

発癌性化学物質の新生児マウス注射による 白血病の発生機序に関する研究

岡山大学医学部第二内科学教室（主任：平木 潔教授）

永 森 悌 一 郎

（昭和49年11月20日受稿）

目 次

I 緒 言	5. 平木式臨床組織培養法による造血臓器の培養所見
II 実験方法	6. Fibrosarcoma の発生及び移植
III 実験成績	7. BP 誘発白血病マウスリンパ腺におけるウイルス粒子の電顕的証明
1. 白血病の発生率	IV 考 按
2. 末梢血液像の推移	V 結 語
3. 剖検所見	
4. 各臓器の組織学的変化	

I. 緒 言

発癌性化学物質による白血病の誘発実験は、Lignac (1928)¹⁾のベンゼンによるマウス白血病の誘発実験に端を発し、Furth (1938)²⁾による1, 2-Benzpyreneの脾内注入によるマウス白血病の誘発、Kirschbaum (1940)³⁾による、F₁, C₃H, BALB/C, CBAマウスにおける3-Methylcholanthreneの背部皮膚塗布による骨髄性白血病の発生等が報告されている。その後種々の実験方法を駆使して、白血病の発生機序に関する研究がなされており、発癌性化学物質としては、主として7, 12-Dimethylbenzanthracene, Benzpyrene, 3-Methylcholanthrene, Dibenzanthracene, Urethane, 等が用いられている。Toth, Shubik (1961)⁴⁾は、生後10週目のSwiss系マウスにUrethaneを経口投与することにより、50週前に雌で28%（対照群16%）、雄で16%（対照群4%）のリンパ腫の発生を認め、入野ら (1963)^{5) 6)}は、RF系マウスの背部皮膚に20-Methylcholanthreneを反復塗布することにより、リンパ性白血病48% 骨髄性白血病40%の発生を認めている。発癌性化学物質の1つである3, 4-Benzpyrene（以後BPと略す）はMidler (1939)⁷⁾Morton (1942)⁸⁾が皮膚塗布により皮膚癌、肺癌及び白血病の発生を認めて以来注目され、その後BPによ

る発癌実験は極めて多い。

さて、以上の如き発癌性化学物質による白血病の誘発実験に関する研究の歴史の中で、極めて重要な2つの事実が明らかにされ注目された。一つは、従来用いられていた成熟マウスに比較し、新生児マウスは発癌性化学物質に対して感受性が高いことであり、今一つは、胸腺の関与が極めて大きいことである。即ちPietra (1959)⁹⁾はSwiss系新生児マウスに、9, 10-Dimethyl-1, 2-Benzanthraceneの背部皮下1回注射により、成熟マウスでは6%しか発生しなかった悪性リンパ腫が、新生児マウスでは32%の高率に発生し、しかもその発生時期が注射後11週から24週と成熟マウスの場合に比較し極めて早期であった。同じくPietra, Rappaportら (1960)¹⁰⁾は、Swiss系新生児マウスに、7, 12-Dimethylbenzanthracene, Benzpyrene, 3-Methylcholanthrene, Urethane等の1回注射により成熟マウスに比較して悪性リンパ腫の発生率が有意に高率であることを認めている。その他、Roe, Rowsonら (1961)¹¹⁾のCBA系、101系新生児マウスにおけるDimethylbenzanthracene投与実験、Bela Tothら (1962)¹²⁾のAKR系マウスにおけるDimethylbenzanthraceneの投与実験、O' Garaら (1962)¹³⁾のNIH系マウスに対する、3-Methylcholanthreneの投与実験等、多くの研究がなされ上記の事実

が次々と追試実験された。

マウス白血病の発生に胸腺が重要な役割をはたすことは、既に Furth ら (1944)¹⁵⁾ による AKR 系マウスの悪性リンパ腫に関する実験以来注目されていたが、その後 Kaplan (1947)¹⁶⁾、Law ら (1950)¹⁷⁾¹⁸⁾ の研究、Dunn (1961)¹⁹⁾ のウイルスにより惹起される悪性リンパ腫の発生に関する研究等により一段と明瞭になって来た。又新生児マウスにおける胸腺の組織学的変化については、AKR 系マウスにおいて一側性に生じた悪性変化が対側に拡大して悪性リンパ腫を生じて来ると言う Siegler (1963)²⁰⁾ の詳細な報告がなされ、白血病の発生における胸腺の重要性が注目されるようになった。

私はこの様な観点から、白血病嫌疑系 RF マウスを用いて、新生児期に、各種濃度の BP を 1 回背部皮下注射することにより、白血病の誘発実験を試み、その発生機序を、血液学的並びに組織学的に詳細に検討したところ、胸腺腫型リンパ性白血病の高率の発生、白血病発生率と dose response、胸腺を中心とした白血病の進展様式等に関し興味ある知見を得、更に BP 誘発白血病組織中にウイルス粒子を電顕的に証明するという新知見を得たのでここに報告する。

II. 実験方法

実験動物：本実験に使用したマウスは、Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory (Bar Harbor, Maine, U. S. A.) 由来の RF 系純系マウスで、1958 年以来当教室にて兄妹交配により繁殖飼育したもので、白血病の自然発生はほとんど認められないいわゆる白血病嫌疑系マウスである。マウスは全て 24~25℃ 前後の恒温マウス室にて、オリエンタル固形飼料及び水を自由に与えて飼育した。又新生児マウスに関しては、生後 12~24 時間のものを使用し、下記種々の実験を施行した後数時間親と分離し、その後再び

親と共に飼育し、生後 1 ヶ月で親より分離し雌雄別々に飼育した。

使用した発癌物質とその投与方法：発癌剤として図 1 に示すような構造を持つ BP の 1, 0.5, 0.25, 0.1% のオリーブ溶液 0.1cc 即ち 1000 γ , 500 γ , 250 γ , 100 γ を上記 RF 新生児マウス背部皮下に注射し、注射後より死亡するまでの期間観察を行い白血病発生率を比較した。又 BP 1000 γ 投与群においては、注射後 1, 1.5, 2, 2.5, 3 ヶ月にてマウスを屠殺し、白血病発生過程の経時的組織学的検索を行なった。

末梢血液検査法：Melangeur, Sahli 氏血色素計, Bürger-Türk 氏計算盤は日本血液学会検定のものを使用し、末梢血液塗沫標本は May-Giemsa 氏染色を行なった。検血方法は尾部をアルコールで消毒し、尾静脈より採血した。

胸腺、リンパ腺、脾、骨髓の検査法：屠殺又は死後可及的速やかに各臓器を摘出し、スタンプ標本作製し、これに May-Giemsa 染色をほどこして顕鏡した。

組織検査法：死後各臓器をすみやかに摘出し、10% Formalin 溶液にて固定し、ついで切片標本作成し、Haematoxylin-eosin 染色を行い顕鏡した。

臨床組織培養法：教室考案の平木式臨床組織培養法²¹⁾により、培養盤 NO1 を用いて無菌的に取り出した胸腺、リンパ腺、脾各組織の培養を行ない、その増生帯を経時的に観察した。

細胞移植：発生した腫瘍を屠殺後すみやかに無菌的に摘出し、シャーレ内にて細切して、10% Ringer 浮遊液とし、これを同系又は他系の生後 1 ヶ月の成熟マウス背部皮下又は腹腔内に接種した。

電顕的検索：電顕的観察には BP 誘発白血病マウスの腫大したリンパ腺、脾、胸腺を用い、白血病マウスを屠殺し、上記臓器を摘出し可及的速やかに細切し、Palade の方法に準じてオスミウム酸固定し、アルコール脱水後エボンに包埋し、超薄切片作成後、鉛染色により電子染色を行ない、電子顕微鏡 JEM 7 型にて観察した。

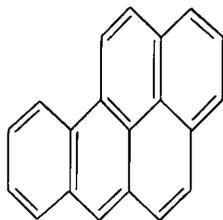
III. 実験成績

1. 白血病の発生率

1) BP 1000 γ 1 回背部皮下注射による白血病の発生率

BP 1000 γ 1 回背部皮下注射による白血病発生率の経時的推移を屠殺例および白血病による腫瘍死例

図 1 3, 4-Benzpyrene 構造式



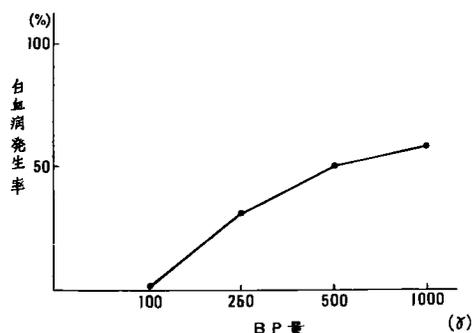
表I 3,4-BP 1000 γ 投与による
経時的白血病発生率

マウス匹数 BP 投与 与后月数	実験マウス	白血病マウス	白血病発生率 (%)
1.0	6 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 3}$	0	0
1.5	8 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 5}$	1 < $\frac{\delta 0}{\text{♀} 1}$	13
2.0	10 < $\frac{\delta 5}{\text{♀} 5}$	7 < $\frac{\delta 4}{\text{♀} 3}$	70
2.5	13 < $\frac{\delta 8}{\text{♀} 5}$	10 < $\frac{\delta 7}{\text{♀} 3}$	77
3.0	9 < $\frac{\delta 4}{\text{♀} 5}$	8 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 5}$	89

表II 3,4-BP 1000 γ , 500 γ , 250 γ , 100 γ
投与による白血病の発生率

マウス匹数 BP 量 (γ)	実験マウス	白血病マウス	白血病発生率 (%)	生存期間 (日)
1000	46 < $\frac{\delta 23}{\text{♀} 23}$	26 < $\frac{\delta 14}{\text{♀} 12}$	57	59~95
500	12 < $\frac{\delta 7}{\text{♀} 5}$	6 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 3}$	50	72~142
250	10 < $\frac{\delta 5}{\text{♀} 5}$	3 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 1}$	30	95~123
100	10 < $\frac{\delta 5}{\text{♀} 5}$	0	0	200以上

図2 BP 各 Dosis による白血病発生率



を含めて表したものが表Iである。即ち、1.5ヶ月後では実験マウス8例中1例、13%、2ヶ月後では10例中7例、70%、2.5ヶ月後では13例中10例、77%、3ヶ月後では9例中8例、89%に白血病の発生を認めた。この白血病は全てリンパ性白血病であり、注射後2ヶ月の雌1例に発生したいわゆる非胸腺腫型白血病を除いては全て胸腺腫型リンパ性白血病であ

った(写真1, 2)。又上記実験マウス中自然死のみの生存期間は、注射後59~95日であった。生存期間及び白血病発生率の雌雄差は認めなかった。対照としてRF新生児無処置マウス雄20例、雌20例について、同様の経時的観察を行なったが、1例の白血病の発生も認めなかった。

II) BP 500 γ , 250 γ , 100 γ の1回背部皮下注射による白血病発生率(図2)

BP 各種濃度と白血病発生率との関係は表IIの如くである。即ち、500 γ 注射の場合は、12例中6例50%、250 γ では、10例中3例30%にリンパ性白血病が発生したが、100 γ では10例中1例も白血病の発生はみられなかった。本実験では、すべての処置マウスを屠殺せず自然死するまで観察したところ、500 γ では白血病マウスの生存日数は72~142日、白血病の発生がみられなかったBP注射マウスでは184~226日、250 γ では白血病マウスは95~123日、白血病の発生のみられなかったマウスでは124~325日、100 γ では白血病発生マウスは1例もなく全例が200日以上生存日数を示した。この様に白血病マウスの生存日数はBPの量が減少するに比例して長くなり、白血病の発生率もBPの投与量に比例して低い。即ち、BP投与量と白血病の発生率との間に正の相関関係を認めた。又1000 γ 注射の場合の白血病の初発例よりも、注射するBP量が少い程白血病発生までの期間が延長する傾向にあった。白血病の発生率及び生存期間の雌雄差はなかった。又BP誘発白血病の細胞移植を、皮下および腹腔内注射により試みたが何れも移植可能であった。

2. 末梢血液像の推移(表III~表V)

I) 赤血球数と色素量(図3)

BP投与により白血病を発生した群、BPを投与したが白血病とならなかった群、無処置群の3群に分けて、生後、1、1.5、2、2.5、3ヶ月の赤血球数と色素量を経時的に比較検討した。その結果、赤血球数は、無処置群では、834~1055万の間に分布し、白血病を発生しなかったBP処置群でも略同様の範囲にあったが、白血病発生マウスでは、注射後2ヶ月頃より貧血が認められ、赤血球数は、対照正常マウスよりも1000 γ 投与群では160~490万、500 γ 投与群では130~290万、250 γ 投与群では55~57万の低値を示した。BP100 γ 投与群では白血病の発生をみず、従って赤血球数も無処置群との間に有意差を認めなかった。色素量は赤血球数と略比例して変動した。

表III 正常 RF 系マウス末梢血液像

生后月数		1.0		1.5		2.0		2.5		3.0		3.5	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
末梢血液像													
赤血球数 ($\times 10^4$)		834	851	954	931	970	967	1055	990	1002	973	1035	1042
血色素量 (Hb%)		75	82	84	90	81	87	110	100	97	90	105	98
白血球数		17700	16500	14600	15800	19000	17750	11870	12000	20120	16000	18700	14500
白血球分類 (%)	桿状核球	2	2	3	3	4	4	4	4	4	5	5	5
	分節核球	23	26	25	19	26	24	26	31	34	32	23	25
	大リンパ球	7	4	5	7	5	5	5	6	6	7	7	7
	小リンパ球	67	62	64	70	62	63	60	59	50	53	64	61
	好酸球	1	2	0	1	1	2	1	0	2	2	0	0
	好塩基球	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	単球	0	4	3	0	2	2	4	0	4	1	1	2

表IV BP 1000 γ 投与群白血病マウスの末梢血液像

生后月数		1.5		2.0		2.5		3.0	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
末梢血液像									
赤血球数 ($\times 10^4$)		—	910	827	809	630	701	507	580
血色素量 (Hb%)		—	80	73	83	76	82	82	78
白血球数		—	18870	24300	19800	37750	38900	45100	39400
白血球分類 (%)	桿状核球	—	8	6	4	2	5	6	5
	分節核球	—	17	21	19	18	11	10	13
	リンパ芽球	—	24	28	19	43	48	52	45
	未熟リンパ球	—	13	10	23	9	12	6	10
	大リンパ球	—	15	9	13	12	13	9	12
	小リンパ球	—	18	21	17	12	10	15	12
	好酸球	—	2	1	1	0	0	2	0
	好塩基球	—	0	0	0	0	0	0	0
単球	—	3	4	4	4	1	0	3	

表V BP 500 γ 投与群白血病マウスの末梢血液像

生后月数		2.0		2.5		3.0		3.5	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
末梢血液像									
赤血球数 ($\times 10^4$)		850	837	905	850	712	796	765	760
血色素量 (Hb%)		74	85	80	79	84	80	76	74
白血球数		26250	23500	35500	30700	38400	36500	31200	35000
白血球分類 (%)	桿状核球	5	6	3	5	8	4	4	3
	分節核球	18	20	20	14	11	19	10	14
	リンパ芽球	24	28	39	43	38	40	46	53
	未熟リンパ球	16	16	10	12	16	13	8	3
	大リンパ球	7	6	5	5	7	3	11	11
	小リンパ球	24	21	19	20	18	21	16	10
	好酸球	1	1	2	0	1	0	2	2
	好塩基球	0	0	0	0	0	0	0	0
単球	5	2	2	1	1	0	3	4	

図3 BP 1000 γ 投与白血病マウス末梢血液像の経時的変化

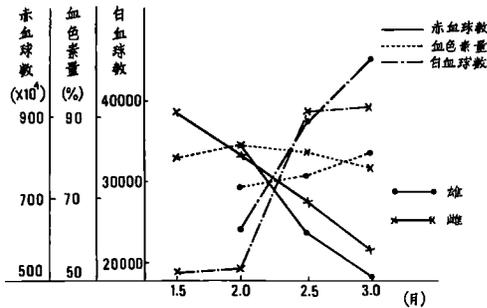
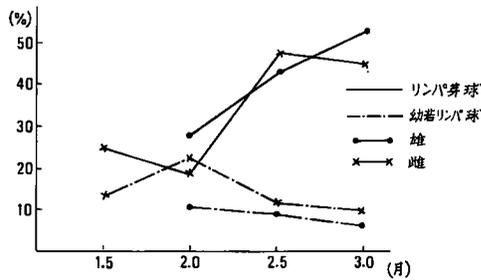


図4 BP 1000 γ 投与白血病マウスのリンパ芽球幼若リンパ球の経時的変化



II) 白血球数 (図3)

白血球数は無処置対照群マウスでは、生後1ヶ月では、16000~17000、その後やや増加、生後2.5ヶ月頃よりやや減少の傾向がみられたが、その後は略一定し、16000~20000の間に分布した。白血病を発生したマウスでは、BP注射後2ヶ月頃から白血球数の増加の傾向を示し、1000 γ 投与群では2.5~3ヶ月で、対照マウスよりも2000~25000多く、著しい例では、白血球数が89200~147000に達するものもみられた。500 γ および250 γ 投与群でも、対照群に比し、7000~18000前後の白血球数の増加を認めたが、1000 γ 投与群に比し、白血球増加の時期は平均0.5ヶ月遅れ、その程度も稍軽い傾向があった。100 γ 投与群では対照群との間に有意差を認めなかった。

III) 白血球分類

対照正常マウスおよび白血病発生マウスの白血球分類の経時的変化は表III~表V、図4に示す如くで

ある。即ち、BP注射後1.5ヶ月頃から末梢血中にリンパ芽球、幼若リンパ球の出現をみとめるようになり、注射後2~2.5ヶ月頃より急速にその数が増加する傾向がみられた。白血病発症マウスの中には89%にもおよぶリンパ芽球および幼若リンパ球の出現を認めるものもあった。

3. 剖検所検

I) 各臓器の肉眼的所見 (写真1, 2)

a) 胸腺: BPの各濃度別に、胸腺腫大を、軽度、中等度、著明の三段階に分けて経時的に観察した所見を一括すると表VIの如くである。白血病の初発時

表VI BP投与後の胸腺の肉眼的所見変動

BP量 (γ)	投与后月数	胸腺腫大の強さ					
		軽度		中等度		著明	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
1000	1.0	3	2				
	1.5	1	3				1
	2.0			2	1	2	1
	2.5			3	1	4	2
	3.0				2	3	3
500	2.5					1	1
	3.0				1		
	3.5					2	1
250	3.0					1	1
	4.0					1	

表VII BP投与後の脾臓の肉眼的所見変動

BP量 (γ)	投与后月数	脾臓腫大の強さ					
		軽度		中等度		著明	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
1000	1.0	2	2				
	1.5		1		1		
	2.0	1			1	2	2
	2.5	1	3	2		4	2
	3.0			2	3	1	1
500	2.5					1	1
	3.0						1
	3.5			1			1
	4.0					1	
250	3.0					1	1
	4.0					1	

期は、1000 γ では59日、500 γ では73日、250 γ では95日で、投与量が減少するにつれ、白血病発生までの潜伏期間の延長が認められた。

b) 脾臓：脾臓大の経時的変化は表VIIの如く、胸腺腫大の場合と類似し、その程度は一般に軽いが、組織学的には軽度腫大例でも白血病性変化を示す場合が多い。

c) 肝臓：肝臓大の経時的変化は表VIIIの如くである。白血病マウスの肝表面は一般に貧血様で、表面は稍顆粒状で平滑性を失い、灰白色～茶褐色の斑紋様構造が認められ、出血斑も数例に認めた。

d) リンパ腺：白血病マウスのリンパ腺腫大は著明な例が多く、殊に頸部、腋窩部、そけい部、腸間膜、後腹膜リンパ腺にその傾向がみられた。リンパ腺腫大の程度を、米粒大より小豆大までを軽度、小豆大より大豆大までを中等度、大豆大より小指頭大

表VIII BP 投与後の肝臓の肉眼的所見変動

BP量 (γ)	投与後 月数	肝臓腫大の強さ					
		軽 度		中 等 度		著 明	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
1000	1.5				1		
	2.0		1	1	1		
	2.5	3	1	2	1		
	3.0	1	1	1			
500	2.5	1					
	3.0			1			
250	4.0		1				

表IX BP 投与後のリンパ腺の肉眼的所見変動

BP量 (γ)	投与後 月数	リンパ腺腫大の強さ					
		軽 度		中 等 度		著 明	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
1000	1.5		1				
	2.0	2	1(1)	1	2	(2)	(1)
	2.5	1(1)	2(2)	3			
	3.0	[1]		1(1)	2(1)	1(1)	
500	2.5			1			
	3.5			1(1)	1(1)	1(1)	
	4.0			1	1		(1)
250	4.0			1(1)			

() 内は腸間膜リンパ腺腫大例
[] 内は後腹膜リンパ腺腫大例

またはそれ以上を著明と分類すると表IXの如くである。腸間膜リンパ腺腫大例の中には、血性腹水を認めるものが多かった。

以上記載の様な剖検所見の他、肉眼的所見としては、胸腔内に血性滲出液の認められたものが、1000 γ 投与群では、雄5例、雌5例、500 γ 投与群では、雄2例、雌1例、250 γ 投与群では、雌1例に認められ、胸腺の著明腫大例ではその浸潤が縦隔より肺に到るものが多数みられた。

II) 体重及び各臓器重量の経時的変動(表X)同

表X BP 投与後の体重及び各臓器重量の経時的変動

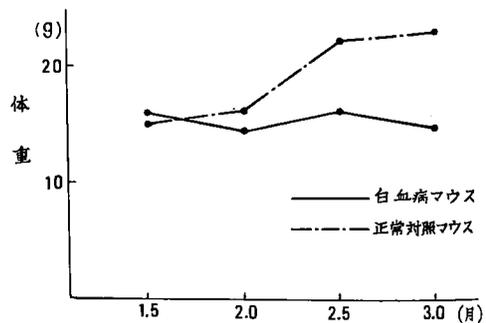
BP 投与 後月数 臓 器 名	1.5		2.0		2.5		3.0	
	白血 病対 照マ ウス							
体重(g)	17	15	14	17	17	23	14	24
胸腺(mg)	128	50	313	48	337	38	345	52
脾臓(mg)	200	95	220	93	322	118	286	128
肝臓(mg)	1400	1376	1572	1456	1598	1209	1700	1219

月令の無処置対照マウス群、BP 投与後白血病とならなかった群、BP 投与後白血病を発生した群の3群に分けて、体重および胸腺、脾、肝の重量を経時的に測定した。

a) 胸腺(図6)：対照正常マウスとBP 処置白血病非発症群との間には胸腺重量は有意差はみられず、これに比し白血病マウスでは、BP 注射後1.5ヶ月で128mg、2ヶ月後で313mg、2.5ヶ月後で337mg、3ヶ月後で345mgと著明に増加した。

b) 脾臓(図7)：胸腺腫型白血病マウスではBP 注射後1.5ヶ月で250mg、2ヶ月で223mg、2.5ヶ月で

図5 BP 投与後の体重の経時的変化



322mg, 3ヶ月で286mgと中等度腫大を示し, 1000γ注射群に発生した1例の非胸腺腫型白血病マウスの脾重量は, 378mgと著明に腫大した.

c) 肝臓(図8): 白血病マウスでは, BP投与後2ヶ月~3ヶ月の間で対照群に比し約300mgの増加を認めたが, 胸腺, 脾臓にくらべ増加の程度は軽

度であった.

d) 体重(図5): 対照マウスと非白血病マウスとの間には体重においても著明な差はなかったが, 白血病発症マウスでは白血病の進展につれて, るいそうが著明となった.

4. 白血病マウス各臓器の組織学的変化

白血病マウスにおける各臓器の組織学的変化はBP投与量によって差はみられなかったのでBP 1000γ投与群の変化を中心に述べる.

I) 各臓器の組織学的所見

a) 胸腺(写真4~8): BP注射後約1ヶ月~1.5ヶ月までは胸腺は萎縮像を示し, 殊に皮質の萎縮像が著明で, 皮質より小型リンパ球がほとんど消失し, 髓質内でのリンパ球増生が高まり, 髓質内にリンパ母細胞増生巣の出現が始まって来る. 1.5ヶ月~2ヶ月後には他の臓器に先行して, 胸腺皮質より円型で大型の核を持つ幼若中リンパ球を思わせる細胞が次第に増殖し始めて来る. この時期では髓質のろ胞構造は略正常に近い構造を示している. BP注射後2ヶ月頃より(写真5)上記リンパ芽球様細胞は, 皮質のみならず次第に髓質にも浸潤し始め, 皮質髓質の境界が次第に不明瞭になって来る. しかしこの時期でも大部分のBP注射マウス(約40%)で, 髓質のろ胞構造は保存されている. 注射後2.5~3ヶ月頃になると(写真6, 7, 8)髓質の構造も次第にくずれ, ろ胞様構造もその原形をとどめず, 核は大小の異型性に富み, 車軸状又は網目状を呈し, 胞体の明るい大型の細胞によって胸腺全体が置き換えられる. 又この頃より分裂像も多く認められ, 次第に結合織性中隔も破壊され, 更に結節状の塊を形成するものもあった. この様な変化は実験マウスの89%に認められ, 組織学的に胸腺腫型リンパ性白血病の病像が完成される(写真7, 8). 以上の結果より, BP注射マウスでは, まず他の臓器に先行して胸腺, 特にその皮質より白血病性変化を来とし, 次第にその範囲が拡大し, 髓質におよび, 胸腺全体に白血病性変化が波及するものと考えられる. BP 500γ投与群では約60~65日, 250γ投与群では80~90日に白血病性変化が認められ始める. 又100γ投与群では白血病は1例も発生せず組織学的にも対照正常マウスとほとんど差異は認めなかった.

b) 脾臓(写真9~12): BP注射後1ヶ月前後までは, ほとんど対照マウスと同じであるが, 注射後1.5ヶ月頃より髓質リンパ母細胞の腫大拡張を認め, 特に白色髓の部分の腫大が著明で, この部分にリン

図6 BP投与後の胸腺重量の経時的変化

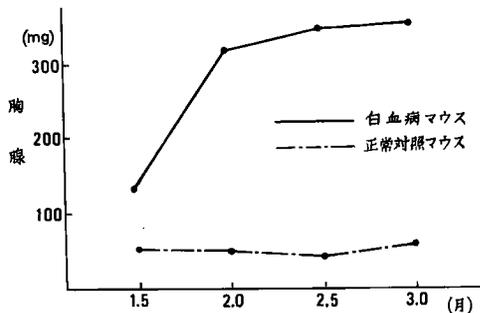


図7 BP投与後の脾臓重量の経時的変化

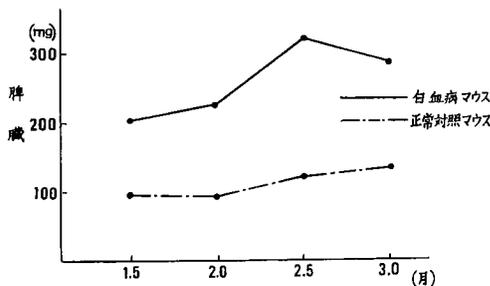
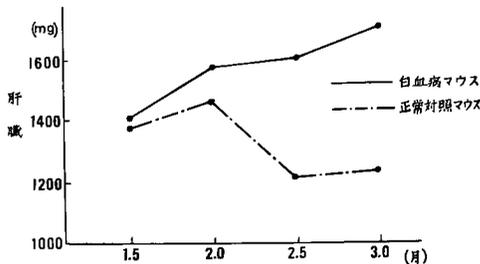


図8 BP投与後の肝臓重量の経時的変化



芽球～幼若リンパ球の出現を認める様になる。この傾向は注射後50日前後より次第に顕著となり(写真9)、周囲の赤色髄を圧迫する様な形態となる。注射後2ヶ月を過ぎる頃より、リンパ芽球様細胞は赤色髄にも浸潤し、いわゆる脾索の部分では、脾内に本来存在する細網細胞や単球、組織球等の細胞が上記リンパ芽球様細胞と一緒に、混然一体となった像が認められる様になる。この頃になると血管周囲にも次第に上記細胞の浸潤が著明となって来るが、未だ脾本来の組織像は保存されている。更に進んで注射後2.5ヶ月になると(写真10)、赤色髄の細胞が次第にリンパ芽球様細胞に置き換えられ、その間に細網細胞が網状に突起を出してつながっている。こうして脾本来の構造が次第にくずれ、注射後2.5～3ヶ月になると(写真11, 12)脾全体が上記リンパ芽球様細胞でしめられて来る。更にこの浸潤は脾髄のみにとどまらず、皮膜下から脾梁、血管周囲にまで及ぶ。又脾梁自体の構造がくずれ、小節の区分が判然としなくなり、定型的なリンパ性白血病の様相を呈する。又2.5ヶ月頃より脾洞内にうっ血像が著明となり、赤血球が多数つまった像を呈している。BP注射マウス中、1例の非胸腺腫型リンパ性白血病マウスの脾では、これらの変化が胸腺腫型白血病マウスに較べて、更に顕著であった。

c) リンパ腺(写真13, 14)：リンパ腺は、胸腺と同様、他の臓器に比し著明な変化が現われる。即ちBP注射後1ヶ月を過ぎる頃より、リンパ球及び細網細胞の増殖を皮質小節を中心に認める様になり、1.5ヶ月を過ぎる頃よりこの増殖は皮質より髓質に及んで来る。この時期に大リンパ球及び一部リンパ芽球の出現を認めるが、リンパ腺本来の構造は保たれている。2ヶ月頃より次第に上記所見は著明となり、リンパ腺の構造がくずれ始め、リンパ芽球様大型細胞が小リンパ球、大リンパ球にとって代り、細網細胞も次第に消失してゆく。この浸潤はリンパ洞にもおよび、次第に皮質髓質の区別が判然としなくなる。2.5～3ヶ月後には完全にリンパ腺構造は破壊される。この様な経時的変化は、頸部リンパ腺、腋窩部、そけい部、腸間腹、後腹膜各リンパ腺ではほぼ同様であるが、特に頸部の胸腺周囲のリンパ腺に早期に現われる傾向があった。

d) 肝臓(写真15)：肝臓(写真16)：上述の如き、胸腺、リンパ腺、脾の白血病性変化に平行して肝、肺においても浸潤像がみとめられた。即ち、肝ではグリソン氏鞘の小葉間動静脈周囲、細胆管周囲、

中心静脈周囲、類洞内等に白血病細胞の浸潤がみられ、肝小葉、肝細胞の萎縮像が認められた。肺では主として、細気管支周囲、血管周囲、肺胞壁に白血病細胞の浸潤があり、著明なうっ血像が認められた。

II) 白血病マウスの胸腺、脾、リンパ腺のスタンプ標本の特徴

a) 胸腺(写真17)：細胞の形態を経時的にスタンプ標本を作成して観察した。注射後1ヶ月では対照正常マウス胸腺のスタンプ標本と同様で、細胞の種類もその比率も変化を認めなかったが、1.5ヶ月頃になると約78%が大～中リンパ球、約19%が小リンパ球で、リンパ芽球～幼若リンパ球が2～3%に認められた。この時期に屠殺した胸腺腫型リンパ性白血病マウスにおいては、この割合はかなりくずれ、白血病細胞様の幼若リンパ球～リンパ芽球が44～48%をしめていた。この幼若細胞は白血病マウスでは注射後2～2.5ヶ月では24～36%、3ヶ月後では56～72%で残りの細胞も大リンパ～異型リンパ球に属するものがその大半をしめた。これら細胞の形態の特徴は、まず大型で胞体は他の細胞に比較し濃染し、ヘマトキシリンエオジン染色で青色が強く、その核周辺又は核の陥没部位に一致して胞体より更に濃染する糸粒体を数ヶ認めた。又核は異型性に富み、円形～随円形～腎形等種々の様相を呈しその内部は他の細胞よりやや粗で空胞を有するものもあり、ヘマトキシリンエオジン染色で赤色に染まった部分は車軸状～網目状の像を呈している。この中に更に濃染した3～5ヶ程度の核小体を認めた。

b) 脾臓(写真18)：注射後1～1.5ヶ月までは対照正常マウスとほとんど出現した細胞の種類及びその比率に差がなく、2ヶ月に入ってから白血病死したマウスでは、胸腺で認められたと同様の細胞(幼若リンパ球～リンパ芽球)が出現した。その比率は12～14%で胸腺の場合ほど著明でなく、その他は中～小リンパ球、細網細胞、組織球、単球等でしめられていた。2.5～3ヶ月後になると幼若細胞のしめる比率が高まり、23～46%に増加した。この細胞は形態的には胸腺の場合と全く同様である。

c) リンパ腺(写真19)：胸腺、脾の変化に類似するが一般に脾臓より変化が著しい。

5. 平木式臨床組織培養法による造血臓器の培養所見(写真20, 21)

白血病組織の場合は、境界明瞭な特徴ある増生帯を示し、白血病の診断に極めて有力であることが知られている臨床組織培養法により1000γ接種マウス

の胸腺、脾臓、リンパ腺の組織培養を行なった。注射後1, 1.5, 2, 2.5, 3ヶ月のBP注射群について雌雄3例づつ培養を試みた。注射後1ヶ月までは対照群と同様に原組織を中心にびまん性に周囲に細胞が増生してゆく像が認められた。その細胞の種類は、大リンパ球、小リンパ球、細網細胞、単球等であった。1.5ヶ月前後より胸腺を初発としていわゆる辺縁鋭利な増生帯を有する急性白血病のパターンを呈するようになる。即ち胸腺では培養後5~6時間で増生帯は非常に密でその辺縁は鋭利な白血病パターンを示し、その構成細胞はほとんどがリンパ芽球-大リンパ球でしめられていた。培養後12時間では更に増生帯の細胞密度が増加していた。脾臓でも培養後6時間で胸腺とほぼ同様の増生帯を示したが、その辺縁は胸腺の場合よりややびまん性で、増生帯形成時期も2~2.5ヶ月頃の処置マウスから多く認められた。増生帯細胞の種類はやはり幼若リンパ球がその大半をしめたが、原組織周辺に細網細胞、単球等が少数認められた。リンパ腺もほぼ同様の培養所見で、時期は脾臓よりやや早く注射後2ヶ月前後であった。この様な結果より胸腺に最も早く典型的な白血病増生帯が出現し、次いでリンパ腺、脾臓の順位となった。この増生帯の細胞を位相差顕微鏡で観察するとその大部分がリンパ芽球、幼若リンパ球を主体とする白血病細胞でしめられている(写真22, 23, 24)。核は円形、腎形、不正形と種々の形態をとり、核膜は厚く部分的に肥厚傾向を示し、切れ込みを所々に持つ分葉型を示す。核小体が1~3ヶ認められ、原形質は明るく均質透明であるが、その辺縁部は不明瞭で比較的薄く、周囲に細い突起を出すものが多く認められ、胞体内に核周囲又は核の分葉部分に種々の形をした糸粒体が数ヶ認められた。

6. Fibrosarcoma の発生及び移植

上述の如きBP投与マウスにおける高率の白血病発生の他に、BP投与マウスではfibrosarcomaの発生もかなりの頻度にみられたので、以下これについて述べる(写真25)。

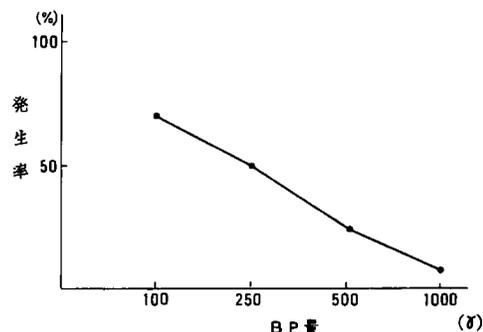
I) 各種濃度のBP注射マウスにおけるfibrosarcomaの発生率(表XI)(図9)

1000 γ 、500 γ 、250 γ 、100 γ のBPを新生児マウスに注射したところ、一部のマウスに注射部位或はその近辺に腫瘍の発生を認めた。この腫瘍は、組織学的に全てfibrosarcomaであった(写真26)。BP濃度と腫瘍発生の状況は、1000 γ では46例中雌2例、雄1例、7%、500 γ では12例中雌1例、雄2例、25

表XI BP 1000 γ 、500 γ 、250 γ 、100 γ 投与によるFibrosarcomaの発生

マウス BP 匹数 重(γ)	実験マウス	Fibrosarcoma 発生マウス	Fibrosarcoma 発生率(%)
1000	46 < $\frac{\delta 23}{\text{♀} 23}$	3 < $\frac{\delta 1}{\text{♀} 2}$	7
500	12 < $\frac{\delta 7}{\text{♀} 5}$	3 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 1}$	25
250	10 < $\frac{\delta 5}{\text{♀} 5}$	5 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 2}$	50
100	10 < $\frac{\delta 5}{\text{♀} 5}$	7 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 4}$	70

図9 BP投与量とFibrosarcomaの発生率との関係



%、250 γ では10例中雌2例、雄3例、50%、100 γ では10例中雌4例、雄3例、70%であった。この様にBPの投与量が減少するにつれて、腫瘍の発生率が高まっている。この腫瘍の大きさは、死亡時小指頭大より小鶏卵大まで種々あり、重量も5~12gを呈した。又白血病マウスと腫瘍発生マウスとの関係は、1000 γ 屠殺の雌雄各1例を除いては、腫瘍と白血病が同一個体に発生していない。又腫瘍発生は注射後63~188日目に認めており、生存日数は屠殺例を除くと107~226日と長期にわたっている。

II) fibrosarcoma 移植実験

BP注射によって発生したfibrosarcomaを生後1ヶ月のRF系マウスの背部皮下及び腹腔内に移植し、継代移植率、腫瘍発生日数等について検索した。8代まで継代移植を試みたがその成績は表XIIの如くで、継代移植が可能であった。背部皮下移植の場合、移植後腫瘍発生までの期間は、早いもので7日、遅いもので55日で、移植から腫瘍死するまでの期間は31日~81日であった。継代中に白血病を併発するマ

表XII Fibrosarcoma 移植率 (RF系マウス背部皮下)

Fibrosarcoma 移植継代年代	移 植 マ ウ ス 匹 数	Fibrosarcoma 発生マウス	Fibrosarcoma 発生率 (%)	Fibrosarcoma 発生までの期間 (日)
I	4 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 2}$	2 < $\frac{\delta 0}{\text{♀} 2}$	50	18
II	4 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 2}$	3 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 1}$	75	7~10
III	5 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 3}$	4 < $\frac{\delta 1}{\text{♀} 3}$	80	8~9
IV	5 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 3}$	5 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 3}$	100	7~55
V	8 < $\frac{\delta 5}{\text{♀} 3}$	7 < $\frac{\delta 5}{\text{♀} 2}$	88	9~30
VI	5 < $\frac{\delta 4}{\text{♀} 1}$	5 < $\frac{\delta 4}{\text{♀} 1}$	100	7~40
VII	4 < $\frac{\delta 2}{\text{♀} 2}$	3 < $\frac{\delta 1}{\text{♀} 2}$	75	12~14
VIII	6 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 3}$	5 < $\frac{\delta 3}{\text{♀} 2}$	83	11~16

ウスは1例も認めなかった。1代より8代までの腫瘍は組織学的に初代のものと変わらず、全て fibrosarcoma の像を示した。腹腔内移植の場合も、腫瘍発生までの期間は21~31日で、腫瘍死するまでの期間は28~49日であり移植マウスのほとんどに血性腹水及び腹腔内リンパ腺の腫脹を認めた。腹腔内移植の場合、背部皮下移植の場合より生存期間は短縮していたが腫瘍発生率は略同様であった。更に、上記背部皮下継代移植3代の腫瘍を、他系統成熟マウスに細胞移植を試みたが、その成績はRF系マウスの場合と略同様であった(写真27)。以上の様に、背部移植、腹腔内移植、他系統移植等について、腫瘍の組織学的変化を追跡したが組織学的には略同じ fibrosarcoma の像を示した。又この種々移植中にリンパ腺、脾臓、胸腺に変化を来したものを数例認めしたが、白血病様変化のあるものは1例もなく、腫瘍と同様の sarcom 様の変化が認められたに過ぎなかった。

7. BP 誘発白血病マウスリンパ腺におけるウイルス粒子の電顕的証明(写真28, 29)。

BP 1000 γ 投与群5例, 500 γ 投与群3例の胸腺, 脾臓, リンパ腺について電顕的検索を行なった結果, 1000 γ 投与群の1例の腸間膜リンパ腺より, その細胞間隙に既知の白血病ウイルス類似のC型粒子を証明した。この粒子の形態は, 直径約90m μ で中心部に直径約60m μ 程度の核様体を有し, 外膜は一層で所々に細胞膜面より隆起したいわゆる budding 像もみられた(写真30)

IV. 考 按

炭化水素の1つであるBPに発癌性のあることは Shear ら(1940)²²⁾の, 皮膚癌の発生に関する報告以来, Morton²³⁾ Charles²⁴⁾ Berenblum²⁵⁾ その他極めて多数にのぼっている。著者の今回行なった研究は, この発癌性化学物質BPを白血病嫌疑系RF新生児マウスに1回背部皮下注射し, 高率にリンパ性白血病の発生を認め, 経時的且詳細に血液学的並びに組織学的検索を行なったものである。以下2~3の興味ある点に問題をしばって若干の考察を加えてみたい。

1. 新生児マウスへの発癌性化学物質の投与による白血病の発生と末梢血液像の変動について

従来, 発癌性化学物質による白血病の誘発に関する実験は主として成熟マウスを用いて行なわれていたが, Pietra ら(1959)¹¹⁾は, Swiss マウスを用いて, DMBA を新生児及び成熟マウスに投与することにより, 新生児投与群は成熟マウス群に比し極めて高率の白血病が発生することを認め, その後, 多くの同様の実験成績から新生児マウスは成熟マウスに比し発癌性化学物質に対する感受性の強いことが一般に認められるようになった。即ち先人の主な研究成績を要約すると, Swiss マウスでは, 新生児期に DMBA 30mg 1回背部皮下注射により, 25例中8例32%の胸腺腫大を伴うリンパ性白血病の発生がみられ, 潜伏期間は11~24週であったのに対し, 同量のDMBAを成熟マウスに注射した場合の白血病発生率は3%

で、その潜伏期は42週であった。AKR マウスでは100mgのDMBAを新生児に注射することにより、無処置群では悪性リンパ腫の発生を1例もみなかった21週以前に、45%の高率に悪性リンパ腫の発生を認めている¹⁹⁾ CBA系、101系マウスでは、DMBA 30mg 1回注射により、夫々15.4%、20%のリンパ性白血病の発生を認め、潜伏期間は夫々26週、16週であった¹⁹⁾ 新生児 Swiss マウスへの Urethane 50mgの1回注射による実験では、21.6%の悪性リンパ腫の発生を認め、すべて胸腺腫大を伴っていた²⁰⁾ 以上の如く、新生児マウスが発癌性化学物質に対して、成熟マウスより感受性が高いこと、マウスの系統により感受性に差のあることがみとめられている。又、組織学的検索については、早期に発生したものの多くは、未分化の stem cell type を示し、成熟マウスになって発生したものは、lymphocytic 乃至 histiocytic type であると言われている¹⁹⁾ 血液学的検索については詳細な報告はなく、Donati²⁰⁾ は Urethane を新生児 Swiss マウスに注射した場合に発生したリンパ性白血病マウスの数例において、幼若リンパ球の著明な増加が認められ、あるものでは、白血球数が30万に達したものがあったと述べているにすぎない。

著者のBPによるRF系新生児マウス投与実験では、その白血病発生率は1000 γ 投与で3ヶ月間で89%の高率であり(表I)(図2)、雌雄間に有意の差は認められず、すべてリンパ性白血病で、1例を除きすべて胸腺の著明な腫大を伴うものであった(写真1)。末梢血液像では、特にリンパ球系に種々の変化が認められた(表IV、V)(図3、4)。赤血球数ではBP 1000 γ 注射後2~2.5ヶ月頃より貧血を認め、507万~630万を示した。色素量も同時期より正常対照マウスより22~34%低下し、白血球数は注射後2ヶ月頃より増加の傾向を示し、平均約18000~45000程度で月数が進むにつれて、多少の増加を認めたが、ほとんどが5万以下であった。しかし数例のマウスでは89200~147000等の高度増加を認めた。白血球分類では、2ヶ月頃より変化を認め、殊にリンパ芽球、幼若リンパ球の変動が著明であった。即ちBP投与後1.5ヶ月で発生したリンパ性白血病の1例では、リンパ芽球、幼若リンパ球合せて37%と高値を示し、その後も2ヶ月で40%、2.5ヶ月後で55%、3ヶ月後で56%となっており、著明な例ではBP投与後2.5ヶ月に認められた1例の様に89%とそのほとんどがリンパ芽球、幼若リンパ球でしめられている

ものもあった。

2. 発癌性化学物質による白血病性変化の初発部位とその進展について

マウスのリンパ性白血病の発生に胸腺が重要な役割を演じているという報告はかなり多い。即ち、胸腺摘出による自然発生白血病およびMC誘発白血病発生率の低下^{27) 28) 29)} 白血病好発系マウスにおける胸腺の萎縮とそれに続発する自然発生白血病との密接な関係³⁰⁾ 嫌発系マウスにおけるX線誘発白血病マウスの白血病発生前にみられる胸腺の萎縮等^{30) 31) 32)} は何れも白血病の発生における胸腺の重要性を示唆する成績としてあげることが出来る。

Sieger & Rich^{20) 47)} は胸腺リンパ腫の発生について、組織学的に詳細な検討を加え、マウスの胸腺は左左両葉からなるが、AKR マウスにおいては、多くの場合、白血病性変化は左右何れかの一葉の皮質リンパ組織に初発し、皮質リンパ球の著明な減少、続いて同部に起るリンパ球系細胞の異常増殖が始まり、遂に腫瘍細胞が胸腺の一葉全体を占めるようになり、更に縦隔リンパ腺および周囲組織へと浸潤し、遂に対側にも白血病性変化が波及していく。又、Siegler, Geldner & Rich らは³⁴⁾ BALB/C マウスに、白血病ウイルスである Rich ウイルスを接種して発生する胸腺リンパ腫についても、AKR マウスの場合と略同様の進展様式がみられたと報告している。これらの成績は、いずれも成熟マウスについてのものであるが、新生児マウスについても Rappaport および Baroni³⁵⁾ の研究がある。即ち、新生児 Swiss マウス背部皮下にDMBA 100mgを1回注射した場合に発生する悪性リンパ腫について、胸腺の早期変化を検索した結果、やはり、早期における胸腺の皮質細胞の著明な減少、それに続いて起る活発な再生現象、幼若細胞の出現がみられ、遂に肉眼的にも、組織学的にも完成された悪性リンパ腫の像を呈するに到るという。

著者の実験では、RF系新生児マウスに微量のBP投与によって、胸腺腫型リンパ性白血病の高率の発生をみとめ、その発生過程を経時的に検索した(表VI)、(図6)、(写真4~8)。更に白血病性変化の早期診断に極めて有用である平木式臨床組織培養法により白血病の進展様式を検討するとともに、胸腺腫の細胞の種類及び増生帯形成様式を検討した。注射後1.5ヶ月頃までは、増生帯形成細胞は大小リンパ球、細網細胞、単球と種々でその増生帯辺縁もびまん性で正常対照マウスと大差がなかったが、注射後

1.5~2ヶ月頃から辺縁鋭利な増生帯を有するいわゆる急性白血病パターンを示した(写真20).又増生帯の細胞の種類もほとんどがリンパ芽球, 幼若リンパ球, 大リンパ球であった(写真22).又これらの細胞の出現率についての胸腺スタンプ標本による経時的検索成績, 胸腺の肉眼的変化及び組織学的変化は, 実験成績の項で述べた如くであり, ほぼ注射後1.5~2ヶ月頃から変化が始まり, 3ヶ月後に白血病像が完成している. この白血病変化は, その他の臓器即ち脾臓, 肝臓, 肺, 末梢リンパ腺等にもかなりの割合で認められたが, その発現時期は胸腺に比較してかなり遅く, 脾臓及びリンパ腺では2ヶ月を過ぎる頃(表VII, IX), (図7), (写真9~14), 又肝や肺では2.5~3ヶ月に出現している(表VIII) (図8), (写真15, 16). 又BP投与マウスにおいて, 上記各臓器とも胸腺の場合ほど白血病変化を来す率が高率でなかった.

以上の様な結果からRF系新生児マウスにBPを注射した場合, この化学物質が最初に作用する器官が胸腺であり, 特にその皮質部分に白血病性変化が初発し, 続いて諸臓器に広がってゆくものと推論される.

3. 発癌性化学物質による白血病以外の腫瘍の発生について

発癌性化学物質のマウスの皮膚への塗布或いは皮下注射により, 皮膚癌や肉腫の発生することはよく知られた事実であるが, 本実験においても, 各種濃度のBPの注射によって注射部位又はその周辺に多数の皮下腫瘍の発生を認めた(写真25).これは前述した如く組織学的にはfibrosarcomaで(写真26), その発生率とBP投与量との間に一つの特徴が認められた. 即ち, 1000 γ では4例, 7%, 500 γ で3例, 25%, 250 γ で5例, 50%, 100 γ で7例, 70%に認めており(表XI), (図9), BP投与量が低下するにつれてこの腫瘍の発生率が高くなっている. 腫瘍発生時期は注射後ほぼ63~188日で, 腫瘍死したものの生存日数は, 107~226日である. この発生率及び生存期間から判断して, 高濃度のBPを投与したRF新生児マウスではこの腫瘍発生以前に白血病死し, 一方低濃度投与群になるにつれて白血病死するマウスが減じ, 腫瘍形成が表面化して腫瘍死するマウスが増加して来るものと考えられる. これら腫瘍発生マウスの中で同時にリンパ性白血病を発生した例は1000 γ 注射マウスの2例のみであった. かかる現象はToth³⁶⁾のDMBAをSwissマウスに投与した場

合にも認められている. しかしDMBAの場合は, その量が増加するにつれて, 皮下肉腫の発生率も増加するし, 新生児マウスの場合よりも生後2週, 4週のマウスの方が発生率が高いと報告している. 著者は⁴⁰⁾20-Methylcholanthreneの1000 γ , 500 γ , 250 γ , 100 γ , 5 γ をRF新生児マウスの背部皮下に1回投与した実験でも, 白血病の発生率, 皮下肉腫の発生率及びこの両者の関係について, BPの場合と全く同様の結果を得ている. O'Gara及びVollyらは⁴¹⁾皮下腫瘍発生の最小量について検討を行なっている. NIH新生児マウスに3-Methylcholanthrene及びDibenzanthraceneを各々8段階に分けて投与した場合, 前者の最小量は0.41mgであり, 後者の最小量は0.028~0.0031mgであった. この様な微量で55週(最短では10週)に多数のfibrosarcomaの発生を認めている. 実験成績の項で述べた様に, BPによって発生したfibrosarcomaの同系統成熟マウスへの継代移植実験を行なった結果, 8代まで成功し各世代の腫瘍発生率, 腫瘍発生までの期間及び腫瘍死するまでの期間を比較したがいずれも余り変化がなく(表XII)又他系統成熟マウスへの移植も可能で, 組織学的にいずれもfibrosarcomaの像を示し(写真27). その他の腫瘍の発生及びリンパ性白血病の発生は認められなかった.

4. 発癌性化学物質による白血病の発生におけるウイルスの役割について

Gross (1951)³⁷⁾がAK系マウスの無細胞濾液の新生児マウス接種に成功し, 更にGrossウイルスを分離して以来³⁸⁾マウス白血病がウイルスによって惹起されるという考えが一般に認められている. その後Graffi (1957)らは³⁹⁾40) Sarcoma 37, Ehrlich癌より分離したウイルスが骨髄性白血病を起すと報告し, 同じくSchwarz (1955)⁴¹⁾はAKR系マウスの白血病脳組織からリンパ性白血病を惹起するウイルスを分離している. 又Friend (1957)⁴²⁾はEhrlich癌の無細胞濾液をSwiss新生児マウスに接種することにより, その脾臓からFriendウイルスの分離に成功した. 又Moloney (1960)⁴³⁾はSarcoma 37より, リンパ性白血病を惹起するウイルスを分離している. このように現在知られている代表的な白血病ウイルスとしてGross, Graffi, Friend, Moloney, Rauscherウイルス等がある. 平木, 入野ら (1963)⁴⁴⁾45)はMethylcholanthreneの塗布によって惹起したRF系マウス白血病の無細胞濾液を, 同系新生児マウスに接種してリンパ性白血病の発生

を認め、且つリンパ腺より電顕的にC型ウイルスを証明し、発癌性化学物質による白血病の発生は、それによるウイルスの活性化によるものであろうと言ういわゆるウイルスの活性化説を提唱している。

著者は本実験において、BP誘発RF系マウス腸間膜リンパ腺より、既知の白血病ウイルスと形態的に全く類似のいわゆるC型粒子を細胞間隙に認め(写真28, 29)。細胞膜よりの budding 像も観察し得た(写真30)。このC型ウイルス粒子の leukemogenicity については、無細胞液体接種実験を行っていないので不明であるが、ともあれ、上述の平木らの説を支持するものとして極めて重要な所見と言えよう。

V. 結 語

発癌性化学物質BPをRF系新生児マウスに1回注射した場合の白血病発生機序を経時的に、血液学的ならびに組織学的に検索した。BP注射により高率に白血病が発生し、すべてリンパ性で、1例の非胸腺腫型を除き、他はすべて胸腺腫型リンパ性白血病であった。又BPの投与量と白血病発生率との間

に正の相関関係が証明された。白血病の発生は、BP投与後1.5ヶ月頃から始まり、胸腺皮質に初発し、つづいて全身諸臓器に浸潤し、約3ヶ月で白血病死することが明らかとなった。BP注射マウスでは、白血病の他、fibrosarcomaの発生もみられた。これらBP誘発白血病およびfibrosarcomaは何れも細胞移植が可能であった。更にBP投与マウスの腸間膜リンパ腺より、多数のC型ウイルス粒子を証明した。

以上の様な実験成績より、新生児マウスが成熟マウスに比較し化学物質BPに対し非常に感受性が高いこと、胸腺がリンパ性白血病発生 target organとしての役割を果していること、BP投与が provirus を活性化し白血病を惹起させることが推論された。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師平木潔教授、入野昭三講師に深謝いたします。尚本論文要旨は第24回日本癌学会総会(昭和40年10月)、第28回日本血液学会総会(昭和41年4月)において発表した。

参 考 文 献

- 1) Lignac, G.O.E.: Blastomartige Erkrankung der weissen Maus durch chronische Benzolvergiftung und ihre Bezielung zur Leukämie. Krankheitsforschung, **6**, 97-130, 1928.
- 2) Furth, J. and Furth, O.B.: Monocytic leukemia and other neoplastic diseases occurring in mice following intrasplenic injection of 1, 2-benzopyrene. Am. J. cancer., **34**, 169-183, 1938.
- 3) Kirschbaum, A., Strong, L.C. and Gardnen, W.U.: Influence of methylcholanthrene on age incidence of leukemia in several strains of mice. Proc. Soc. Exp. Biol of Med, **45**, 287-289, 1940.
- 4) Toth, B. Bella, Rorta, G. and Shubik, K.P.; The occurrence of malignant lymphomas in urethane-treated swiss mice. Brit. J. Cancer., **15**, 322-326, 1961.
- 5) 平木潔, 入野昭三, 瀬崎達雄, 須崎正則: 20-Methylcholanthrene により惹起せしめたRF系マウス白血病の無細胞液体移植に関する研究. 日血会誌, **25**, 822-830, 1962.
- 6) 入野昭三, 瀬崎達雄, 宗田範: 20-Methylcholanthrene 塗布によるRF系マウス白血病に関する研究. 日血会誌, **25**, 38, 1962.
- 7) 平木潔, 入野昭三, 太田善介, 浅野健夫, 品川晃二, 瀬崎達雄, 三好勇夫: 発癌性化学物質による白血病の発生について. 総合臨床, **12**, 1757-1765, 1963.
- 8) Midler, G.B., and Morton, J.J.: The effect of methylcholanthrene on the latent period of lymphomatosis in dilute brown mice. Am. J. Cancer, **37**, 355-363, 1939.
- 9) Moton, J.J., and Midler, G.B.: The production of lymphomatosis in mice of known genetic constitution. Science, **87**, 327-328, 1942.

- 10) Pietra, G, Spemar, K., and Shubik, K.P.: Response of newly born mice to a chemical carcinogen. *Nature (Lond)*, **183**, 1689, 1959.
- 11) Pietra, G, Rappaport, H. and Shubik, P.: The effects of carcinogenic chemicals in new born mice. *Cancer*, **14**, 308—317, 1960.
- 12) Roe, F.J.C., Rowson, K.E.K. and Solamen, M.H.: Tumors of many sites induced by injection of chemical carcinogens into new born mice, a sensitive test for carcinogenesis: the implication for certain immunological theories. *Brit. J. Cancer*, **15**, 515—530, 1961.
- 13) Toth, B., Roppaport, H., and Shubik, P.: Accelerated development of malignant lymphomas in AKR mice injected at birth with 7, 12-dimethylbenzanthracene. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **110**, 881—884, 1962.
- 14) Roger, W. O'Gara, Margaret, G. Velly, and N. Hantel: Induction of fibrosarcomas in mice given a minute quantity of 3-methylcholanthrene or dibenzanthracene as new borns. *Nature*, **196**, 1220—1221, 1962.
- 15) McEndy, D.P., Boon, M.D., and Furth, J.: On the role of thymus, spleen, and gonads in the development of leukemia in high-leukemia stock of mice. *Cancer Res.*, **4**, 377—383, 1944.
- 16) Kaplan, H.S.: Observation on radiation induced lymphoid tumors of mice. *Cancer Res.*, **7**, 141—147, 1947.
- 17) Kaplan, H.S.: Influence of thymectomy, splenectomy, and gonadectomy on incidence of radiation-induced lymphoid tumors in strain C57 Bl mice. *J.Nat. Cancer. Inst.*, **11**, 83—90, 1950.
- 18) Law, L.W., and Miller, J.H.: The influence of thymectomy on the incidence of carcinogen induced leukemia in strain DBA mice. *J.Nat. Cancer. Inst.*, **11**, 425—438, 1950.
- 19) Dunn, T.B., Moloney, J.B., Green, A.W. and Arnold, B.: Pathogenesis of a virus-induced leukemia in mice. *J.Nat. Cancer. Inst.*, **26**, 189—222, 1961.
- 20) R. Siegler and M.A. Rich: Unilateral histogenesis of AKR thymic lymphoma. *Cancer. Res.*, **23**, 1669—1678, 1963.
- 21) Hiraki, K.: Studies on diagnosis of leukemia by tissue culture. *Acta. Med. Okayama*, **12**, 84—91, 1958.
- 22) Cabot, S., Shear, N., and Shear, M.J.: Studies in carcinogenesis, XI. Development of skin tumors in mice painted with 3, 4-benzpyrene and creosote oil fraction. *Amer. J.Path.*, **16**, 301—312, 1940.
- 23) Morton, J.J. Ethel, M.Luce-Clasuen, Earle B. Mahoney,: Visible light and skin tumors induced with benzpyrene in mice. *Cancer Research*, **2**, 256—259, 1942.
- 24) Donald, R. Charles., and Ethel. M.Luce-claven: The kinetics of papilloma formation in benzpyrene-treated mice. *Cancer Res.* **1**, 261—263, 1941.
- 25) Berenblum, I.: The mechanism of carcinogenesis, A study of the significance of co-carcinogenic action and related phenomena. *Cancer Res.*, **1**, 807—814, 1941.
- 26) L.F. Donati, L.C. Bianchi, G de Benedictis, and G. Maiorans: Leukemogenesis by urethane in new born swiss mice. *Nature (Lond)*, **190**, 278—279, 1961.
- 27) Furth, J.: Prolongation of life with prevention of leukemia by thymectomy in mice. *J. Geront.*, **1**, 46—52, 1946.
- 28) Law, L.W., and Miller, J.H.: Observations on the effect of thymectomy on spontaneous leukemias in mice of the high-leukemic strains, RIL and C58. *J.Nat. Cancer. Inst.*, **11**, 253—262, 1950.
- 29) Law, L.W., and Miller, J.H.: The influence of thymectomy on the incidence of carcinogen-induced leukemia in strain dba mice. *J.Nat. Cancer. Inst.*, **11**, 425—437, 1960.

- 30) Kaplan, H. S., Brown, M. B and Paull, J.: Influence of postirradiation thymectomy and of thymic implants on lymphoid tumor incidence in C₅₇ Bl mice. *Cancer Res.*, **13**, 677—680, 1953.
- 31) Kaplan, H. S., Brown, M. B and Paull, J.: Influence of bone marrow injections on involution and neoplasia of mouse thymus after systemic irradiation. *J. Nat. Cancer. Inst.*, **14**, 303—316, 1953.
- 32) Kaplan, H. S.: On the etiology and pathogenesis of the leukemias. *Cancer Res*, **14**, 535—548, 1954.
- 33) Arnesan, K.: Preleukemic and early leukemic changes in the thymus of mice. *Acta. Pathal. Microbial. Scandinav.*, **43**, 350—364, 1958.
- 34) Siegler, R. J. Geldner, and M. A. Rich.: Histogenesis of thymic lymphoma induced by a murine leukemic virus. *Cancer Res.*, **24**, 444—450, 1964.
- 35) Rappaport, H. and Broni, C.: A study of pathogenesis of malignant lymphoma induced the swiss mouse by dimethylbenzanthracene injected at birth. *Cancer Res.*, **22**, 1067—1074, 1962.
- 36) Toth, B., Rappaport, H., and Shubik, P.: Influence of dose and age on the induction of malignant lymphomas and other tumors by 7, 12-dimethylbenzanthracene in swiss mice, *J. Nat. Cancer. Inst.*, **30**, 723—737, 1963.
- 37) Gross, L.: "Spontaneous" leukemia developing in C₃H mice following inoculation, infancy, with AK-leukemic extracts or AK embryo. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **76**, 27—32, 1951.
- 38) Gross, L.: Viral etiology of "Spontaneous" mouse leukemia. *Cancer Res*, **18**, 371—380, 1958.
- 39) Graffi, A.: Chloroleukemia in mice. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, **68**, 540, 1957.
- 40) Graffi, A.: Experimentelle Untersuchungen zur Ätiologie leukämien. *Zeitschrift für die Gesamte Innere Medizin und Ihre Grenzgebiete*, **13**, 961, 1958.
- 41) Schwartz, S. O., Schoolman, H. M., Szanto, p. b.: The enhancement of the development of AKR lymphoma by cell free filtrates of brain. *J. Lab. and cl. Med.*, **46**, 949, 1955.
- 42) Friend, C.: Cell free transmission in swiss mice of a disease having the character of a leukemia. *J. Exper. Med.*, **105**, 307—318, 1957.
- 43) Moloney, J. B.: Biological studies on a lymphoid leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. *J. Nat. Cancer. Inst.*, **24**, 933—951, 1960.
- 44) 平木潔, 入野昭三, 太田善介, 瀬崎達雄: 20-Methylcholanthrene 誘発 RF 系ハツカネズミ白血病におけるウイルスの電子顕微鏡による証明とその無細胞 体液移植実験. *医学と生物学*, **66**, 191—198, 1963.
- 45) Irino, S., Ota, Z., Sezaki, T., Suzuki, M. and Hiraki, K.: Cell free transmission of 20-Methylcholanthrene induced RF mouse leukemia a electron microscopic demonstration of virus particles in its leukemic tissue. *Gann*, **54**, 225—237, 1963.
- 46) 入野昭三, 三好勇夫, 国定岑生, 永森佛一郎: 発癌性化学物質の新生児ハツカネズミ 1 回注射による白血病の誘発 1 20-Methylcholanthrene による各種ハツカネズミ白血病の誘発と dose response. *医学と生物学*, **71**, 309—314, 1965.
- 47) Siegler, R. and Rich, M. A.: Unilateral thymic lymphoma in AK mice. *Trans. N. Y. Acad. Sci.*, **25**, 590—597, 1963.

**Studies on the leukemogenesis by injection of a carcinogenic
chemical substance in newborn mice**

Teiichiro NAGAMORI

Department of Internal Medicine
Okayama University Medical School
(Director: Professor Kiyoshi HIRAKI)

In order to study the leukemogenesis by a carcinogen chemical substance in newborn mice, various doses of benzpyrene (BP) were administered by a single subcutaneous injection into newborn RF mice, and hematological and histological analyses were made periodically after the injection. Leukemia was induced in a high percentage of treated mice. They are all lymphocytic leukemia of thymic type, except one case of non-thymic type. A parallel correlation was observed between the doses of the carcinogen administered and the incidence of leukemia. The leukemic change occurred first in the cortical area of the thymus 1.5 months after BP injection, followed by the leukemic infiltration in various other organs and leukemic death in three months. Fibrosarcoma was also observed in the treated mice. Leukemia and fibrosarcoma were both transplantable with cell. Numerous C-type virus particles with budding were demonstrated by electron microscopy in the lymph nodes of BP-induced leukemic mice.

From these findings, the author concludes that 1) the newborn mice are more susceptible than adult mice to the chemical carcinogen BP, 2) the thymus is the target organ and it plays an important role in the development of leukemia by BP, and 3) BP may induce leukemia by activating the provirus.

写真説明

- 写真 1: 3, 4-ベンツピレン誘発 RF 系リンパ性白血病マウスの剖検像 (胸腺腫型)
写真 2: ベンツピレン誘発 RF 系リンパ性白血病マウスの剖検像 (非胸腺腫型)
写真 3: ベンツピレン1000 γ 投与により惹起せしめたリンパ性白血病の末梢血液像
写真 4: ベンツピレン1000 γ 投与後1.5ヶ月の胸腺組織像 ($\times 100$)
写真 5: 同上2ヶ月の胸腺組織像 ($\times 100$)
写真 6: 同上2.5ヶ月の胸腺組織像 ($\times 100$)
写真 7: 同上3ヶ月の胸腺組織像 ($\times 100$)
写真 8: 写真7の $\times 400$ 像
写真 9: ベンツピレン1000 γ 投与後2ヶ月の脾臓組織像 ($\times 100$)
写真10: 同上2.5ヶ月の脾臓組織像 ($\times 100$)
写真11: 同上3ヶ月の脾臓組織像 ($\times 100$)
写真12: 写真11の $\times 400$ 像
写真13: ベンツピレン1000 γ 投与後3ヶ月のリンパ腺組織像 (100)
写真14: 同上 $\times 400$ 像
写真15: ベンツピレン1000 γ 投与後3ヶ月の肝臓組織像 ($\times 100$)
写真16: ベンツピレン1000 γ 投与後3ヶ月の肺臓組織像 ($\times 100$)
写真17: ベンツピレン1000 γ 投与による誘発リンパ性白血病マウスの胸腺スタンプ標本
写真18: 同上脾臓スタンプ標本
写真19: 同上リンパ腺スタンプ標本
写真20: ベンツピレン誘発白血病マウスの胸腺臨床組織培養像—辺縁鋭利な一重増生帯像
写真21: 同上脾臓臨床組織培養像
写真22: 胸腺臨床組織培養増生帯中のリンパ芽球一位相差顕微鏡による
写真23: 同上脾臓組織培養増生帯中のリンパ芽球~未熟リンパ球
写真24: 同上リンパ腺組織培養増生帯中のリンパ芽球~未熟リンパ球
写真25: ベンツピレン投与部位に発生した背部腫瘍 (Fibrosarcoma)
写真26: 同上組織像
写真27: 同上腫瘍を GPC 系成熟マウスに細胞移植し発生した腫瘍の組織像
写真28 } ベンツピレン1000 γ 投与により発生したリンパ性白血病マウスの腸
写真29 } 間膜リンパ腺の細胞間隙に証明された C 型ウイルス粒子 ($\times 52000$)
写真30: C型ウイルス粒子の budding 像

永森佛一郎論文附圖

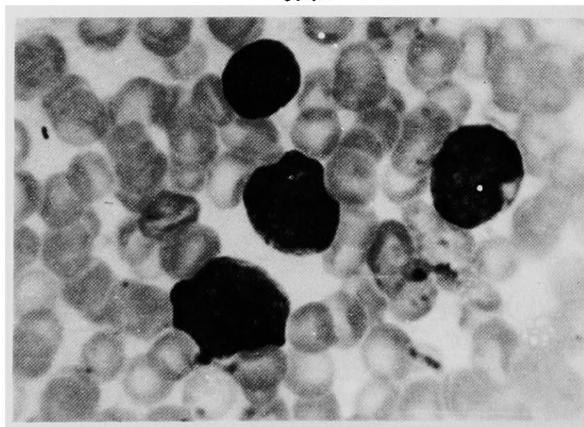
写真1



写真2



写真3



永森佛一郎論文附図

写真4

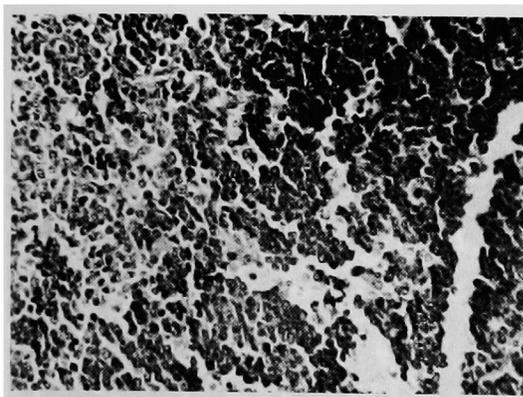


写真5

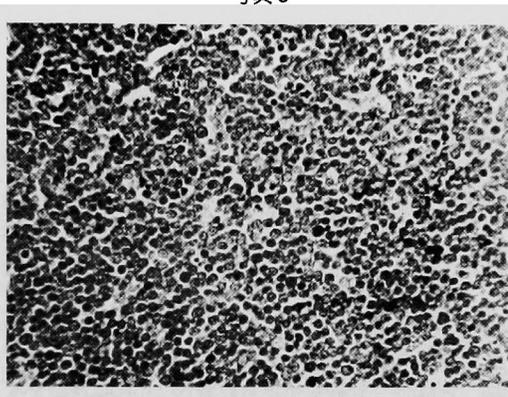


写真6

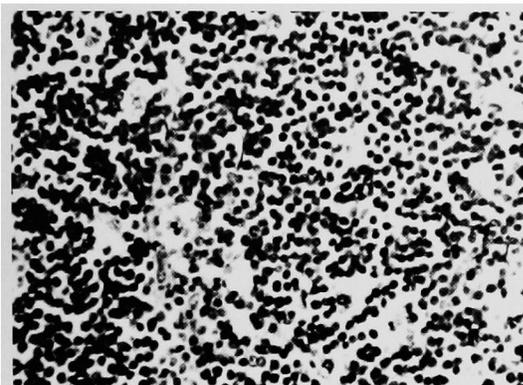


写真7

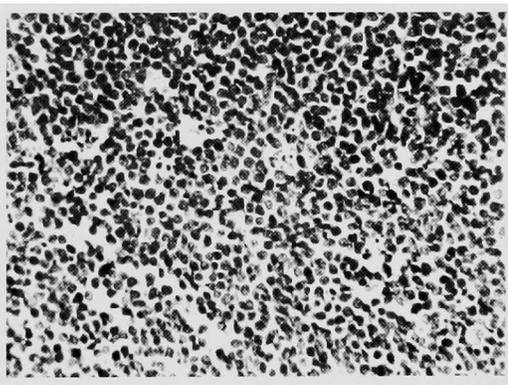
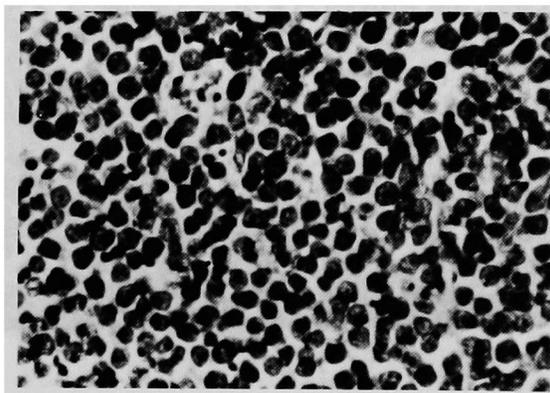


写真8



永森佛一郎論文附図

写真9

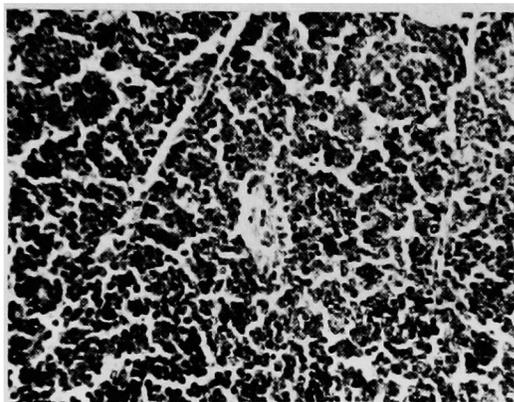


写真10

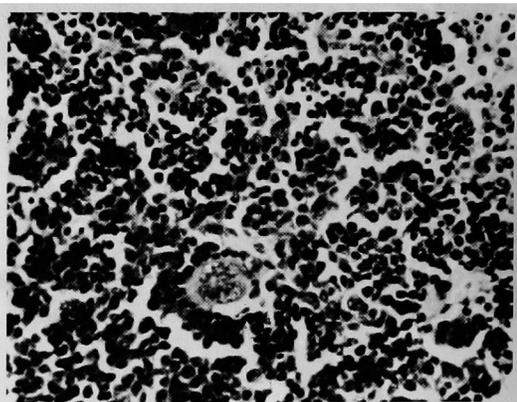


写真11

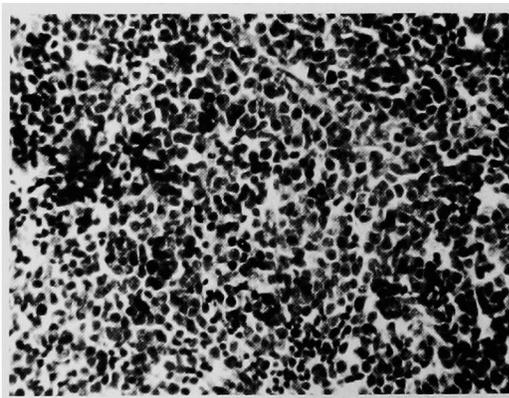
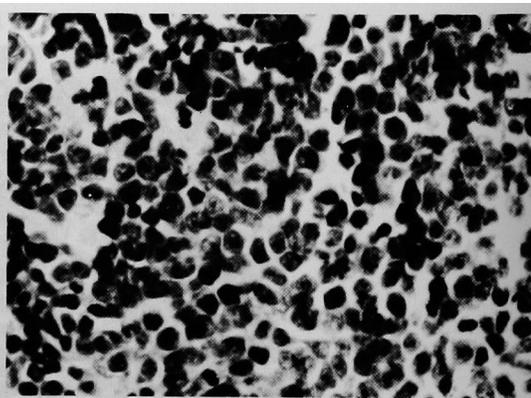


写真12



永森佛一郎論文附図

写真13

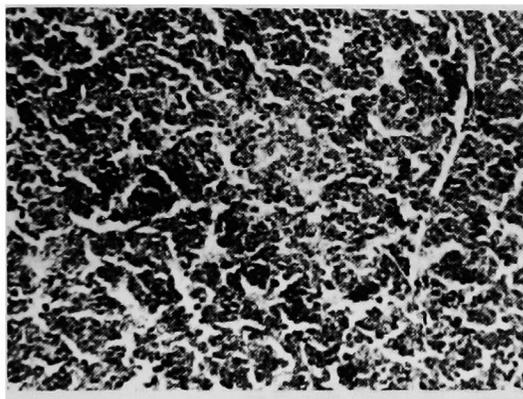


写真14

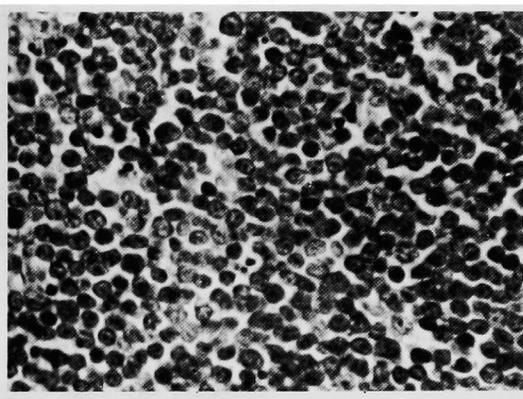


写真15

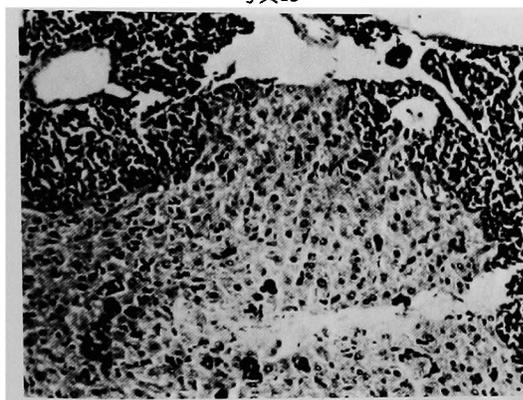
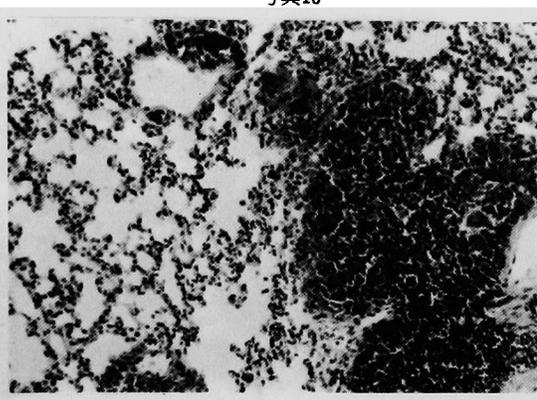


写真16



永森佛一郎論文附図

写真17



写真18

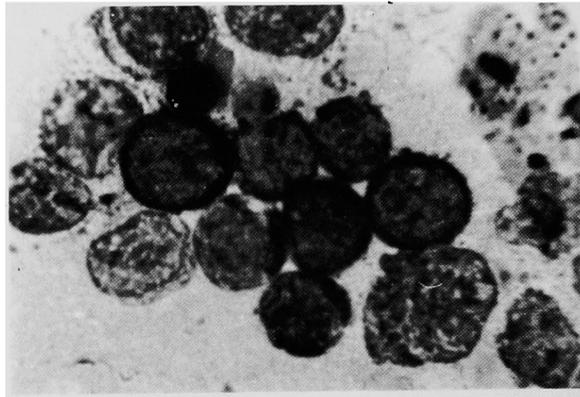
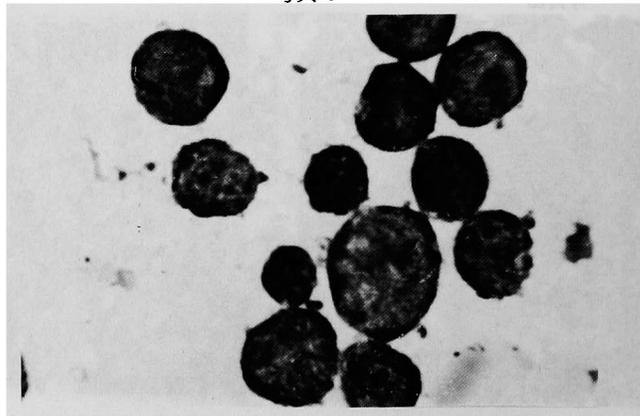


写真19



永森佛一郎論文附図

写真20

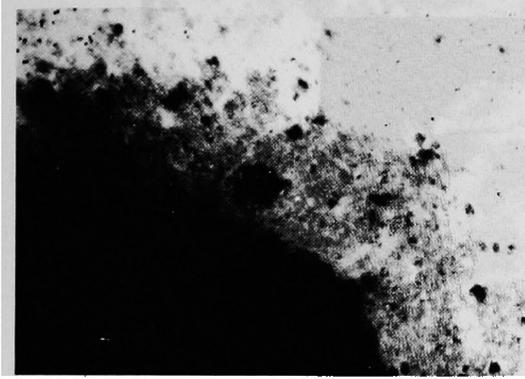


写真21



写真22

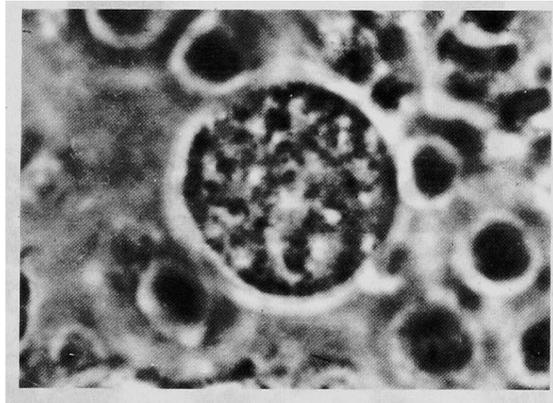


写真23

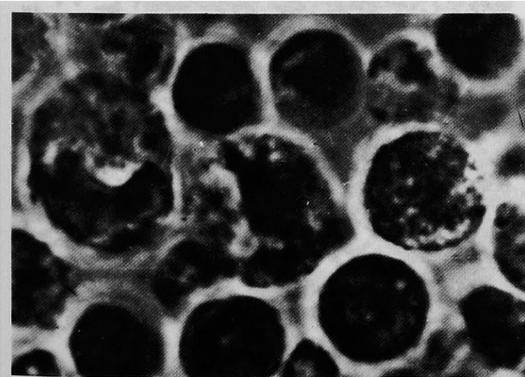
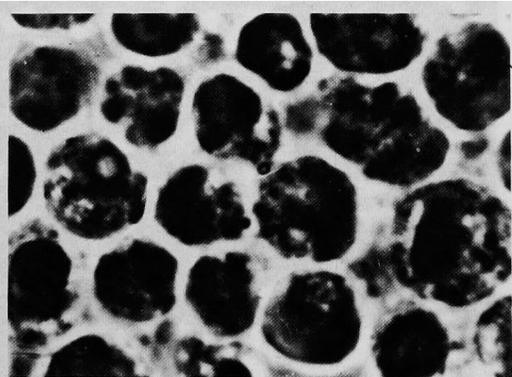


写真24



永森侑一郎論文附図

写真25



写真26

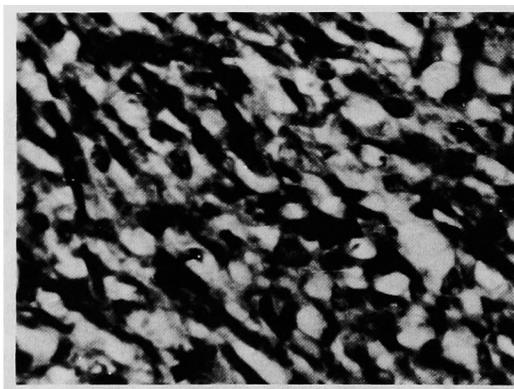
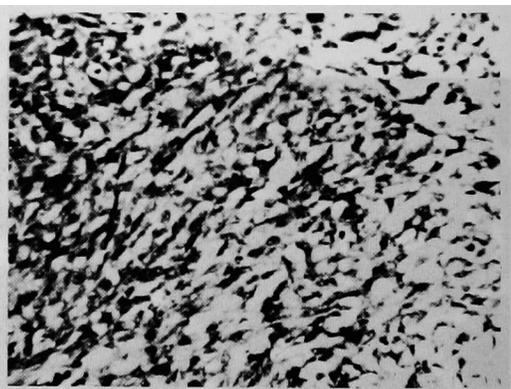


写真27



永森侑一郎論文附図

写真28

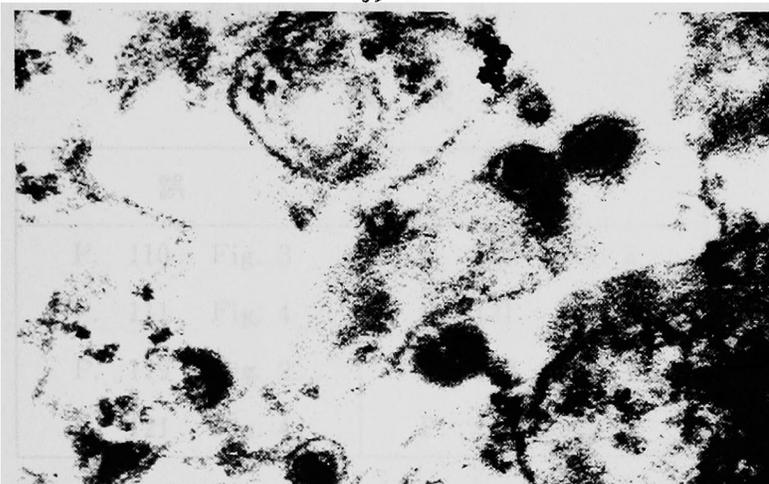


写真29

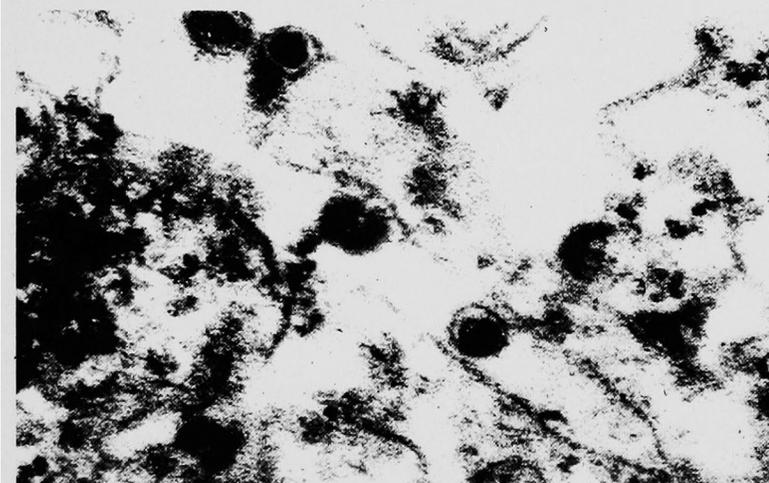


写真30

