

異種ならびに腫瘍細胞のリンパ節内接種に関する研究

第 3 編

Brown-Pearce 癌細胞のウサギ膝窩リンパ節の輸入リンパ管内注入と輸出リンパ管内注入の場合における癌のひろがりの比較

岡山大学医学部第一解剖学教室 (指導: 尾曾越文亮教授)

専攻生 浅野 一 幸

〔昭和44年12月25日受稿〕

緒 言

本研究の第2編¹⁾で、著者は、ウサギの精巣に植え継いだ Brown-Pearce 癌細胞を懸濁液として、ウサギの膝窩リンパ節内に輸入リンパ節を介して注入すると、リンパ節内で癌細胞が急速に増殖し、早ければ数日、遅くとも2週間以内にリンパ節全域が癌組織で置換されることを報告した。そのような研究の次の段階として、本研究では、癌細胞をウサギの膝窩リンパ節の輸入リンパ管内に注入した場合、膝窩リンパ節の輸出リンパ管内に注入した場合における癌の拡がりかたの相違を調べた。輸入リンパ管内に注入すると、癌細胞の大部分は膝窩リンパ節に抑留されて、リンパ節を癌化することは上に述べた通りであるが輸出リンパ節内に注入した場合には、癌細胞はリンパ流によつて骨盤腔内に運ばれて腸骨リンパ節に達し、それを癌化する。したがつて、後者の場合には最初に癌化するリンパ節が骨盤腔内にあるために、そこから癌が腹腔内に拡がり易く、それ故、後者の場合には、癌によるウサギの死亡率が前者の場合より高く、生存日数はより短いことが予想された。

実験材料及方法

1. 実験動物

本研究の第1, 第2編におけると同様に、市販の成熟ウサギ(体重2~3kg)を用いた。あらかじめ教室の標準食で1週間以上飼育し、下痢や体重の著減のおこらぬことを確かめた。

2. 接種した腫瘍細胞

接種した腫瘍細胞はウサギに移植可能な, Brown-Pearce 癌細胞で、精巣に1週間毎に植え継いでも

のである。膝窩リンパ節の輸入リンパ管内に注入する癌細胞生理的食塩水懸濁液の製法は、本研究の第2編で述べた通りで、 1mm^3 あたり1万~3万個の有核細胞(そのうち80%以上が癌細胞)を含む。

3. 腫瘍細胞の膝窩リンパ節輸入リンパ管内注入法

第1群のウサギ(10羽)では、上記の癌細胞生理的食塩水懸濁液の0.2mlをウサギの膝窩リンパ節の輸入リンパ管内に注入した。その操作は本研究の第2編で述べた通りである。また、感染予防のためにウサギの体重1kgあたり20mgの複合ストレプトマイシンを腎筋内に注射したことも同様である。

4. 腫瘍細胞の膝窩リンパ節輸出リンパ管内注入法

第2群のウサギ(10羽)では、上述の癌細胞懸濁液0.2mlを膝窩リンパ節の輸出リンパ管内に注入した。輸出リンパ管への注入法は次の如くである。ウサギを Nembutal で麻酔後、足脛皮下に Evans blue 液(0.1%生理的食塩水溶液)を少量注射してから、膝窩部の皮膚を消毒して縦に切開し、膝窩リンパ節を露出する。そうするとリンパ節から出る1本のかかなり太い輸出リンパ管が現われる。足を握つて軽くもむと、輸出リンパ管が著しく拡張して注射がたやすくできる。癌細胞懸濁液の注射には1/5注射針を用い、ゆるやかに注射する。注射の完了後も針をそのままにして足を軽くもむと、癌細胞は近位部のリンパ節に送られ、針をぬいたときにリンパ液とともに注射部位に逆流しなくなる。注射針をぬくと少量のリンパ液が漏出するが、それは皮膚を縫合後まもなくとまるようである。すべての操作は無菌的に行なつたが、感染予防のために複合ストレプトマイシンをウサギの体重1kgあたり20mgの割

表 1. 癌細胞懸濁液の膝窩リンパ節輸入リンパ管内注と同じく輸出リンパ管内注入の場合における癌の転移の比較, それぞれ10例中, 転移によって死亡したもののみを示す.

癌細胞懸濁液の注入部位	ウサギの番号	注入した癌細胞* 総数 ($\times 10^6$)	ウサギの生存日数	体 重		平均生存日数(日)	癌の転移による死亡率(%)
				実験開始の日	死 亡 後		
膝窩リンパ節の輸入リンパ管	1	3.7	20	2.95	2.2	29.7	40.0
	4	3.7	42	3.1	2.3		
	6	2.8	27	2.8	1.9		
	7	2.6	30	1.5	1.3		
膝窩リンパ節の輸出リンパ管	11	2.7	17	1.8	1.4	17.5	40.0
	15	2.6	19	2.0	1.4		
	18	2.4	19	1.9	1.3		
	19	2.4	15	1.98	1.6		

* 癌細胞とみなされる細胞

合で筋骨内に注射した。

5. 膝窩リンパ節およびその他の組織の検査法

本実験では, 癌細胞懸濁液のリンパ管内注入後, ウサギを可及的に長期間飼育し, その間に癌の広範な転移のために死亡するウサギを重点的に検査した。そのようなウサギについては, 癌の転移の状況を肉眼的に検査したほか, 転移のある器官の組織検査を行なった。組織検査の方法は, 本研究の第1編に記した通りである。

実 験 成 績 (表 1)

主要な実験成績は表1に示す通りである。表にみられるように, 癌の転移によるウサギの死亡率は, 癌細胞懸濁液を膝窩リンパ節の輸入リンパ管内に注入した場合でも, 膝窩リンパ節の輸出リンパ管内に注入した場合でも, ほぼ同様で, ともに40%であった。しかしウサギの平均生存日数は前者の場合には29.7日, 後者の場合には17.5日であった。

別に行なった, 癌細胞を精巣内に接種した対照実験27例では, 癌の転移によるウサギの死亡率は60%で, 平均生存日数は16.1日であった。これと, 上述の成績とを比較してみると, 癌細胞を膝窩リンパ節の輸入リンパ管内に接種した場合には死亡率は低く, 平均生存日数は多い。癌細胞を膝窩リンパ節の輸出リンパ管内に接種した場合には, 精巣内接種の場合より死亡率は低い, 平均生存日数はほぼ同様である。

また, 腹腔内における癌の転移を調べてみると, 癌細胞を膝窩リンパ節の輸出リンパ管内に注入した

場合の方が, 輸入リンパ管内に注入した場合よりも高度であった。そして, 前者の場合には, 4例中2例において, 注入側の膝窩リンパ節に癌の転移が高度におこった。しかし, 癌細胞を輸出リンパ管内に注入した場合でも, 輸入リンパ管内に注入した場合でも, 反対側の膝窩リンパ節には癌の転移はみとめられなかった。

そのほかに注目すべきことは, 腹腔内リンパ節に癌が転移した場合に, しばしばリンパ節内にピロニン好性芽細胞が著しく増殖することである。これは, 本研究の第2編でも述べたように, 癌細胞に対する免疫反応のあらわれで, そのような免疫反応に抗して癌細胞が増殖することを示す。

総 括 と 考 按

1個のリンパ節が癌化した場合に, それから癌が転移によつて拡がるしくみには, 3通りあつて, その1つはリンパ路を介する転移であり, 他の1つは血行路を介する転移である。そして, リンパ路性の転移にはさらに, 次のような3つの可能性が考えられる (Leighton, 1967)²⁾。すなわち, (1) 癌化したリンパ節の輸出リンパ管から癌細胞がリンパ流によつてより近位部のリンパ節に運ばれてそれを癌化する。このような過程を繰り返しながら順次に近位部のリンパ節が癌化する。(2) リンパ節が癌化するとリンパ節を通ずるリンパ流が遮断され, リンパが輸入リンパ管内に貯溜して, リンパ管の著しい拡張をひきおこす。それによつて, リンパ節内の癌細胞が逆流して遠位部に癌の転移がおこる (Zeidmann と

Buss, 1954)³⁾. (3) リンパ節の癌化によつてリンパ流が遮断されると、このリンパ節を素通りする新しい側副リンパ路が形成されるか、または、リンパ路と血行路との間に新しい交通路が開かれる (Pressman と Simon, 1961⁴⁾, Pressman ら, 1962⁵⁾).

さて、本実験の成績から上述の4つの可能性を論ずることは困難であるが、緒言でも述べたように、最初に癌化するリンパ節が腹腔 (骨盤腔も含めて) 内にある場合には、腹腔外にある場合よりも、癌の転移の速度が著しく早いことが予想された。ところが、本実験では、癌のひろがりかたには予想した程著しい差が現われなかつた。すなわち、癌細胞を膝窩リンパ節の輸入リンパ管内に注入した場合でも、膝窩リンパ節の輸出リンパ管内に注入した場合でも、ウサギの癌による死亡率にはほとんど差がなく、ただ、癌死の場合の平均生存日数が、前者の場合に後者の場合より少し多かつたにすぎなかつた。このことから、膝窩リンパ節のような腹腔外に存在するリンパ節が癌化する場合にも、癌の腹腔内転移が予想外に早くおこることがわかる。

これと関連して注目すべきことは、輸入リンパ管を介してリンパ節内に注入した癌細胞が、全部リンパ節に抑留されるわけではないということである。B. Fisher と E. R. Fisher (1968)⁶⁾ は V₂, Brown-Pearce および Walker のそれぞれの腫瘍細胞の懸濁液をウサギの膝窩リンパ節の輸入リンパ管から注入し、輸出リンパ管に出現する腫瘍細胞を調べた結果によると、予想外に多数の腫瘍細胞がリンパ節を通過して輸出リンパ管に出現するという。本実験では、リンパ管内で癌細胞が増殖中、リンパ節から輸出リンパ管を介して、どれだけ癌細胞が放出されるかを検討しなかつたので、確言できないが、膝窩リンパ節内に癌が発育中にすでに腹腔内に癌細胞の転

移がおこつていることが推定される。

以上は、さきに述べた、リンパ路転移における第1の可能性であるが、そのほかに第2や第3の可能性も考慮せねばならぬ。リンパ節が癌化してリンパ流が遮断されると、輸入リンパ管を介して癌細胞が逆流する可能性のあることが、本実験においても推定された。すなわち、癌細胞を膝窩リンパ節の輸出リンパ管内に注入したにもかかわらず、4例中2例において、注入側の膝窩リンパ節に癌の転移がみとめられた。反対側の膝窩リンパ節には、癌細胞を輸出リンパ管内に注入した場合でも、癌の転移はみとめられなかつたので、癌の血行路転移の可能性は薄いといわねばならぬ。

結 語

Brown-Pearce 癌細胞の懸濁液を、ウサギの膝窩リンパ節の輸入リンパ管、または、輸出リンパ管を介して注入したのち、ウサギを長期飼育して、癌の転移が癌細胞の注入部位によつてどのように異なるかを調べた。

癌の転移によるウサギの死亡率は、上記のいずれの場合でも、ほぼ同様であつたが、ウサギの平均生存期間は、癌細胞を膝窩リンパ節の輸出リンパ管を介して骨盤腔内のリンパ節に注入した場合の方が、輸入リンパ管に注入した場合よりも短かつた。腹腔内における癌の転移は、癌細胞を輸出リンパ管内に注入した方が、輸入リンパ管に注入した場合より高度におこつた。

癌細胞を輸出リンパ管内に注入した場合には、4例中2例において、注入側の膝窩リンパ節に癌の転移がおこつた。これに対して、反対側の膝窩リンパ節には、注入部位の如何にかかわらず、癌の転移はみとめられなかつた。

文 献

- 1) 浅野一幸：異種ならびに腫瘍細胞のリンパ節内接種に関する研究。第2編，輸入リンパ管からウサギの膝窩リンパ節内に注入した Brown-Pearce 癌細胞の増殖。岡山医学会雑誌 (投稿中)。
- 2) Leighton, J. : The Spread of Cancer Academic Press. New York 4 London, 1967.
- 3) Zeidmann, I., and Buss, J. M. : Experimental studies on the spread of cancer in lymphatic system. I. Effectiveness of the lymph node as

- a barrier to the passage of embolic tumor cells. *Cancer Res.*, 14 : 403—405, 1954.
- 4) Pressman, J. J., and Simon, M. B. : Experimental evidence of direct communications between lymph nodes and veins. *Surg. Gynec. Obstet.*, 113 : 537, 1961.
- 5) Pressman, J. J., Simon, M. B., H and, K., and Miller, J. : Passage of fluids, cells and bacteria via direct Communications between lymph nodes and veins. *Surg. Gynec. Obstet.*, 115 : 207.

1962.

- 6) Fisher, B., and Fisher, E. R.: Role of the lymphatic system in dissemination of tumor. Lymph and Lymphatic System. Proceedings of the conference on Lymph and Lymphatic System. H. S. Mayerson, Chairman, Sponsored by Tulane

University School of Medicine, New Orleans, Louisiana and Committee on Shock of the National Research Council, Charles C. Thomas. Publisher, Springfield-Illinois U. S. A., 1967, pp. 324—327.

Intra Lymph Nodal Inoculation of Heterologous and Tumor Cells

III. Comparison of the Spread of Brown-Pearce Carcinoma Cells after Injection into either Afferent or Efferent Lymphatics of the Popliteal Lymph Nodes of Rabbit

By

Kazuyuki ASANO

Ist Department of Anatomy, Okayama University Medical School
(Director: Professor B. Osogoe)

Isolated Brown-Pearce carcinoma cells (BPCC) were injected either into the efferent or afferent lymphatics of the popliteal lymph nodes of rabbit and the spread of cancer by metastasis in both cases was studied. The chief findings are as follows:

1. The mortality rate was almost the same in both cases, but the average survival period was shorter in the cases of injection into the efferent lymphatics than in the cases of injection into the afferent lymphatics.
 2. Metastasis of cancer in the abdominal cavity occurred to a greater degree in the former cases than in the latter cases.
 3. When carcinoma cells were injected into the efferent lymphatics, a retrograde metastasis of carcinoma was observed in the popliteal lymph nodes on the injected side in two of four cases.
 4. In the popliteal lymph node on the opposite side, no metastasis of cancer occurred, regardless of whether carcinoma cells were injected either into the efferent or afferent lymphatics.
-