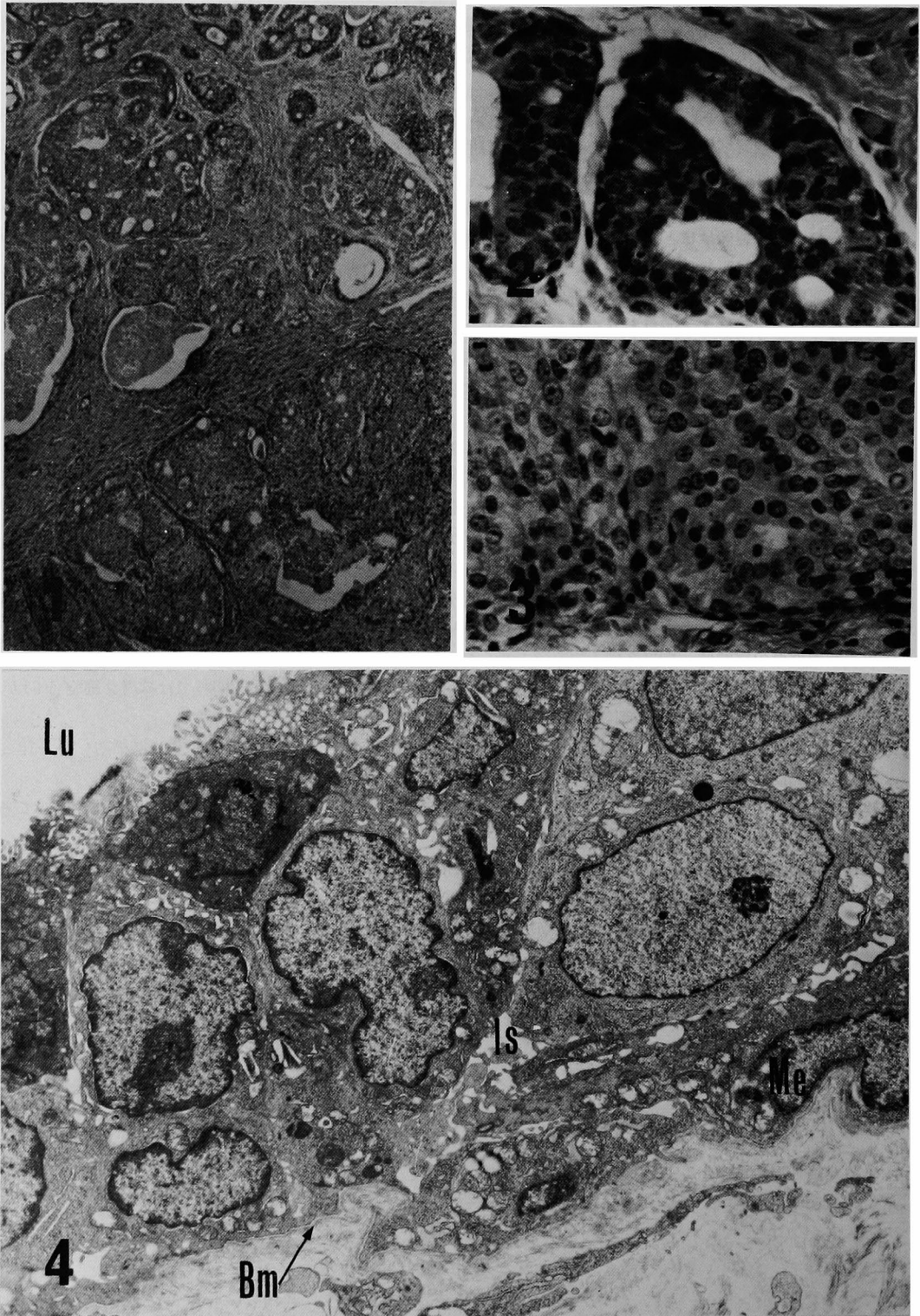
## 附 図 説 明

- 図1. DMBA 乳癌の光顕像. Hematoxylin-Eosin (以下 H-E と略す) 染色. 乳頭状腺管構造と胞巣状の充実性構造がみられる.  $\times 120$ .
- 図2. DMBA 乳癌の光顕像. H-E 染色. 乳頭状腺管構造を示す腫瘍細胞は低円柱状で, 1 ~ 2 個の核小体を持ち, 細胞境界は不明瞭なものが多い. 筋上皮細胞は非連続的に認められる.  $\times 880$ .
- 図3. DMBA 乳癌の光顕像. H-E 染色. 胞巣状構造を示す腫瘍細胞は類球形で, 数個の核小体を持ち, 胞体は明るく, 細胞境界は明瞭なものが多い.  $\times 880$ .
- 図4. DMBA 乳癌の電顕像. 大型で, 核・胞体比の高い細胞により腺管構造を形成している. 細胞間隙(Is)は広い. 筋上皮細胞(Me)は非連続的にみられる. Lu: 腺腔, Bm: 基底膜.  $\times 5,100$ .
- 図5. DMBA 乳癌の電顕像. 腺腔(Lu)に面した表面には微絨毛(Mv)があり, 胞体内には tonofilament (Tf) の発達が認められる. D: デスモゾーム.  $\times 35,400$ .
- 図6. DMBA 乳癌の電顕像. 糸粒体(M)はクリスタの不明瞭なものが多い. 粗面小胞体(ER), ゴルジ装置(G)の発達は乏しい. 遊離のリボゾームは豊富である. Lu: 腺腔.  $\times 11,600$ .
- 図7. prolactin, estradiol-17 $\beta$  の併用投与により増大した DMBA 乳癌 (以下ホルモン投与群と略す) の光顕像. H-E 染色. 腺管の増生は著明で, 乳頭状腺管構造を示すものと腺房構造を示すものがみられる.  $\times 300$ .
- 図8. ホルモン投与群の光顕像. H-E 染色. 乳頭状腺管構造を示す腫瘍細胞はやや大型となり, 核・胞体比は高く, 分泌顆粒が増加している. 筋上皮細胞は不明瞭となる.  $\times 880$ .
- 図9. ホルモン投与群の光顕像. H-E 染色. 腺房構造を示す腫瘍細胞の胞体はほとんど分泌顆粒で占められ明澄に見える.  $\times 880$ .
- 図10. ホルモン投与群の電顕像. 腫瘍細胞はより大型となり, 核・胞体比は増加する. 細胞間隙(Is)は広い. Lu: 腺腔.  $\times 2,900$ .
- 図11. ホルモン投与群の電顕像. 微絨毛(Mv), 糸粒体(M), 粗面小胞体(ER), ゴルジ装置(G)の発達は良好である. 遊離のリボゾームは増加する. Lu: 腺腔.  $\times 7,000$ .
- 図12. ホルモン投与群の電顕像. 筋上皮細胞は減少して腫瘍細胞が直接基底膜(Bm)に接することが多く細胞質突起( $\uparrow$ )が間質側に延びている. 間質では膠原線維の形成が不良で線維の走行も一定でない.  $\times 5,500$ .
- 図13. ホルモン投与群の電顕像. 脂肪滴(Li), 蛋白顆粒(CG)の著明な分泌が認められる.  $\times 3,400$ .
- 図14. ホルモン投与群の電顕像. 核上部特に腺腔(Lu)に面した部位に蛋白顆粒(CG)は多くみられ, 膜を有する約 0.5  $\mu$  の空胞内に入っている. N: 核.  $\times 11,400$ .
- 図15. nafoxidine hydrochloride の投与により退縮した DMBA 乳癌 (以下 nafoxidine 投与群と略す) の光顕像. H-E 染色. 管内型の線維増生が認められる腺管の腫瘍細胞は小型となり, 核分裂像はほとんど認められない. 間質の増生は顕著である.  $\times 1,200$ .
- 図16. nafoxidine 投与群の光顕像. H-E 染色. 嚢胞状拡張腺管の腫瘍細胞は扁平で一層となり, 核小体は不明瞭である.  $\times 600$ .
- 図17. nafoxidine 投与群の電顕像. 腫瘍細胞は著明に小型化し, 細胞間隙は狭小で細胞間嵌合の発達は乏しい. 筋上皮細胞(Me)は連続的に腫瘍細胞周囲を取り囲んでいる. 間質では膠原線維(Cf)の増生が著明である. Lu: 腺腔.  $\times 4,200$ .
- 図18. nafoxidine 投与群の電顕像. 微絨毛(Mv)の発達は不良で, その表面は細顆粒状物質を含む無定形物質で一様に被われている. Lu: 腺腔, N: 核.  $\times 43,400$ .
- 図19. nafoxidine 投与群の電顕像. 細胞内小器官の発達は不良で, 遊離のリボゾームも減少し, ライソゾーム(Ly)が多数出現している. 核(N)は不規則に陥凹し, クロマチンは核周辺部へ多く集まり, 核小体は不明瞭である. M: 糸粒体.  $\times 14,100$ .

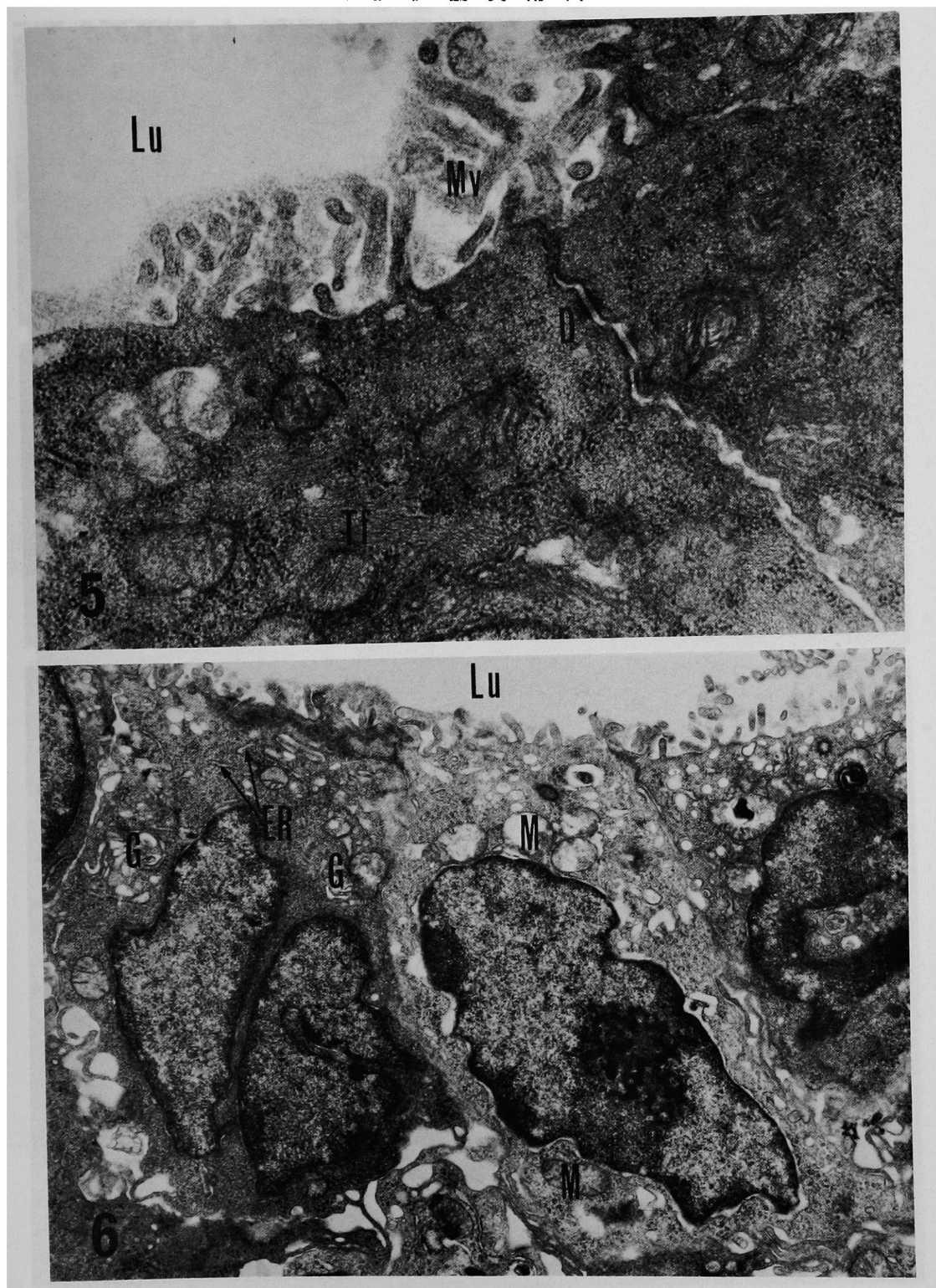


- 図20. nafoxidine 投与群の電顕像. 筋上皮細胞(Me)は筋原線維(Mf)の発達が著明で、腫瘍細胞に比して大型である。×8,500.
- 図21. nafoxidine 投与群の電顕像. 基底膜(Bm)の発達は良好でところどころ肥厚し、これから連続して間質側に放射状に延びる基底膜様構造(↑)がみられる。その外側には明瞭なる周期性横紋を有する膠原線維(Cf)の発達が著明である。×13,500.
- 図22. 両側卵巣・副腎剔除術により退縮した DMBA 乳癌(以下卵副剔群と略す)の光顕像. H-E 染色. 腫瘍内における腺管増生はまだ著明に認められ、腺腔内には好塩基性から好酸性の分泌物がみられ、また、拡張腺管には脱落した上皮を認める。×120.
- 図23. 卵副剔群の光顕像. H-E 染色. 腫瘍細胞は小型となり、円柱状、骰子状でさらには扁平化するものもみられ、核分裂像はほとんど認められない。胞体には分泌顆粒が増加しており、核下に著明に認めるものもある。×880.
- 図24. 卵副剔群の光顕像. H-E 染色. 筋上皮細胞は連続して著明にみられ、腫瘍細胞の脱落に伴い筋上皮細胞が管腔内に露呈する所見もみられる。×880.
- 図25. 卵副剔群の電顕像. 腺腔内に脱落した腫瘍細胞(↑)がみられる。胞体内には脂肪滴(Li)、ライソゾーム(Ly)が多数出現している。筋上皮細胞(Me)は連続的に腫瘍細胞周囲を取り囲んでいる。Fb: 線維芽細胞。×3,800.
- 図26. 卵副剔群の電顕像. 糸粒体(M)は減少しクリスタの不明瞭なもの、粗面小胞体(ER)は内腔の拡大したものが多く、遊離のリボゾームは減少する。×10,800.
- 図27. 卵副剔群の電顕像. 周囲の細胞質基質と境界不鮮明で、中に遊離のリボゾーム、小胞体、ライソゾームを含み、周囲と比して淡明にみえる無構造な部分(↑)、多数のライソゾームが集まり胞体を融解して空胞(V)化しているものがみられる。×25,300.
- 図28. 卵副剔群の電顕像. 糸粒体(M)、粗面小胞体等を貧食し、多数の脂肪滴(Li)、空胞(V)、ライソゾーム(Ly)が混在して巨大な自家食胞を形成し、核(N)を偏在させている。×7,700.
- 図29. 卵副剔群の電顕像. 均質無構造物質で占められた部分(↑)や空胞(V)が認められる。×4,700.
- 図30. 卵副剔群の電顕像. 筋上皮細胞(Me)にも脂肪滴(Li)の出現が認められる。間質では線維芽細胞(Fb)が増加し、膠原線維(Cf)の発達が著明である。×10,400.
- 図31. 卵副剔群の電顕像. 壊死巣(Nec)内に自家食胞(Av)が認められ、壊死巣周囲を基底膜様構造(↑)を伴って筋上皮細胞(Me)が取り囲んでいる。×5,200.
- 図32. 卵副剔群の電顕像. 腫瘍細胞が脱落し、筋上皮細胞(Me)のみで壊死巣(Nec)と間質を境しているところもみられる。Fb: 線維芽細胞。×4,800.
- 図33. 卵副剔群の電顕像. 壊死巣(Nec)内には無定形物質の他に細線維様構造(↑)が認められる。Me: 筋上皮細胞, Mf: 筋原線維, Fb: 線維芽細胞。×15,200.
- 図34. 卵副剔群の電顕像. 壊死巣(Nec)を取り囲むがごとく延びた筋上皮細胞(Me)の一部が途切れて、基底膜様構造(↑)のみが残ってみられる。Cf: 膠原線維。×8,300.
- 図35. 卵副剔群の電顕像. 残存していた基底膜様構造も消失し、周囲間質と直接接した壊死巣(Nec)内には微細線維(↑)や周期性横紋のみみられる膠原線維(Cf)が認められる。×8,000.

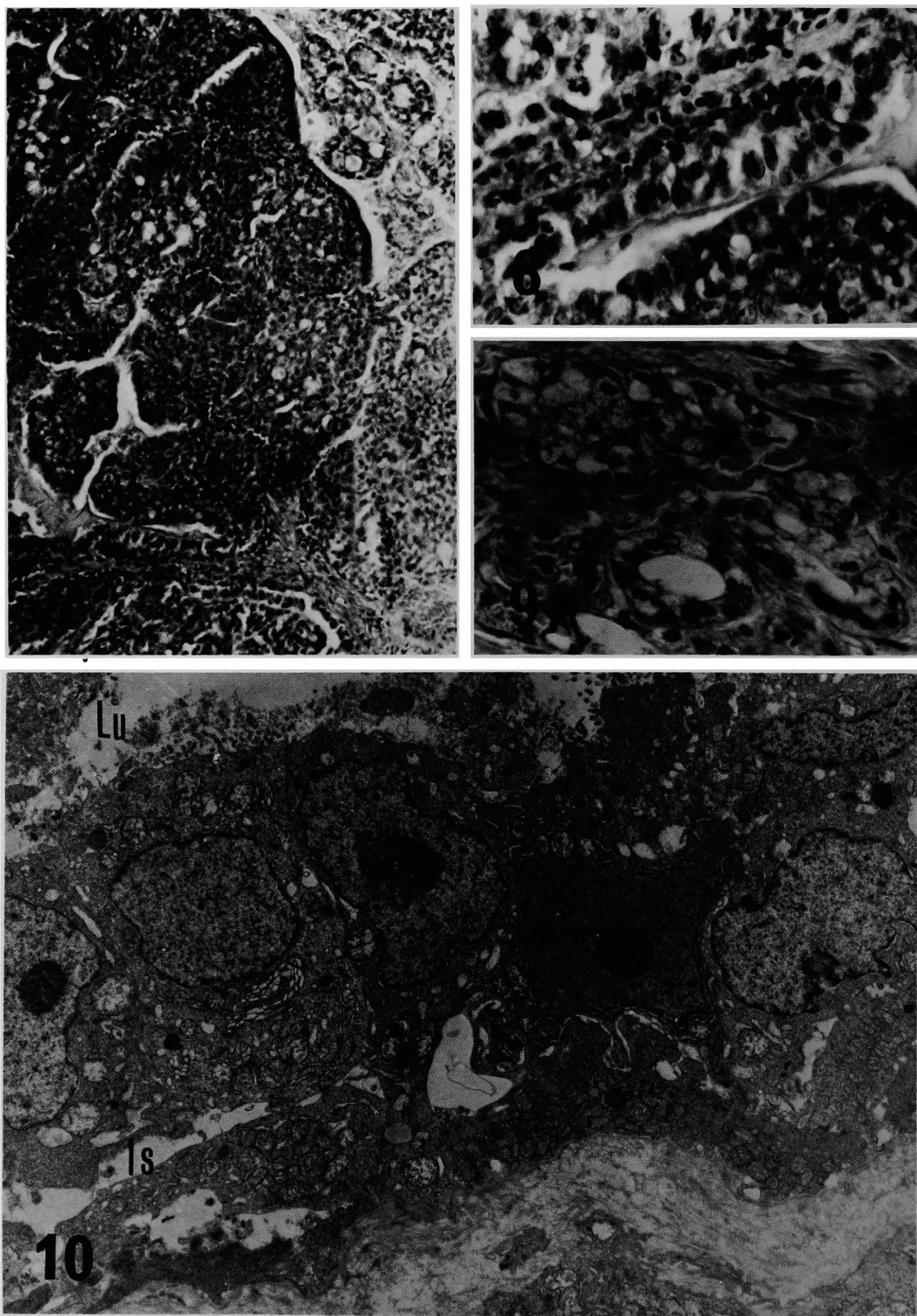
大 杉 紘 論 文 附 図



大 杉 紘 論 文 附 図

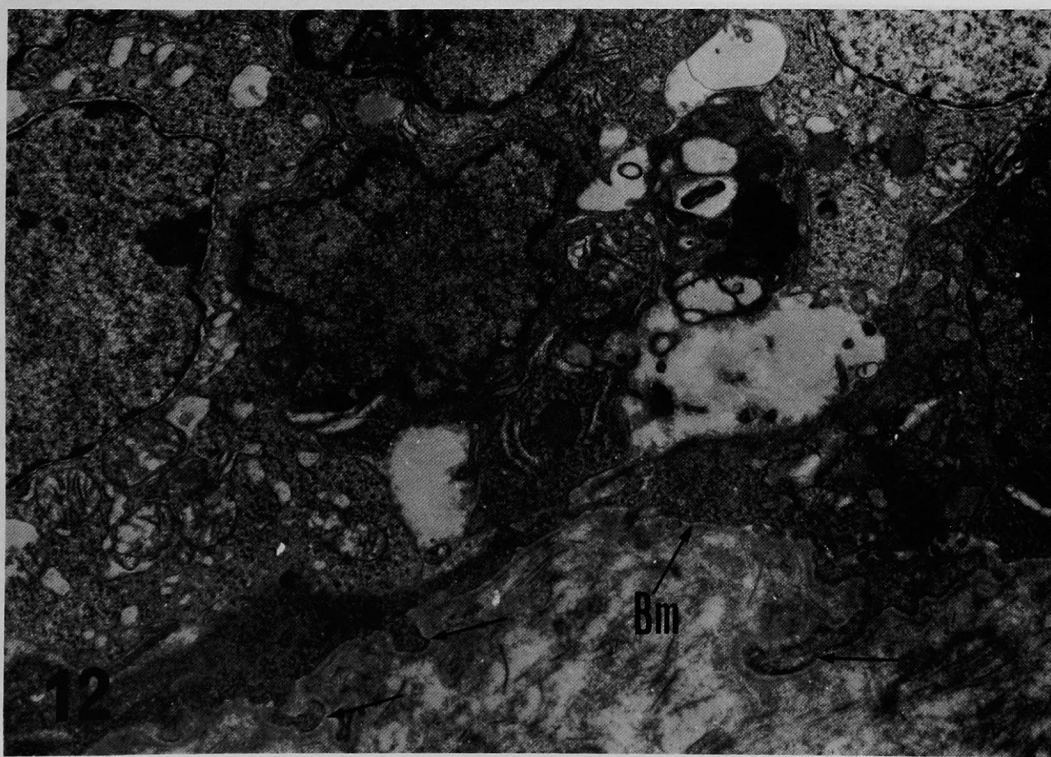
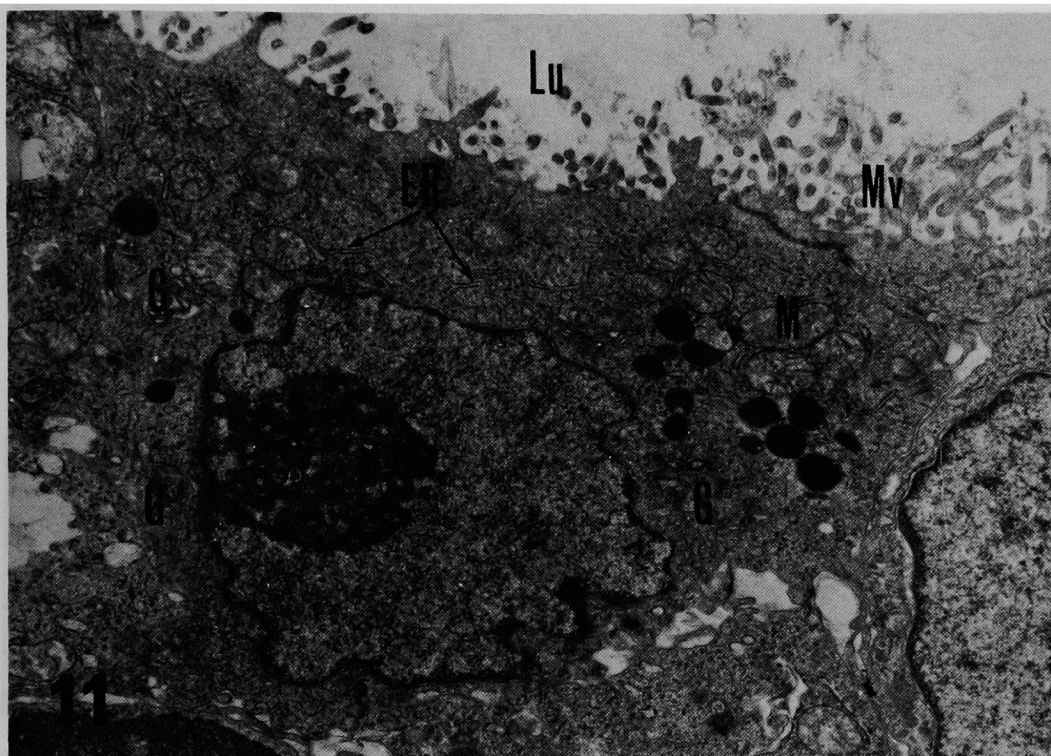


## 大 杉 紘 論 文 附 図

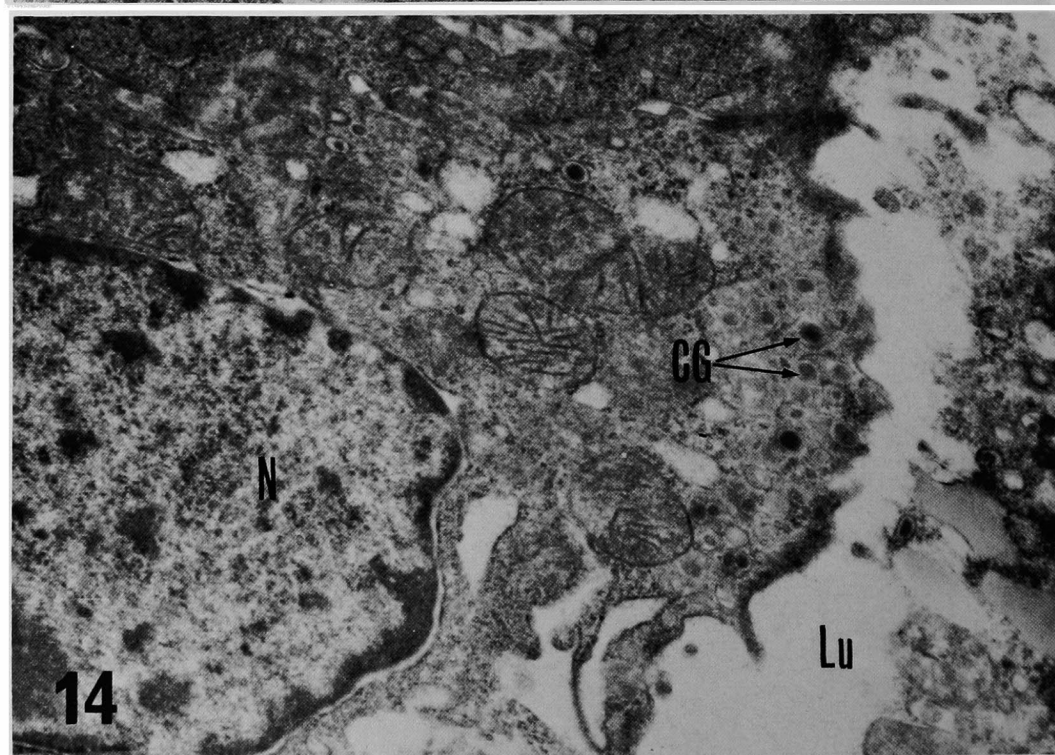
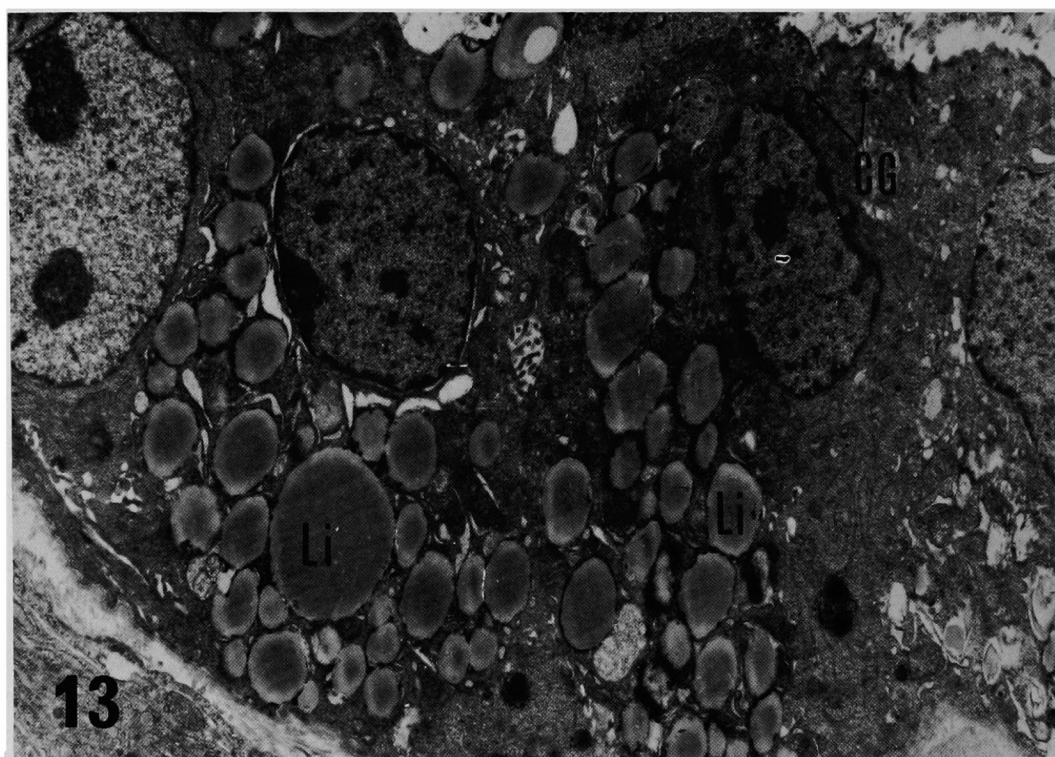




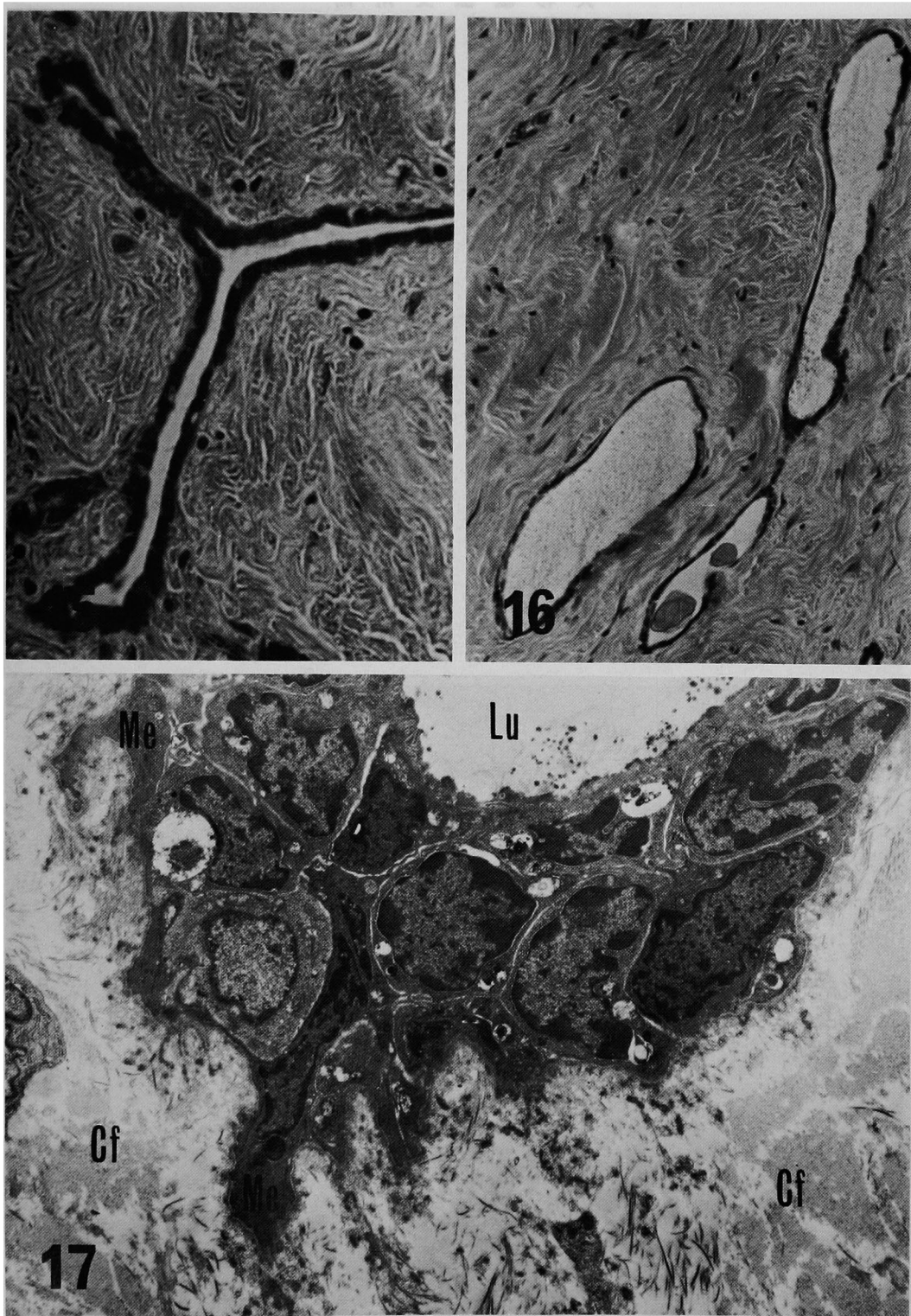
大杉 紘 論文 附 図



## 大 杉 紘 論 文 附 図

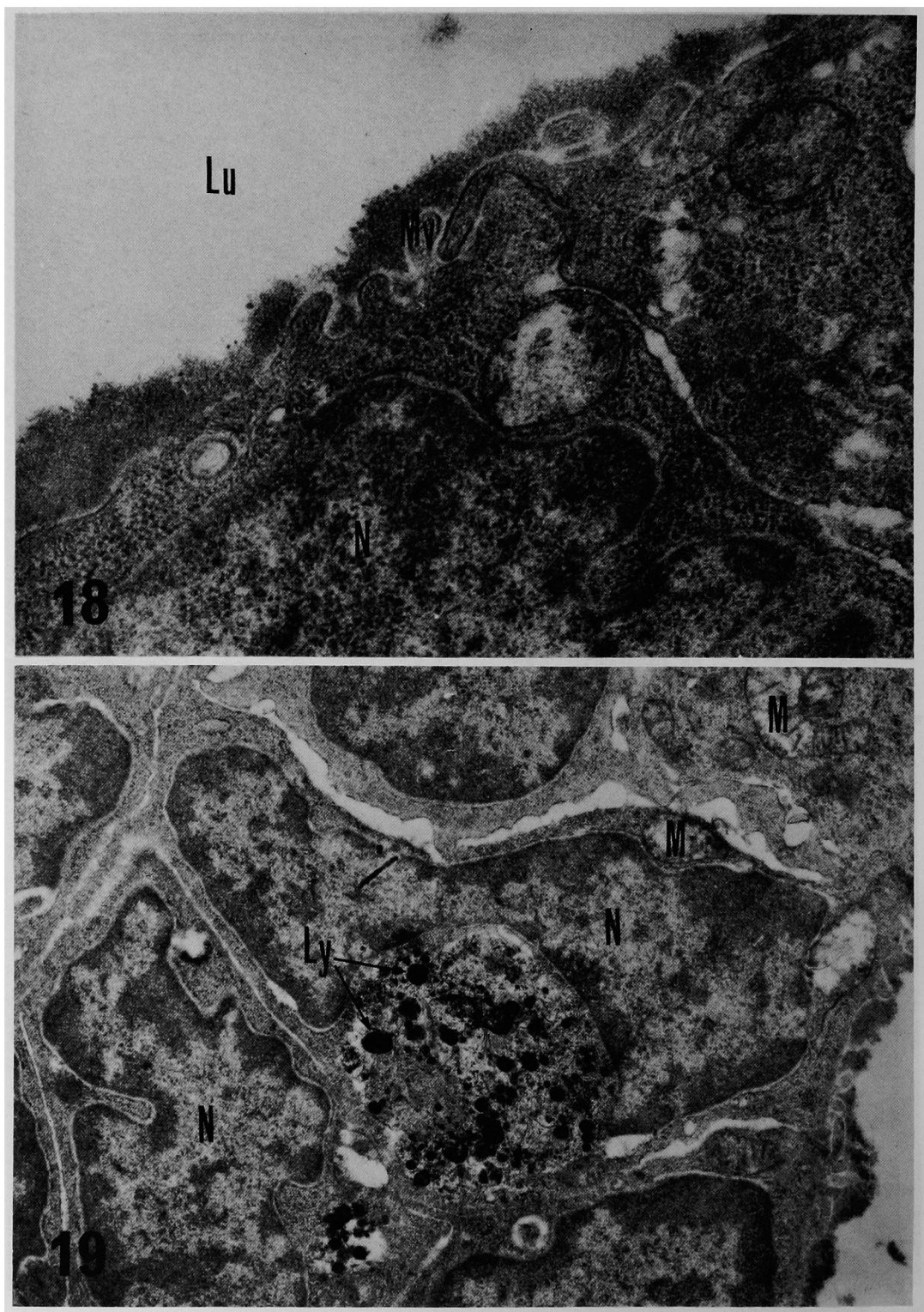


大 杉 紘 論 文 附 図



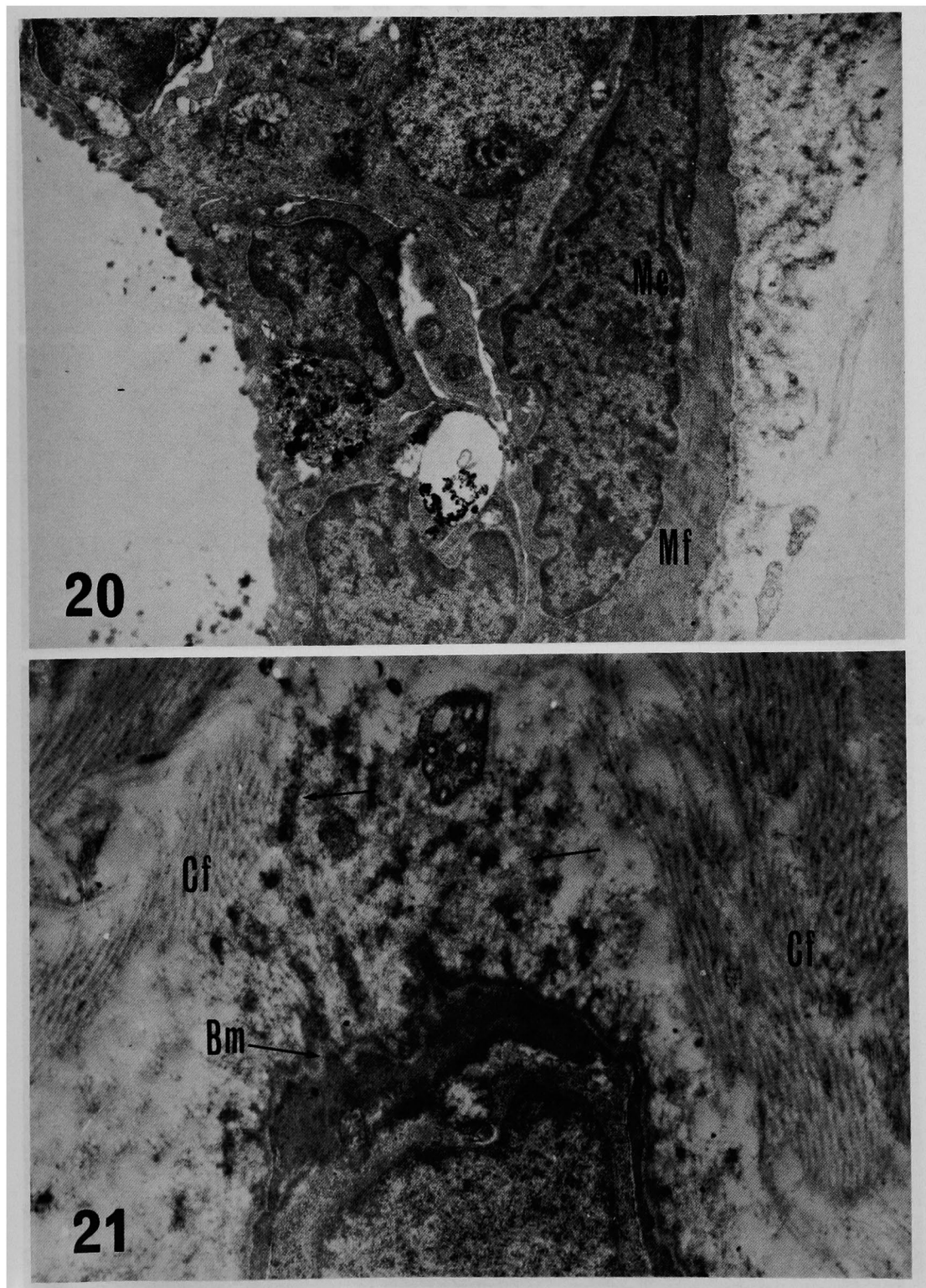


## 大 杉 紘 論 文 附 図

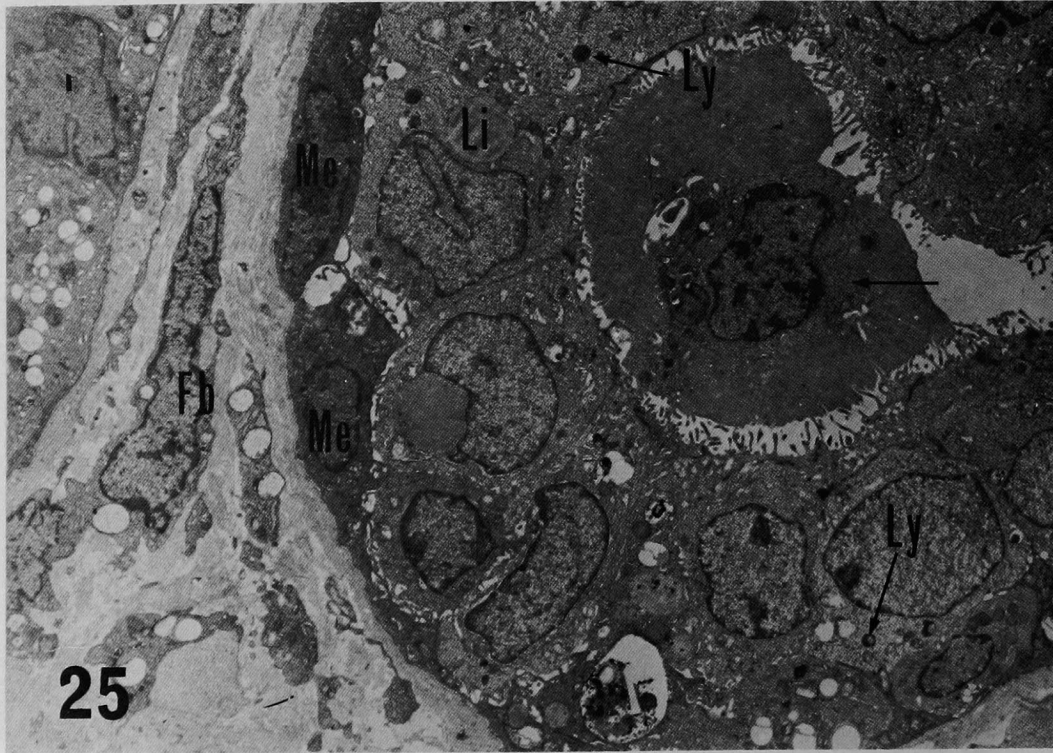
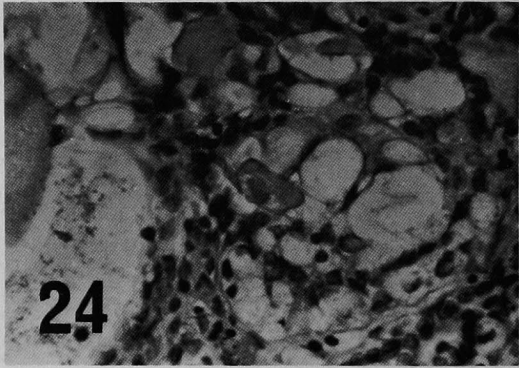
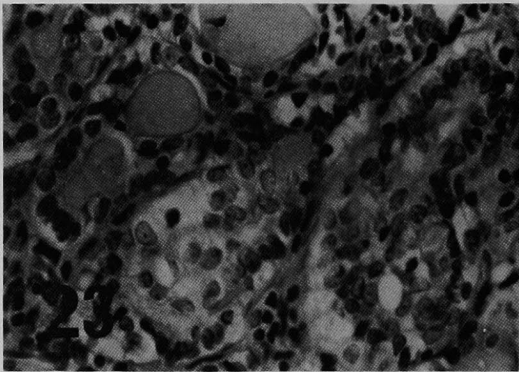
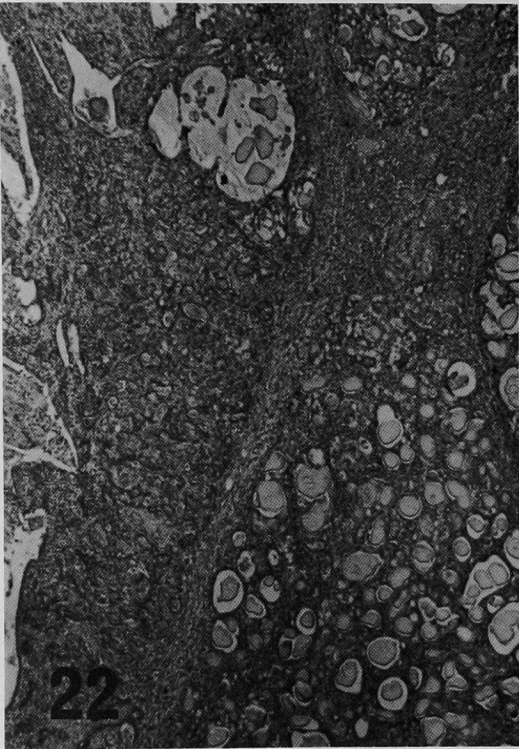




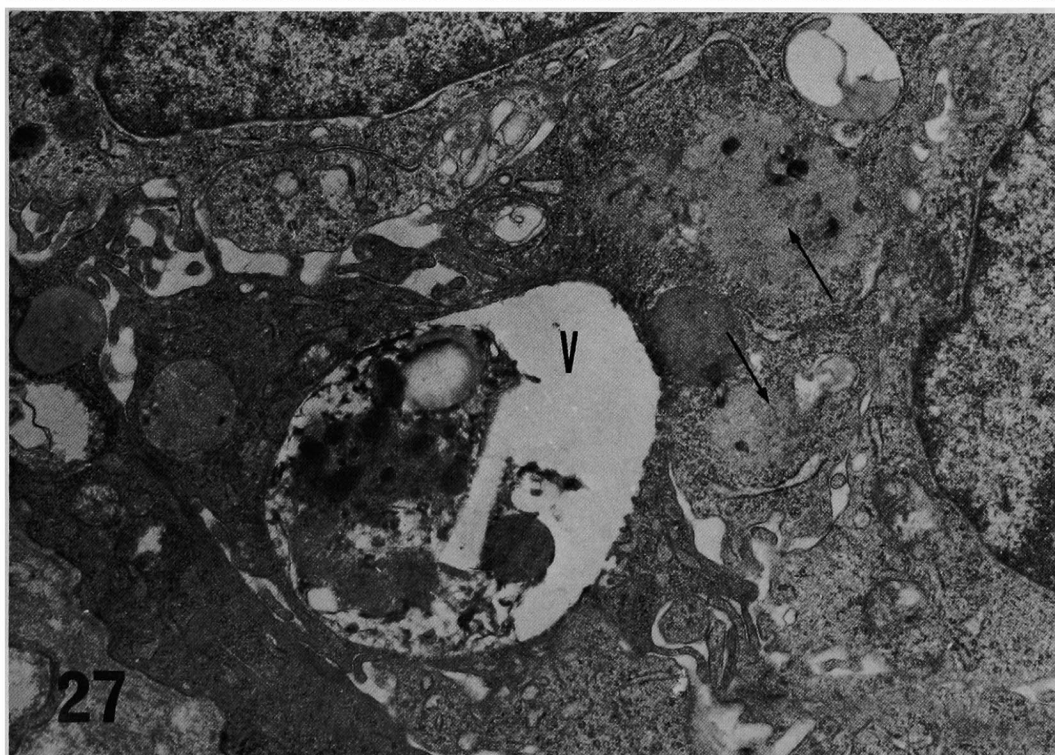
大 杉 紘 論 文 附 図



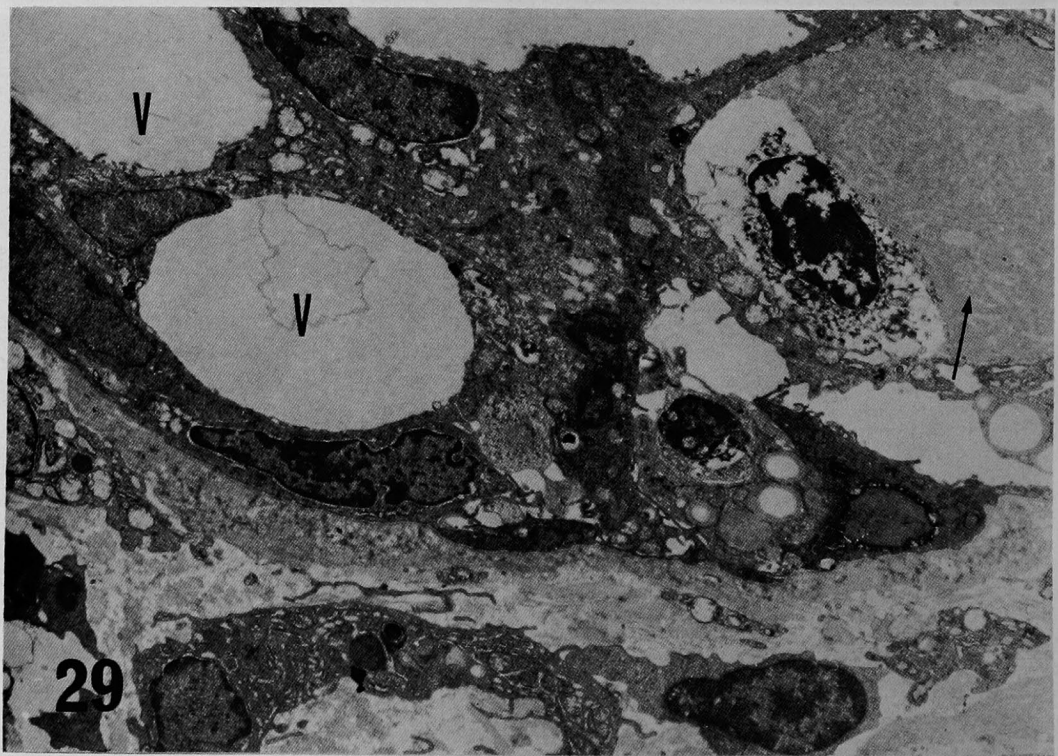
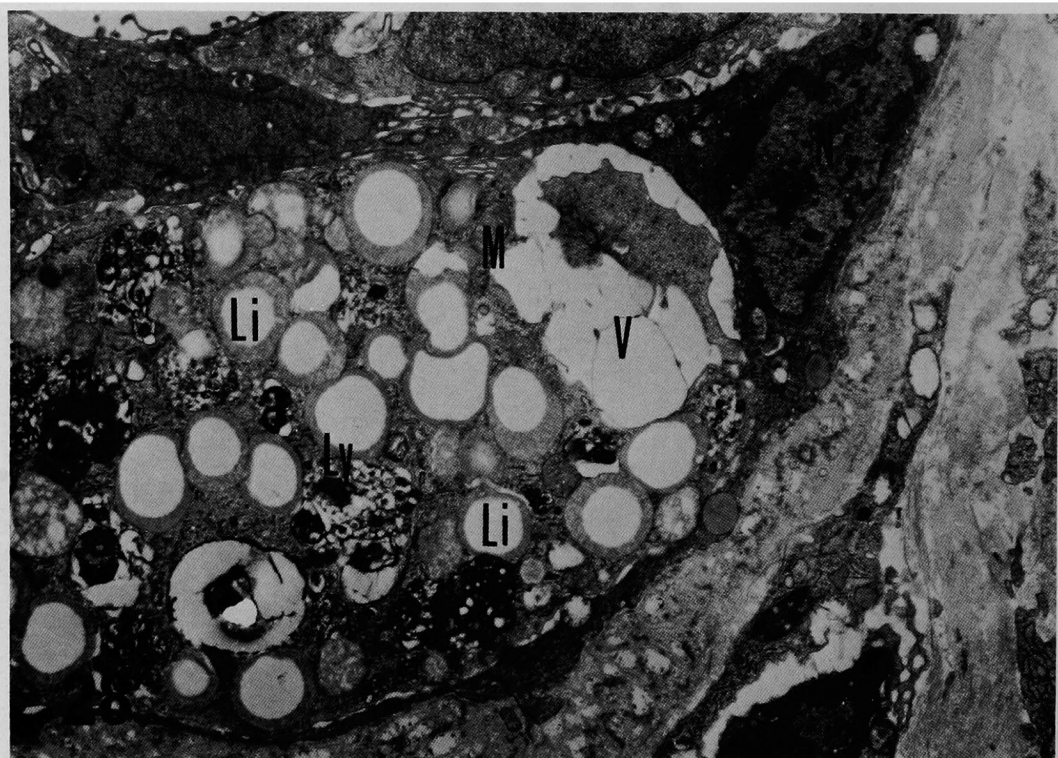
大 杉 紘 論 文 附 図



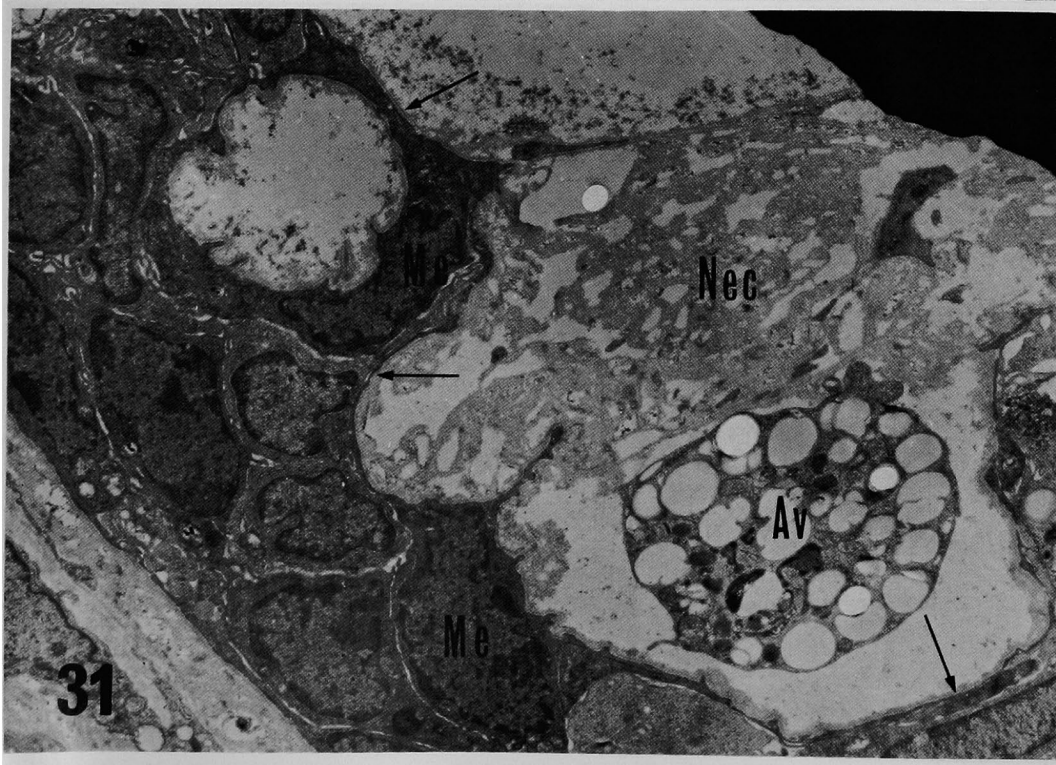
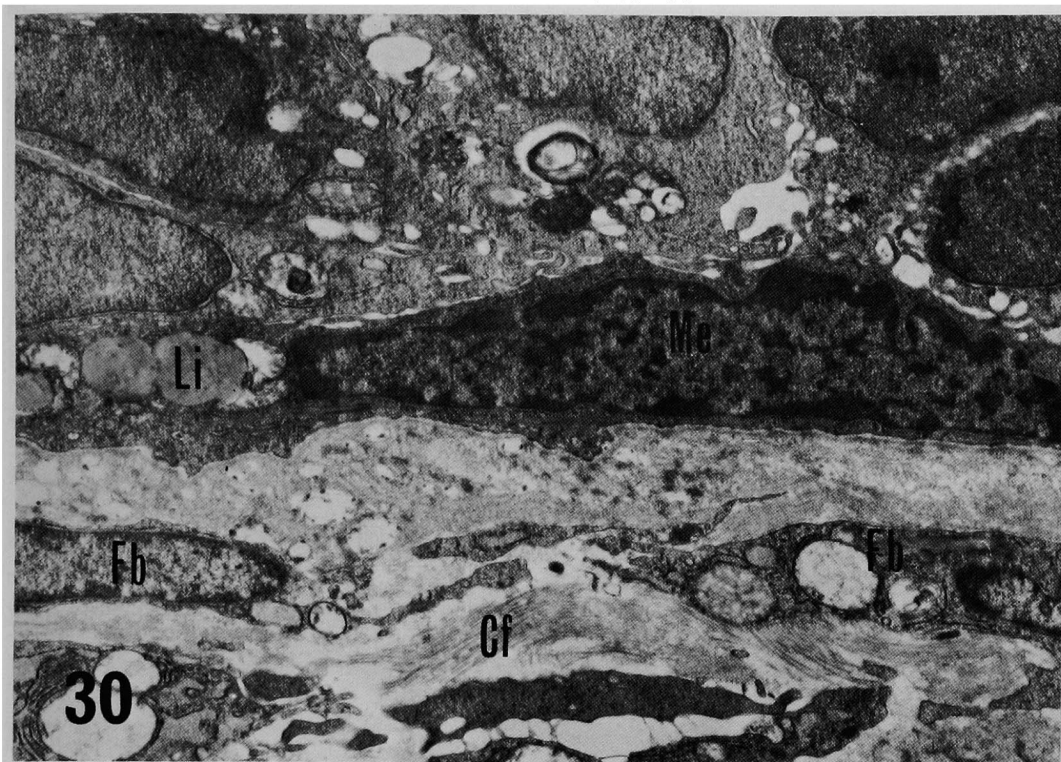
大 杉 紘 論 文 附 図

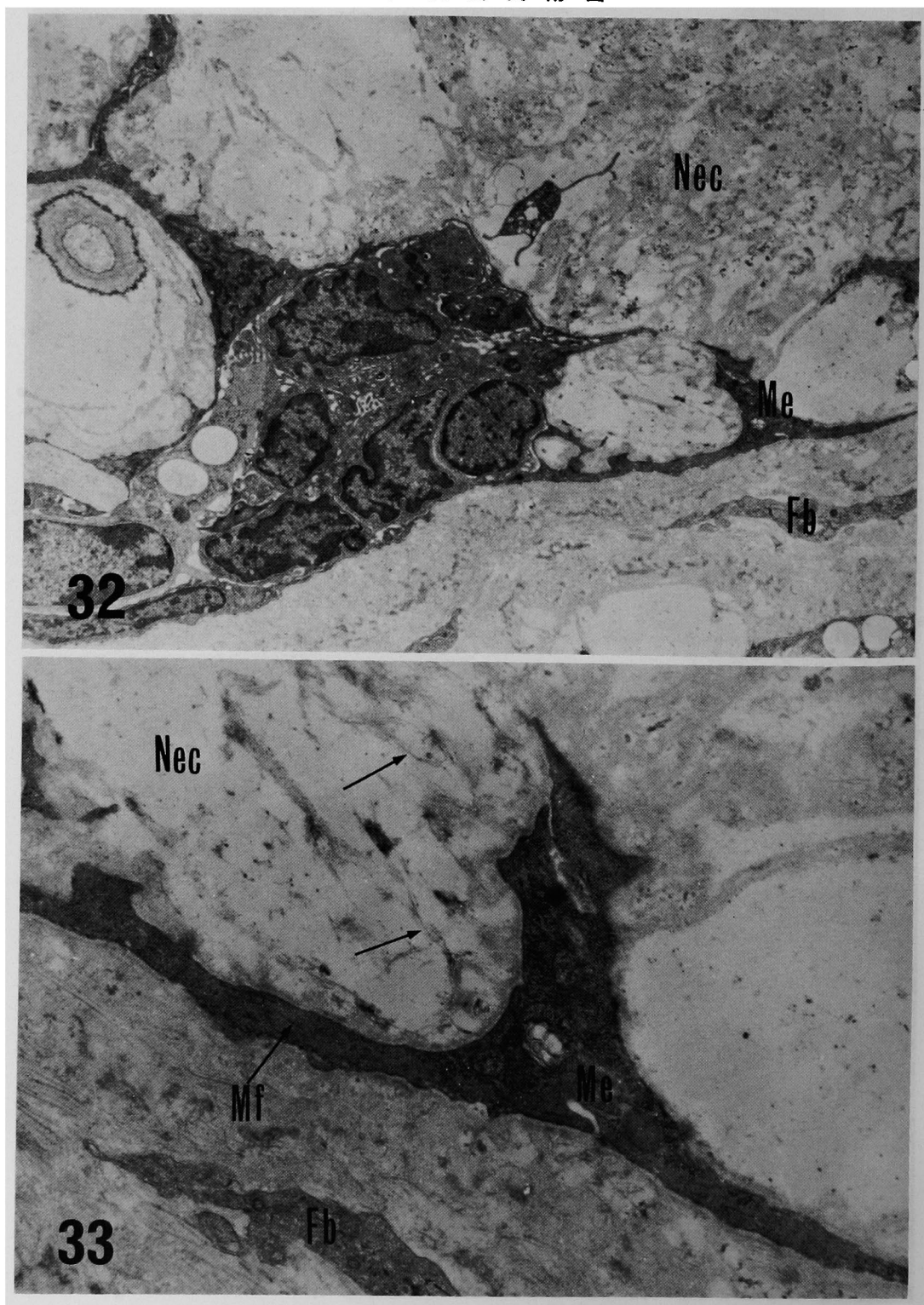






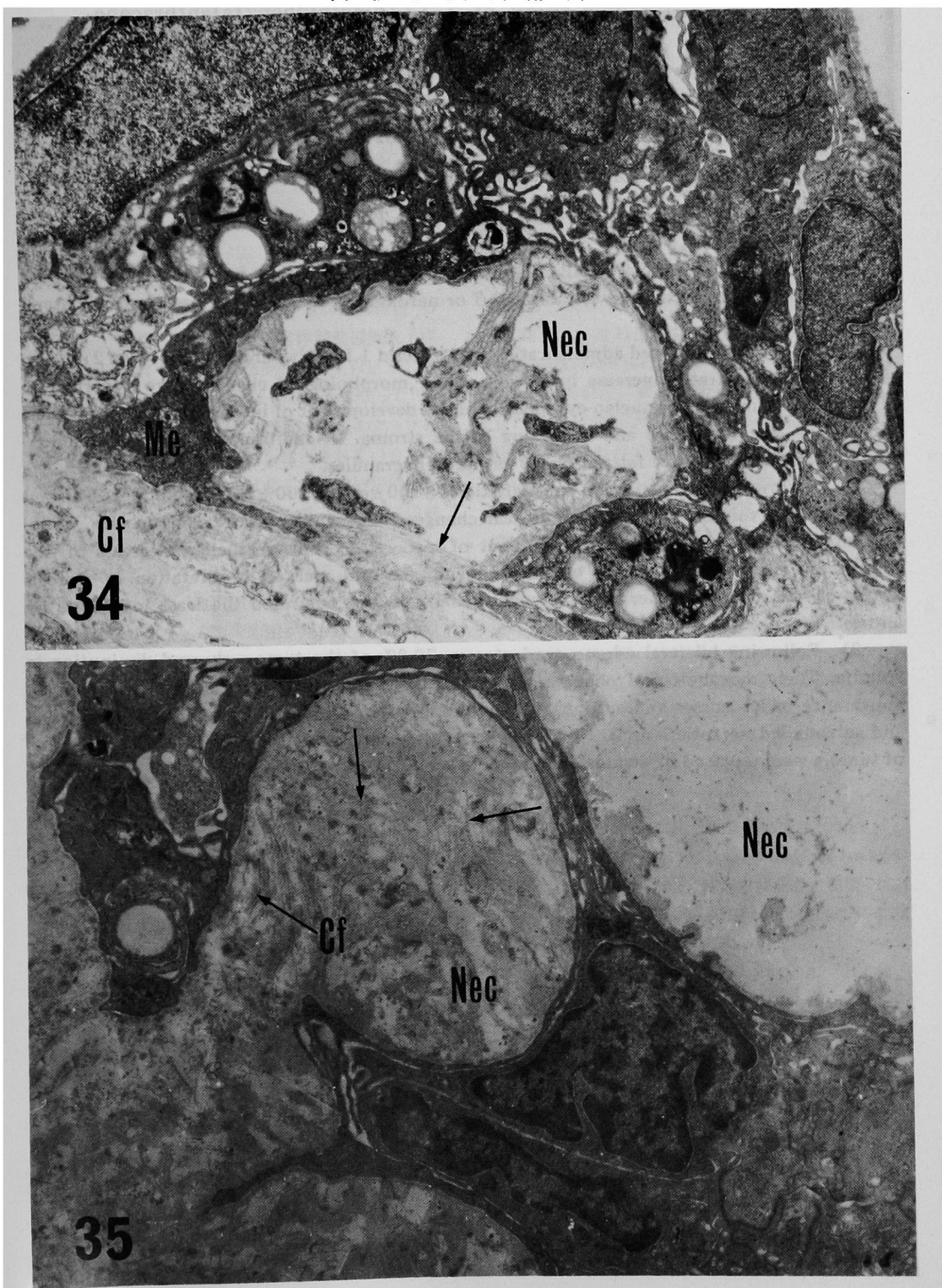
大 杉 紘 論 文 附 図







大杉 紘 論文 附 図



**Electron microscopic study of 7, 12-Dimethylbenz(a)anthracene-  
induced rat mammary tumors influenced by hormones  
by**

**Hiroshi OHSUGI**

Department of Surgery, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Sanae Tanaka)

Morphological changes of DMBA-induced rat mammary tumors were observed following administration of prolactin and estradiol-17 $\beta$  or nafoxidine (anti-estrogen agent), and bilateral adreno-ovariectomy.

1) Following combined administration of prolactin 1 I.U./day and estradiol-17 $\beta$  2 $\mu$ g/day, all tumors demonstrated increase in volume. Their morphological changes were hypertrophy of tumor cells, increase of nucleo-cytoplasmic ratio, development of intracytoplasmic organelles, increase of free ribosomes and narrowing of the stroma. In addition, some tumors demonstrated marked secretion of fatty droplets and protein granules.

2) Following administration of nafoxidine 100 $\mu$ g/day, 90% of the tumors showed diminution in volume. Their morphological changes were smaller tumor cells in size, disappearance of mitotic figures, maldevelopment of intracytoplasmic organelles, decrease of free ribosomes, development of the basement membrane and marked proliferation of fibrosis in the stroma. On the other hand, myoepithelial cells demonstrated the least influences by anti-estrogen agent.

3) Following bilateral adreno-ovariectomy, 76.9% of the tumors showed diminution in volume. Their morphological changes were necrotic changes of tumor cells represented by appearance of lysosomes and autophagic vacuoles. Myoepithelial cells remained relatively well and surrounded necrotic lesions. However, at last they disappeared and epithelial components of tumors were replaced by stromal components.