

発癌性化学物質 20-methylcholanthrene の反復投与 マウスにおける methylcholanthrene の臓器内 分布に関する研究

第 1 編

反復塗布マウスにおける methylcholanthrene の臓器内分布

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木潔教授)

守屋 純一郎

[昭和 42 年 6 月 23 日受稿]

目 次

<p>I. 緒 言</p> <p>II. 実験方法</p> <p>1. 実験動物及び実験材料</p> <p>2. methylcholanthrene の塗布方法</p> <p>3. 臓器内 methylcholanthrene の抽出及び定量方法</p> <p>4. 尿中 Methylcholanthrene の抽出及び定量方法</p> <p>5. 末梢血液検査</p> <p>6. 組織学的検査</p> <p>III. 実験成績</p> <p>1. 予備実験</p> <p>i) Methylcholanthrene の蛍光スペクトル</p> <p>ii) Methylcholanthrene の検量曲線</p> <p>iii) 諸臓器及び尿中の蛍光物質の除去</p> <p>iv) 諸臓器及び尿中の Methylcholanthrene 抽出の回収率</p>	<p>2. 本実験 Methylcholanthrene 尿中排泄及び臓器内分布</p> <p>A) Methylcholanthrene の尿中排泄</p> <p>B) Methylcholanthrene の臓器内分布</p> <p>i) 2 週間塗布群</p> <p>ii) 4 週間塗布群</p> <p>iii) 6 週間塗布群</p> <p>iv) 8 週間塗布群</p> <p>v) 10 週間塗布群</p> <p>vi) 12 週間塗布群</p> <p>vii) 16 週間塗布群</p> <p>viii) C₃H 系マウスにおける MC の分布</p> <p>3. 実験成績の総括</p> <p>IV. 考 按</p> <p>V. 結 語</p>
--	--

I. 緒 言

20-Methylcholanthrene (以下 MC と略) の発癌性に関しては、従来多数の研究があるが生体内におけるその代謝や臓器内分布に関しては、従来主として、肺癌、乳癌、皮膚癌について検索がなされている。

即ち, Lorenz & Schimkin¹⁾ は MC により肺腫瘍の好発する A 系マウスおよび肺腫瘍のほとんど起らない C₅₇ Black 系マウスに MC を静注し, 肺その他の臓器内における MC の定量を行つて比較し, 両系マウス間に差をみとめていない。さらに Schimkin & Lorenz²⁾ は A 系マウスを用いて MC を静脈内に

投与し, 1 週間後には MC が著明に減少する事, また, 種々の粒子の大きさの MC を静脈内に投与した所, 大きな粒子 (10 μ , 20 μ) の MC を投与されたマウスは, 小さな粒子 (1 μ , 2 μ) の MC を投与されたマウスに比し約 10 倍の高率に肺腫瘍の発生をみ, 前者は後者に比し, 肺内 MC 分布濃度も高く, 肺組織内における MC の分布濃度と肺腫瘍の発生率との間に相関関係の存する事を報告している。Dao et al³⁾, Bock & Dao⁴⁾, Hoshino & Bernet⁵⁾ はラット及びマウスにおいて, 経口あるいは腹腔内注射による MC 投与後, 乳腺及びその部の脂肪組織に, 他臓器に比し特に高濃度に MC の分布をみる事, 更

に乳汁中の MC の移行と、それによる発癌との間の関係について報告している。又、Dauben & Dorothea⁶⁾ は label された MC を A 系マウス皮下に注射し、放射活性の臓器内分布を測定したが、その局在性を認め得なかつたと報告している。

しかしながら、従来のかかる報告はいずれも MC 投与後短期間の、しかもごく限られた臓器についての分布を測定しているにすぎず、MC による発癌過程と各臓器内 MC 分布との関係を経時的に詳しく検討した研究は未だ報告されておらず、特に MC による白血病発生と造血臓器内 MC 分布に関する研究は全くなされてない。平木⁷⁾、入野⁹⁾、10) 等は MC を RF 系マウスの背部皮膚に反復塗布すると、骨髓性並びにリンパ性白血病が極めて高率に惹起される事を認め、更にその発生過程を詳細に追求し、白血病の初発部位及び成立機序を明らかにし報告している。

そこで著者は RF 系マウスを用いて MC 反復皮膚塗布時における各臓器内 MC 含有量を経時的に測定する事によつて、MC の反復投与による白血病の発生における MC の臓器内分布濃度の意義をより明らかにしようと試み、造血臓器の高濃度の MC 分布と白血病の発生に間に密接な関係が存在するという興味ある成績を得たので報告する。

II. 実験方法

1. 実験動物及び実験材料

実験動物としては Roscoe. B. Jackson Memorial Laboratory (Bar Harbor Maine U.S.A) 由来の RF 系マウスの生後 1~1.5 ケ月のものを主として使用した。1 部の実験では本学マウスコロニー飼育 C₃H 系マウスを使用した。MC は英国ライト社製の 20-Methylcholanthrene を使用した。

2. MC の塗布方法

マウスの背部の毛を肩胛上部より骨盤部にかけて広範囲に剪毛し、その部に MC の 0.5% ベンゼン溶液 0.2~0.25cc を週 2 回の割で反復塗布し、塗布開始後 2, 4, 6, 8, 10, 12 及び 16 週の 7 群についてそれぞれ 2~5 匹づつ胸腺、肺臓、脾臓、リンパ腺、骨髓、腎臓、心臓、胃、唾液腺、肝臓の各臓器の MC を定量した。

3. 臓器内 MC の抽出及び定量

MC の最終塗布後 24 時間にてマウスを失血死せしめ、可及的速やかに各臓器を取り出し秤量する。各臓器中の MC を定量するには、先ず各臓器より MC

を抽出せねばならないが、これには MC のよくとける溶媒を使用せねばならない。MC はベンゼン、キシレン、トルエン、エーテル等によくとけるが、私の実験では抽出率の最もよいベンゼンを使用した。

各臓器 10~400mg にベンゼン 6cc を加え、ガラスホモゲナイザーにて充分ホモゲナイズし、0.6 cc の氷酢酸を加え酸性となし、2~3 cc の 5% 過マンガン酸カリを加えて、直ちに 2 分間強振する。ついで、3% 過酸化水素水を過マンガン酸カリの色が褪せし無色になるまで振盪しながら加える。

以上処理した液を 3000 回転 30 分にて遠沈し、そのベンゼン層を材料として、一定量を蛍光分光光度計にて定量した。蛍光分光光度計は Farrand の Spectrofluorometer を用い、励起光 365m μ 、測定波長 422m μ を使用した。尚、MC は光線に対して鋭敏で且つ不安定であるので、蛍光法によりこのものを定量する場合に基準となる蛍光物質を選び、これと比較しなくてはならない。この物質には安定性があり、再現性のあるものとして硫酸キニーネを使用した。尚、MC は光線、熱に不安定であるため、実験は常に暗室にて行い、試料は冷暗所に保存する様にした。

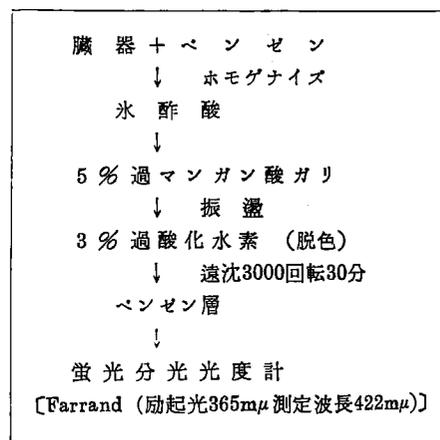


図 1 臓器内 Methylcholanthrene の定量方法

4. 尿中 MC の抽出及び定量方法

MC の尿中排泄状態の検索には MC 0.5% ベンゼン溶液 0.2cc を剪毛した RF 系マウス背部皮膚に 1 回塗布し、直ちにそのマウスをビーカーに入れて暗室におき、3 時間後にそのビーカーを 5ml のベンゼンにて洗い、ベンゼン溶液は冷蔵庫に保存し、再びマウスをビーカーに入れ、3 時間後にベンゼン 5cc にてビーカーを洗い、先の 5ml のベンゼン液と

合わせて6時間尿のMCベンゼン抽出液とした。

以後同様に処理して6~12時間尿, 12~18時間尿, 24~30時間尿, 30~36時間尿と各蓄積尿のMCベンゼン抽出液を造つた。

又, ベンゼン抽出液について, 臓器中蛍光物質の除去のための処理と同様にして過マンガン酸カリを使用して処理した。すなわち上記尿ベンゼン液に氷酢酸を加えて酸性となし, 5%過マンガン酸カリを加え過マンガン酸カリの色が褪色し, 無色となるまで3%過酸化水素水を加えて振盪する。以上を3000回転にて30分間遠沈し, その上清ベンゼン層を試料とし, 4ccをFarrandの蛍光分光光度計にて測定した。

5. 末梢血液検査

Melangeur 及び Neubauer 新型血球計算盤はすべて日本血液学会検定済みのものを用いた。検血方法は尾部をアルコールで充分消毒し乾燥後, 尾静脈を鋭利な刺針で傷つけ, 採血した。この様にして採血した末梢血液について白血球数を測定し, 塗抹標本作製した。

6. 組織学的検査

屠殺後なるべく速やかに臓器をホルマリン固定し, 切片標本作製し, Haematoxylin-Eosin 染色をほどこした。又骨髄, 淋巴腺, 胸腺, 脾臓等のスタンプ標本作り, MayGiemsa 染色をほどこした。

III. 実験成績

1. 予備実験

本実験に先立ち, 予備実験として, i) MCの蛍光スペクトル, ii) MCの検量曲線, iii) マウス諸臓器内及び尿中における蛍光物質の存在とその除去法及びiv) MCの回収率等について検討を加えたので, 先ずこれらの成績について述べる。

i) MCの蛍光スペクトル

MCを107/ccの濃度にベンゼンにとかし, Farrandの蛍光分光光度計を使用し, 励起光 $365m\mu$ にてMCの蛍光スペクトルを測定した。MCの蛍光スペクトルは第2図の様に $398m\mu$ に最高の蛍光強度を有し, その他にも $422m\mu$ と $444\sim 446m\mu$ にも山を有している。尚ベンゼンは $366m\mu$ に極大波長を有する蛍光スペクトルを持っている。

又, 測定に際しての基準物質として使用した硫酸キニーネの蛍光スペクトルも図2に示した。

ii) MCの検量曲線

各種濃度におけるMCのベンゼン溶液について波長 $422m\mu$ における蛍光強度を測定し, 縦軸に蛍光

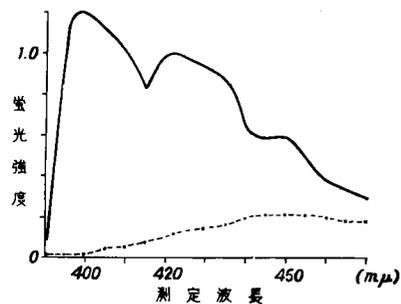


図2 20-Methylcholanthrene (107/cc)の蛍光スペクトル(実線)とQuinine (107/cc)の蛍光スペクトル(点線)

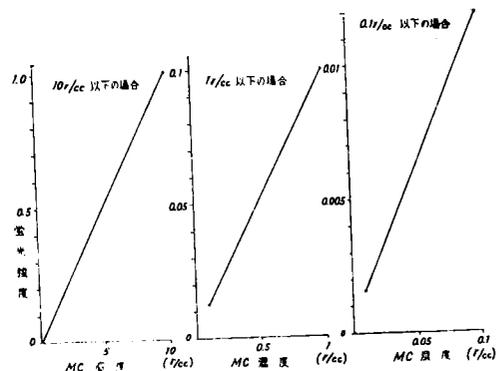


図3 MCのベンゼン溶液の検量曲線

強度を取り, 横軸にMCの濃度を取ると, 107/cc以下の低濃度においてはほぼ直線的である。

尚波長 $422m\mu$ の方が $398m\mu$ より安定であり, 又基準物質として使用した硫酸キニーネの蛍光スペクトルにおいても, $398m\mu$ の蛍光強度は低く, 都合がよくないため, 本実験では $422m\mu$ の方の山を使用した。

iii) 諸臓器内及び尿中の蛍光物質の除去

各臓器中及び尿中のMCを測定するには, それに先だち, 各臓器中及び尿中の蛍光物質の存否を検討せねばならない。

生後1~1.5ヶ月の無処置, 正常RF系マウスを屠殺し, 可及的速やかに, 各臓器を取り出し, その $10\sim 400mg$ をガラスホモゲナイザーに取り, ベンゼン6ccを加え丹念にホモゲナイズした。このホモゲナイズした臓器ベンゼン溶液を3000回転にて30分間遠沈し, 上清のベンゼン溶液4ccをFarrandの蛍光分光光度計にて, その蛍光スペクトルを測定した。

図4実線に示す如く, 臓器自体の蛍光物質により, MCの蛍光スペクトルが妨害され, その定量が出来

ない。そこで、各臓器を過マンガン酸カリにて処理した後にその蛍光を測定した所、図4点線で示されている如きスペクトルを描き、MCのスペクトルに妨害を及ぼさない。

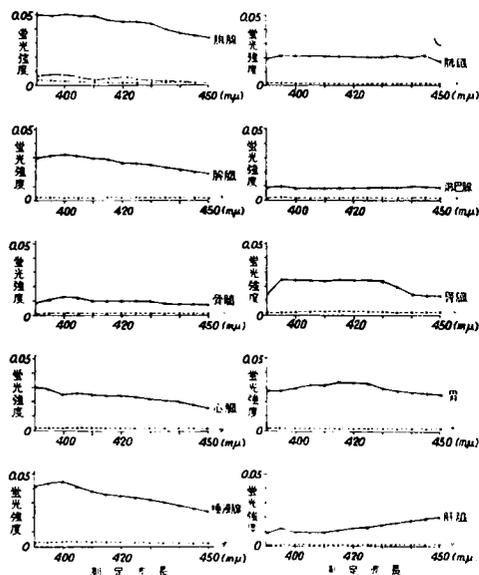


図4 正常無処置マウスの各臓器ベンゼン抽出液の蛍光スペクトル

- : 正常臓器のベンゼン抽出液
- - - : 更に過マンガン酸カリで処理した正常臓器の抽出液
- · · · : 20-MC 0.05γ/cc ベンゼン溶液スペクトル

過マンガン酸カリによる処理は、各臓器を前述の様に6ccのベンゼンを加えてガラスホモゲナイザーにてホモゲナイズし、氷酢酸0.6ccを加えて酸性となし、5%過マンガン酸カリ ~ 3ccを加え、2分間強振した。

しかる後、過酸化水素水を過マンガン酸カリが脱色し、無色になるまで、振盪しながら加え、3000回転にて30分間遠沈し、その上清のベンゼン層を試料とした。これらの処理がMCの蛍光に影響を及ぼすか否かについては次の如き実験を行ない、影響のないことを確めた。

MC 10γ/cc ベンゼン溶液 12cc を作成し、これを2分し、一方はそのまま4ccを試料液として蛍光分光光度計にてその蛍光スペクトルを求めた所、図2に示す様なスペクトルを得た。他方の6ccには氷酢酸0.6ccを加えて酸性となし、過マンガン酸カリ2ccを加えて2分間よく振盪し、次いで過マンガン酸カリの腿色し無色になるまで、過酸化水素水を振

盪しながら加えた。これを3000回転にて30分間遠沈し、上清を試料としてその蛍光スペクトルを測定したところ、前者と全く同一の蛍光スペクトルを画いた。

次に尿中の蛍光物質の存否について検討するため、生後1ヶ月のRFマウスの6時間蓄積尿を採取し、ベンゼンを加えてよく攪拌し、30分間、3000回転にて遠沈し、その上清ベンゼン層の蛍光スペクトルを測定した所、図5に示す如くで、MCの蛍光スペクトルを妨げるおそれがある。そこで上記の様に過マンガン酸カリにて処理を行なった所、図5点線にて示す如く、尿中の蛍光物質は除去された。

又、過マンガン酸カリ処理による尿中MCに対する影響をみるに、先ずRF系マウスの尿に10γ/ccのMCベンゼン溶液を加え、前述の如く、過マンガン酸カリにて処理したもの及び10γ/ccのMCベンゼン溶液の蛍光スペクトルを測定した所、全て同様の蛍光スペクトルを描いており、過マンガン酸カリの影響は全くない事が確認された。

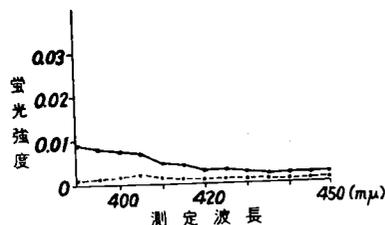


図5 マウス尿蛍光スペクトル(実線)及び過マンガン酸カリ処理尿の蛍光スペクトル(点線)

iv) 諸臓器及び尿中MC抽出の回収率

前記定量に際してはMCの回収率という事を考慮に入れねばならない。そこで各臓器に10γ/ccのベンゼン溶液を6cc加えてホモゲナイズし、前述の如く、処理した後の回収率は胸腺85%、肺臓78%、脾臓86%、リンパ腺88%、骨髄90%、腎臓88%、心臓74%、胃78%、唾液腺90%、肝臓91%であつた。

尿中MCの回収率を検索するため、生後1ヶ月の無処置RF系マウスの6時間蓄積尿に5γ/ccのMCベンゼン溶液10ccを加え、前述の如く、過マンガン酸カリにて処理した後MCを測定した所、回収率は10回測定の平均値が86%であつた。

2 本実験: MCの尿中排泄及び臓器内分布

A MCの尿中排泄

無処置RF系マウスの生後1~1.5ヶ月のもの5匹を使用し、MC 0.5%ベンゼン溶液0.2ccをマウス

背部の肩胛部から腰部にかけて広範囲に剪毛した部に塗布し、前述の如く採尿し、処理した後、尿中のMC量を測定した。

各試料の蛍光スペクトルについては励起波長を365m μ に固定し、蛍光波長を変化させ、Fluorescence Spectrumを観察した所、山は共に398m μ 及び422m μ に一致した。Activation Spectrumでも同様の現象をみとめ、前述の方法により測定した尿ベンゼン抽出液にはMCが含まれる事を認めた。

用いた5匹のマウスのMC尿中排泄状態は表1、図6に示す如くである。

表1 MC 背部皮膚塗布後の尿中排泄状態 (γ/cc)

マウス番号	尿						
	0~6時間尿	6~12	12~18	18~24	24~30	30~36	36~
A	4.29	2.78	0.881	0.210	0.403	0	0
B	12.2	3.35	1.28	0.523	1.21	0.454	0
C	1.39	0.835	0.464	0.608	0.237	0.313	0
D	4.06	2.67	0.673	0.464	0	0	0
E	1.10	2.09	1.08	0	0	0	0
平均	4.61	2.35	0.876	0.360	0.370	0.153	0

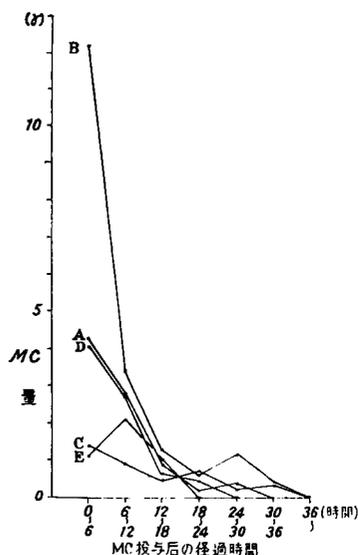


図6 MC 塗布後マウス(A~E)におけるMC 塗布後の尿中MC 排泄状態

MC 塗布マウス(A)の6時間蓄積尿を前述の方法にて処理したもののベンゼン抽出液の4ccを型通りFarrandの蛍光光度計にて測定した所、図7に示される如く、励起波長365m μ において、測定波長は

398m μ , 422m μ 及び 446m μ 附近にて特有の山を有するカーブを描いている。なおこの際、標準液として使った10γ/ccの硫酸キニーネ溶液はFarrandの蛍光分光光度計の蛍光強度0.12に合わせた。

以後6~12, 12~18, 18~24, 24~30時間各蓄積尿も図7の如き蛍光スペクトルを示した。

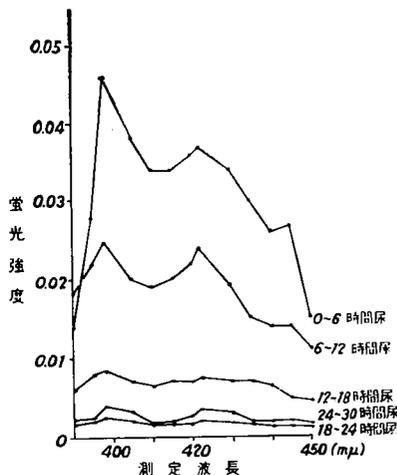


図7 MC 塗布マウス(A)における投与后6時間毎の尿中蛍光スペクトル

それぞれのマウスのMC尿排泄量は表1に示す如くで、最初の6時間が最も多く、その後は時間の経過と共に減少し、36時間以後はごくわずかになり、多くは測定不能であった。

すなわち特有の蛍光スペクトルを描かず、ごく微量の排泄であると考えられる。従つて、投与されたMCの大部分はマウス体内に蓄積されることが考えられる。

B) MC の臓器内分布

MC 塗布開始後2, 4, 6, 10, 12及び16週間の7群について各臓器のMCの測定をした。マウスは各群2~5匹用い、胸腺、リンパ腺、脾臓、骨髓、肺臓、肝臓、腎臓、心臓、胃、唾液腺のMCを定量した。

各臓器よりのベンゼン抽出液について励起波長を365m μ に固定し、蛍光波長を変化させFluorescence Spectrumを観察した所、山は共に398m μ 及び422m μ に一致した。

Activation Spectrumにおいても同様の現象をみとめ、前述の方法により抽出し測定した蛍光物質はMCである事を証明した。

i) 2週間塗布群

2週間塗布マウスでは、各臓器ともMCの含有量は極めて少なく、本法によつて測定不能の事も多く

あつた。

本群は4匹のマウス (No. 18, No. 28, No. 29及び No. 30) について実験を行なつたが、代表例 No. 29 について詳しく述べる。

No. 29 マウス (♀)

生後44日目より、2週間計4回、背部皮膚に MC のベンゼン溶液を塗布し、最後の塗布後24時間にて屠殺し、可及的速やかに各臓器を取り出し、秤量し、MC の定量を行なつたものである。

肉眼的、血液学的及び組織所見等のいずれにも白血病を思わせる異常所見をみとめていない。

本例は、胸腺、肺臓、淋巴腺、腎臓、唾液腺にそれぞれ、13.0、4.63、17.0、3.19、2.00 7/g の含

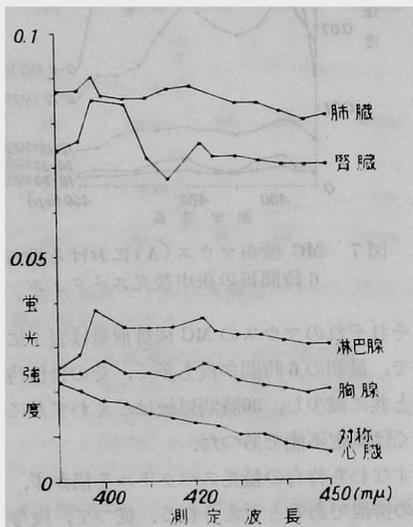


図8 2週間 MC 塗布マウス (No. 29) の各臓器の螢光スペクトル

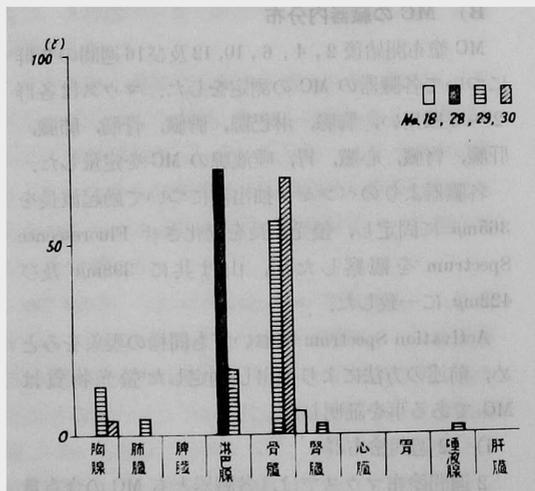


図9 MC 2週間塗布マウスの臓器内 MC 分布

有を示し、骨髄には 55.57/g と他臓器に比して極めて多量の MC の含有を示した。その他、No. 18 マウスでは腎臓 6.157/g, No. 28 マウスの淋巴腺 68.47/g, No. 30マウスの胸腺4.067/g, 骨髄66.67/g の含有が測定出来た。

図8は No. 29 マウスの各臓器試料液の螢光スペクトルを示し、図9は本群各例の臓器内 MC の含有量を示す。

ii) 4週間塗布群

本群も生後1~1.5ヶ月の RF 系マウスに4週間にわたつて計8回、背部皮膚に 0.5% MC ベンゼン溶液を塗布した後、最後の塗布後24時間にて屠殺し、各臓器の MC 含有量を測定した。本群では2週間群に比較して明らかに含有量増加の傾向がみられ、この傾向は、特に骨髄において顕著であつた。

骨髄においては No. 12 マウス 55.57/g, No. 11 マウス 2687/g, No. 13 マウス 3337/g の含有を示している。その他、胸腺、淋巴腺、心臓等にもかなりの濃度の分布をみとめた。

その他いずれの臓器においても MC の低濃度ではあるが分布がみとめられた。

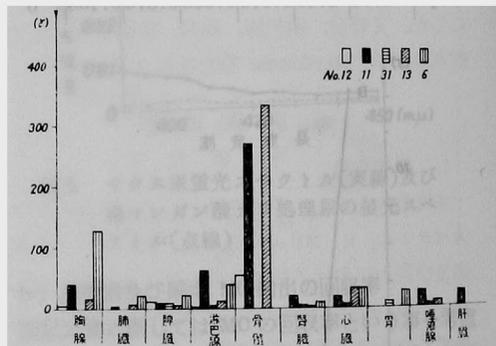


図10 MC 4週間塗布マウスの臓器内 MC 分布

本群の血液像を示せば表2の如くであり、図11は No. 11 マウス 8 の各臓器試料液の螢光スペクトルを示したものである。

iii) 6週間塗布群

生後1~1.5ヶ月の RF 系マウス4匹に型通り6週間にわたつて MC ベンゼン溶液を背部皮膚に塗布した後、各臓器の MC 分布量を測定した。4週間群までに比べると、分布の増加の傾向を示している。

図12は6週間塗布マウスの各臓器の MC 含有量を図示したものである。

本群においても骨髄における分布が他臓器に比べて明らかに多く、実験例 No. 20, No. 21, No. 26,

表2 4週間 MC 塗布マウスの末梢血液像

マウス番号	No.12	No.11	No.31	No.13	No.6	
骨髓芽球	0%	0%	0%	0%	0%	
好中球	前骨髓球	0	0	0	0	
	骨髓球	0	0	0	0	
	後骨髓球	0	0	0	0	
	杆状核	3	3	6	1	3
	II ~ V	26	32	24	36	25
合計	29	35	30	37	28	
リンパ球	リンパ芽球	0	0	0	0	
	小リンパ球	54	57	61	51	67
	大リンパ球	10	4	4	10	1
	合計	64	61	65	61	68
好酸球	5	3	1	1	3	
単球	2	1	4	1	1	
白血球数	8,000	5,500	11,000	13,000	18,500	

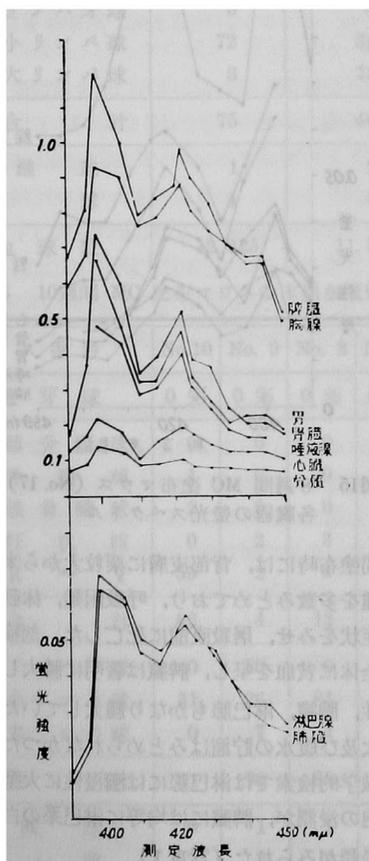


図11 4週間 MC 塗布マウス(No.11)の各臓器の蛍光スペクトル

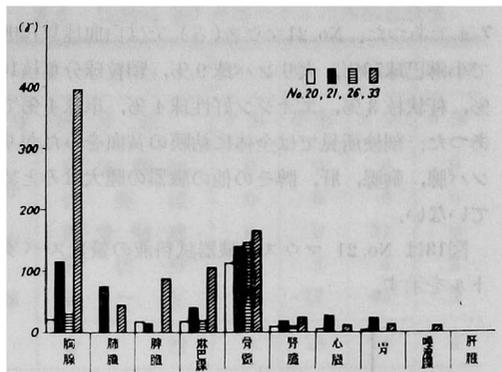


図12 MC 6週間塗布の臓器内 MC 分布

No. 33で、それぞれ111, 138, 145, 165 γ /gを示した。胸腺ではNo. 20 マウス 18.47/g, No. 21 マウス 1117/g, No. 26 マウス 29.37/g, No. 33 マウス 3957/gであった。その他リン巴腺、脾臓に蓄積の傾向がみられる。図12の如くリン巴腺では 18.4, 39.0, 17.8, 1057/g, 脾臓においては 17.4, 14.7, 0, 87.07/gであった。

No. 20 マウス (♂) の剖検所見には異常はなく、血液所見では大リンパ球の軽度の増加をみとめるが、幼若細胞の出現はなかつた。白血球数8160で小リン巴球69%, 大リン巴球14%, 顆粒球分葉核10%, 杆状核1%, 単球5%, エオジン好性球1%であった。

表3 6週間 MC 塗布マウスの末梢血液像

マウス番号	No.20	No.21	No.26	No.33	
骨髓芽球	0%	0%	0%	0%	
好中球	前骨髓球	0	0	0	
	骨髓球	0	0	0	
	後骨髓球	0	0	0	
	杆状核	1	3	2	3
	II ~ V	10	10	12	47
合計	11	13	14	50	
リンパ球	リンパ芽球	0	0	0	
	小リンパ球	69	70	66	32
	大リンパ球	14	9	17	16
	合計	83	79	83	48
好酸球	1	4	1	1	
単球	5	4	2	1	
白血球数	8,160	7,200	6,340	9,380	

各臓器の MC 含有量は骨髓1117/g, リン巴腺18.47/g, 心臓3.187/g, 胃1.177/g, 腎臓10.47/g, 脾臓 17.4

7/gであつた。No. 21マウス(♂)では白血球数7200で小リン球70%, 大リン球9%, 顆粒球分葉核10%, 杆状核3%, エオジン好性球4%, 単球4%であつた。剖検所見では全体に粘膜の貧血をみたがりンパ腺, 胸腺, 肝, 脾その他の臓器の腫大はみとめていない。

図13は No. 21 マウスの臓器試料液の蛍光スペクトルを示す。

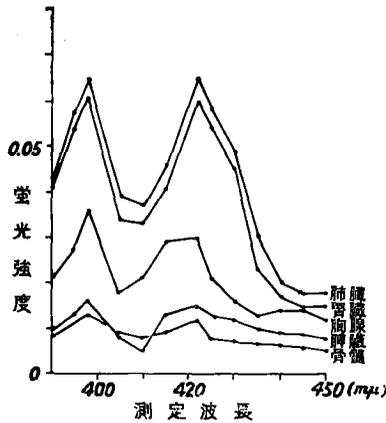


図13 6週間 MC 塗布マウス (No. 21) の各臓器の蛍光スペクトル

iv) 8週間塗布群

本群においては骨髄, 胸腺において明らかに6週間群までに比べて多量の分布をみとめる。すなわち骨髄においては No. 17 マウス 5777/g, No. 1 マウス 4287/g, 胸腺では No. 17 マウス 3557/g, No. 1 マウス 7387/g であつた。他臓器においてもこれまでより増加の傾向がみられた。

図14は本群マウスの各臓器の MC 含有量を, 図15は No. 17 マウス各臓器ベンゼン抽出液の蛍光スペクトルを示す。

No. 17 マウス (♀) の末梢血液像では幼若細胞の出現をみとめておらず, 剖検所見, 組織学的検索においても白血病の所見をみとめていない。(表4は本群マウス末梢血液像を示す)

v) 10週間塗布群

10週間にわたつて20回, MC を塗布した5匹について各臓器の MC の含有量を定量した。

この中, 2匹において淋巴性白血病の発生がみとめられた。先づこの2匹について述べる。(表5は本群の末梢血液像を示す)

No. 25 マウス (♂), 淋巴性白血病発症例

本例は淋巴性白血病を惹起していた1例である。

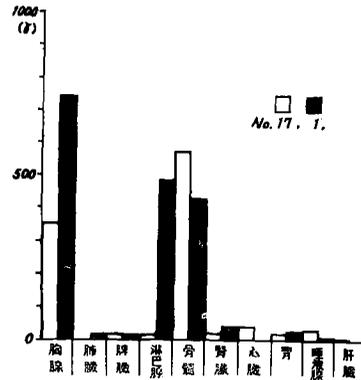


図14 MC 8週間塗布マウスの臓器内 MC 分布

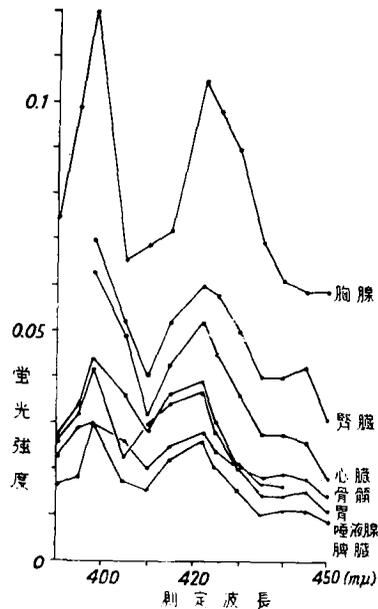


図15 8週間 MC 塗布マウス (No. 17) の各臓器の蛍光スペクトル

10週間塗布時には, 背部皮膚に粟粒大から米粒大の乳嘴腫を多数みとめており, 呼吸困難, 体動不活発等の症状をみせ, 屠殺直前に死亡した。剖検所見では, 全体に貧血を呈し, 脾臓は著明に腫大しており貧血性, 脾臓, 淋巴腺もかなり腫大していた。胸腺の腫大及び腹水の貯溜はみとめられなかつた。

組織学的検索では淋巴腺には瀰漫性に大型の淋巴系細胞の浸潤が, 脾臓には均等に淋巴系の白血病細胞の浸潤がみられた (写真1)。

肝臓においても白血病細胞はかなり瀰漫性に静脈洞に浸潤していた。

本例の各臓器の MC 含有量は、胸腺4127/g, 肺臓6.77/g, 脾臓27.27/g, 胃12.27/gであつた。心臓、唾液腺、肝臓は特有の螢光スペクトルを描かなかつた。

No.9 マウス (♀) 淋毒性白血病発症例
 背部皮膚に多数の乳嘴腫をみとめ、全身の脱毛及び衰弱も著明であつた。剖検所見においては全体に軽い貧血を呈し、脾臓は中等度の腫大を示し、貧血

表4 8週間 MC 塗布マウスの末梢血液像

マウス番号		No. 1	No. 17
骨髓芽球		0%	0%
好中球	前骨髓球	0	0
	骨髓球	0	0
	後骨髓球	0	0
	杆状核	8	4
	II ~ V	15	44
合計		23	48
リンパ球	リンパ芽球	0	0
	小リンパ球	72	33
	大リンパ球	3	13
	合計	75	46
好酸球	1	2	
単球	1	4	
白血球数	12,625	11,500	

表5 10週間 MC 塗布マウスの末梢血液像

マウス番号		No.10	No. 9	No. 2	No. 3
骨髓芽球		0%	0%	0%	0%
好中球	前骨髓球	0	0	0	0
	骨髓球	1	0	0	0
	後骨髓球	2	0	0	0
	杆状核	0	2	3	4
	II ~ V	59	2	9	24
合計		62	4	12	28
リンパ球	リンパ芽球	0	59	0	0
	小リンパ球	31	26	84	62
	大リンパ球	0	7	1	6
	合計	31	92	85	68
好酸球	0	1	1	2	
単球	7	3	2	2	
白血球数	18,500	49,500	15,500	15,000	

表6 12週間 MC 塗布マウスの末梢血液像

マウス番号		No. 5	No. 4	No.15	No.27
骨髓芽球		0%	0%	8%	0%
好中球	前骨髓球	0	0	6	0
	骨髓球	0	0	8	0
	後骨髓球	0	0	11	0
	杆状核	2	1	4	2
	II ~ V	2	17	45	2
合計		4	18	74	4
リンパ球	リンパ芽球	0	0	0	12
	小リンパ球	91	74	7	71
	大リンパ球	2	6	5	13
	合計	93	80	12	96
好酸球	2	0	2	0	
単球	1	2	4	0	
白血球数	33,125	10,000	49,750	159,000	

性であつた。肝臓も軽度に腫大しており、もろくなつていた。

胸腺は腫大しておらず、その他の臓器には特別の所見をみとめていない。組織学的に検索すると肝臓では血管周囲に主として白血球細胞の軽い浸潤があり、又静脈洞にも散在性に浸潤をみとめた。

各臓器における MC 分布状態では胸腺 35.77/g, 脾臓 17.07/g, 淋巴腺 68.57/g, 腎臓 1.927/g, 心臓 9.707/g, 唾液腺 2.827/g, 肝臓 5.007/g であつた。骨髓、胃は実験中の失敗のため、材料を作るに至つていない。

白血球数は49500, 白血球分類ではリンパ芽球59%, 小リンパ球26%, 大リンパ球7%, 単球3%, 顆粒球分葉核2%, 杆状核2%, エオジン好性球1%であつた。核影は白血球100個中13個を数えた。(図16はNo.9マウス各臓器抽出液の螢光スペクトルを示す)

本群においては、8週間塗布群にくらべて更にMC蓄積の傾向が著明で、特に胸腺、骨髓においては他臓器に比して明らかに多量の含有を示している。その他淋巴腺にも119, 12.9, 282, 20.4, 68.57/g とかなりの含有をみている。

又本群では先述の如く No. 25, No. 9 マウスに淋毒性白血病の発症がみられたが、これら白血病発症マウスと No. 10, No. 3, No. 2 等の白血病を惹起していないマウスとの間に臓器における MC の含有量の差はみとめられていない。すなわち骨髓において

は No. 25, No. 10, No. 3 マウスでそれぞれ800, 627, 10007/g であつた。又、胸腺では No. 25, 4127/g, No. 9 35.77/g で No. 10, No. 3, No. 2 マウスではそれぞれ 312, 106, 87.07/g であり、白血病マウスに多量に分布するという事はなかつた(図17参照)。

vi) 12週間塗布群

本群も型通り、12週間にわたつて24回の塗布を行なつた5匹のマウスについて検索した。

5匹中3匹に白血病の発生をみとめ、そのうち1例は骨髄性白血病、2例は淋巴性白血病である。

(表6は本群の末梢血液像を示す。)

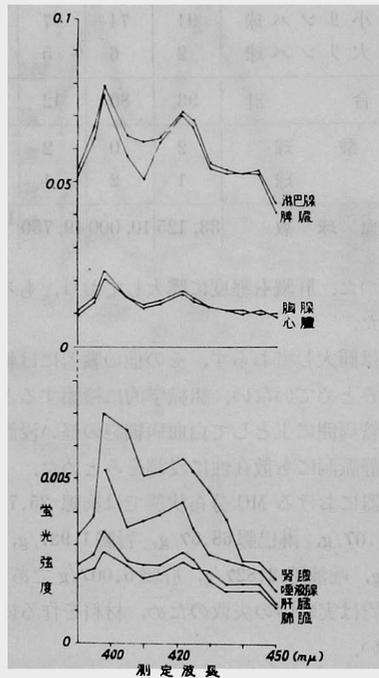


図16 10週間 MC 塗布マウス (No. 9) の各臓器の蛍光スペクトル

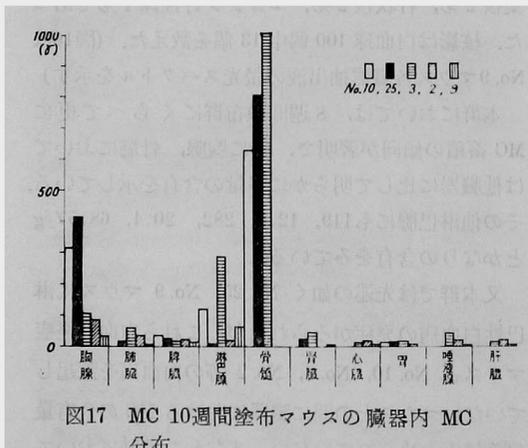


図17 MC 10週間塗布マウスの臓器内 MC 分布

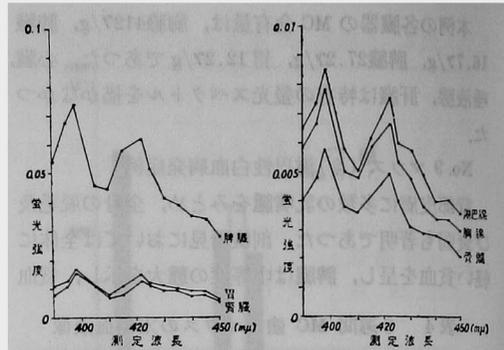


図18 12週間 MC 塗布マウス (No. 27) の各臓器蛍光スペクトル

No. 15 マウス (♂) 骨髄性白血病発症例

本例は骨髄性白血病を惹起していた1例である。衰弱著明、不活発、背部皮膚には著明な乳嘴腫を多数みとめた。剖検所見では貧血を呈し、淋巴腺、肝臓、腎臓、脾臓の中等度の腫大がみられた。末梢血白血球数 49750 白血球分類では骨髄芽球 8%, 前骨髄球 6%, 骨髄球 8%, 後骨髄球 11%, 顆粒球分葉核 45%, 杆状核 4%, 小淋巴球 7%, 大淋巴球 5%, 単球 4%, エオジン好性球 2%, 赤芽球もみとめられた。

組織学的検索：肺においては血管周囲に軽度の白血病細胞の浸潤をみとめた (写真Ⅱ. 1)。

肝臓においてはグリーンソン氏鞘に白血病細胞の著明な浸潤をみとめ、静脈洞にもかなりの白血病細胞の浸潤があり、円形核のものばかりでなく、分節核を呈するものも多数みとめた (写真Ⅱ. 2)。各臓器の MC 含有量は胸腺 9687/g, 肺臓 10.57/g, 脾臓 95.57/g, 淋巴腺 1027/g, 骨髄 6457/g, 腎臓 7.987/g, 心臓 34.37/g, 胃 14.97/g, 唾液腺 15.67/g であつた。

No. 27 マウス：淋巴性白血病発症例

本例は淋巴性白血病を発症している1例である。背部塗布部には乳嘴腫の形成があり、出血を伴つていた。末梢血白血球数は 159000 でその分類は淋巴芽球 12%, 小淋巴球 71%, 大淋巴球 13%, 顆粒球分葉核 2%, 杆状核 2% であり、白血球 100 個に対して核影 17 個をみとめた。組織学的検索では著変をみとめず、肝臓では静脈洞に瀰漫性に白血病細胞の浸潤をみとめた (写真Ⅱ. 3)。各臓器の MC 含有量は胸腺 22.47/g, 脾臓 17.17/g, 淋巴腺 6.857/g, 骨髄 1667/g, 腎臓 3.647/g, 胃 5.467/g, 唾液腺 84.97/g, 肝臓 1.407/g で、心臓、肺臓では特有な蛍光スペクトルを描かなかつた (図18は本マウス各臓器抽出液の蛍光スペクトルを示す)。

12週間 MC 塗布マウス 5 匹の各臓器内 MC 含有

は図19に示す如くである。これらの中の2例は淋性白血病, 1例は骨髄性白血病の発症をみとめたが, 発症していない2例とそのMC分布状態において特別の差異をみとめていない。又本群では脾臓, 血液腺においてもMC含有量増加の傾向がみとめられた。

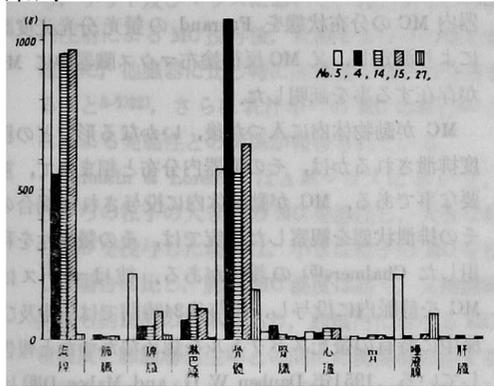


図19 MC 12週間塗布マウスの臓器内 MC 分布

vii) 16週間塗布群

本群は16週間にわたって32回, 背部皮膚にMCベゼン溶液を塗布した5匹のマウスについて, 最終塗布24時間後に各臓器MC含有量を測定した。5匹中2匹に白血病の発生をみとめたが, 先ずこの2例についてのべる。

No. 24 マウス (♂) 淋性白血病発症例

本例は淋性白血病を惹起していた1例で, 背部, 皮膚に乳嘴腫を多数みとめた。末梢血白血球数7000, 白血球分類では淋巴芽球62%, 小淋巴球30%, 大淋巴球4%, 顆粒球分葉核2%, 杆状核2%であった。核影は白血球数100個中47個みとめた。芽球も存在した。

剖検所見では全体に貧血性で, 胸腺, 脾臓, 淋巴腺, 肝臓に中等度の腫脹をみとめ貧血を呈している。又, 透明の腹水の貯溜をわずかにみとめた。組織学的検索では脾臓において鬱血が著明で, 白血病細胞の浸潤をみとめた。腎臓においては間質細胞の増殖がみられ, フィブリノイド変性が著明であった。肝臓においても変性がみとめられ, 血管周囲に軽度の白血病細胞の浸潤をみとめた。

No. 32 マウス (♂): 淋性白血病発症例

末梢血白血球数49000でその分類では淋巴芽球35%, 小淋巴球18%, 大リンパ球15%, 顆粒球分葉核5%, 杆状核11%, 単球6%であった。剖検所見では全体に貧血性で, 肝臓, 脾臓, 淋巴腺の軽度の腫

大をみとめている。腹水はなく, 腎臓に白血病細胞の浸潤を軽度のみとめている(写真II.4)。

各臓器分布は胸腺217γ/g, 肺臓15.4γ/g, 脾臓32.47γ/g, 淋巴腺77.67γ/g, 骨髄7487γ/g, 腎臓35.1γ/g, 心臓6.607γ/gであった。

No. 16, No. 22, No. 23は白血病の発生をみとめていない(図20は本群各マウスの各臓器MC含有量を示す)。

viii) C₃H系マウスにおけるMCの分布

MC塗布により白血病の発生をみとめなかつたC₃H系マウスにおける塗布開始後2ヶ月のMCの臓器内分布は胸腺422γ/g, 骨髄242γ/gであり, 他臓器に比して高濃度のMCの分布をみとめ, その他淋巴腺277γ/g, 脾臓767γ/g, 肺臓207γ/g, 肝臓11γ/gとかなりの分布をみとめたが, 塗布開始後2ヶ月のRFマウスに比し, 明らかな差異はみとめられなかつた。

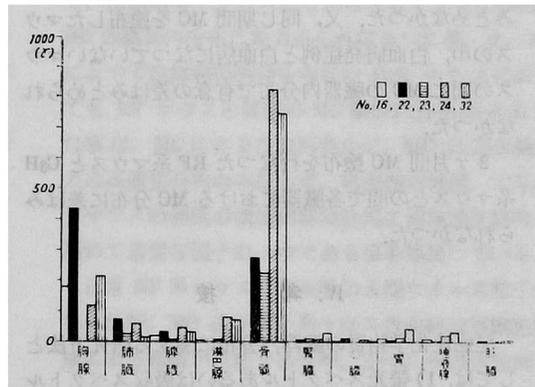


図20 MC 16週間塗布マウスの臓器内 MC 分布

3. 実験成績の総括

MCの背部皮膚塗布後において, MCはその1部が無変化のまま, 尿中に排泄される。

しかもその大部分は投与後36時間以内に排泄されている。MC投与後36時間以内における尿中MCの排泄状態を6時間毎に分けてみると, 最初の6時間の排泄量が最も多く, その後, 時間の経過と共に, その排泄量は減少する。即ちMC塗布マウス5匹の各時間排泄量の平均値は6時間蓄積尿4.617, 6~12時間蓄積尿2.357, 12~18時間蓄積尿0.8767, 18~24時間蓄積尿0.3607, 24~30時間蓄積尿0.3707, 30~36時間蓄積尿0.1537であり, 36時間以後の尿ではMC特有の蛍光スペクトルを描いていない。

MC臓器内分布は, 2週間塗布群では, 各臓器ともMCの分布量は極めて少なく, ときに本法によって測定不能の事もあつた。4週間塗布後では骨髄に

において4匹中4匹に軽度の増加がみられ、胸腺、淋巴腺においてもそれぞれ、4匹中2匹、3匹中2匹において増加の傾向がみとめられた。その他の臓器では増加の傾向は明らかでない。6週間塗布群では4週間群と大差なく、平均の含有量は骨髓139.67/g、胸腺113.47/g、淋巴腺61.27/g、脾臓39.47/gで、腎臓、心臓、唾液腺、胃においてはそれぞれ15.3、14.5、10.3、12.37/gであつた。8週間塗布群では骨髓、胸腺にMCの著明な増加をみとめ、淋巴腺においてもかなりの増加を示す例があつた。10~12週間塗布群ではこの傾向はさらに著明となり、又12週間塗布後では脾臓、唾液腺においても増加の傾向がみとめられた。12週間塗布群の含有量は骨髓7187/g、胸腺8777/g、脾臓2957/g、淋巴腺1497/g、唾液腺80.17/gでその他の肺臓、肝臓、腎臓、胃では10.4~28.17/gであつた。

16週間塗布群では12週間群に比して増加の傾向はみとめなかつた。又、同じ期間MCを塗布したマウスの中、白血病発症例と白血病になつていないマウス間にMCの臓器内分布で有意の差はみとめられなかつた。

2ヶ月間MC塗布を行なつたRF系マウスとC₃H系マウスとの間で各臓器におけるMC分布に差はみられなかつた。

IV. 考 按

発癌性化学物質の臓器内分布に関する研究方法としては、1) 蛍光スペクトルあるいは吸収スペクトルによるスペクトル分析法、2) labelされた化学物質を用いて放射能の分布を測定する方法、及び、3) オートラジオグラフによる方法などがあるが、後二者(2及び3)の場合は、用いた発癌物質の化学的確認を併用する必要がある、3)の方法は細胞内分布の観察には有用であるが、定量的研究は出来ない。これに対し、蛍光スペクトル分析法は発癌物質が蛍光を有するか、あるいは発癌物質に蛍光を附与可能ならば、その定性定量的研究に極めて有用であり、本法を用いるならば、吸収スペクトルにより測定不可能な微量な物質をも正確に測定出来、且、その操作も比較的簡単である等の利点がある。

即ち、普通吸収スペクトルによる有機物質の検出、確認、定量のためには、ほぼ1mg/dlを必要とする。しかし目的物がそれ自体、発蛍光性であつたり、又は容易に発蛍光性誘導体になれば、この物質を定量するために蛍光分析を応用する事が出来る。

この場合、検出、定量に必要な試料濃度は吸収スペクトルによる場合の1/100~1/1000、すなわち17/dlで充分である⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。蛍光スペクトル分析法は尿中、臓器中MCの定量に有用であり⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾、著者はこの方法によつて、MC1回塗布マウスにおけるMCの尿中排泄状態及びMCの反復塗布マウスにおける各臓器内MCの分布状態をFarrandの蛍光分光光度計により測定し、又MC反復塗布マウス臓器中にMCが存在する事を証明した。

MCが動物体内に入つた後、いかなる形でどの程度排泄されるかは、その臓器内分布と相まつて、重要な事である。MCが動物体内に投与された場合のその排泄状態を観察した研究では、その蛍光性を利用したChalmers⁽¹⁵⁾の報告がある。彼はマウスにMCを静脈内に投与し、投与後24時間では尿中及び尿中に特有の蛍光スペクトルを認めなかつたと報告している。1951年Dauben W. G. and Mabee D⁽¹⁶⁾はMC-11-C¹⁴を皮下注射してその尿中、尿中の放射活性を追求して尿中には投与後3日間で投与量の10%、尿中には0.4%/日の割合で排泄されている事、しかし呼気中にはC¹⁴の活性を認めなかつたと報告している。

又、佐々木⁽¹⁷⁾はMCを家兎に静注し、蛍光スペクトルとペーパー・クロマトグラフィーにて尿中のMCを定性し、蛍光スペクトルにてその定量を行なつている。そして投与後4週間内に投与量の10.5%、114日内で12.8%の排泄をみとめている。

他の癌原性炭化水素に関しては、Benzpyreneの排泄について、Weigert, Mottram, Calcutt⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾が蛍光法により定性的に研究した。

Heidélberger and Wei⁽²¹⁾は3-4-Benzpyrene-5-C¹⁴をマウスの尾静脈内に0.45mg投与した場合、24時間後の尿中排泄量は投与量の17.5%であつたと報告している。この場合も呼気中への排泄はみとめていない。Benzpyreneは投与後ただちに胆汁中のみとめられ、消化管を通じて尿中に排泄されている。Dibenzanthraceneについても全く同様の経路がみとめられているが、その排泄はBenzpyreneに位べて遅く、この事はBenzpyreneが水によく溶けるためと推定している。

著者は蛍光スペクトル分析法によつてMC1回塗布マウスにおけるMC尿中排泄を検討した所、排泄量の大部分は投与後36時間以内に排泄されるが、その量は投与量のわずか3%にすぎず、前述の如く塗布開始後その塗布回数が増すにしたがつて漸次臓器

内に大量の MC の蓄積を認めているので、MC が体内に蓄積されるものと考えられる。

MC による発癌とその Target organ における MC の局在性ないし濃度に関しては従来主として乳癌、肺癌、皮膚癌について検索がなされている。すなわち、ラット及びマウスにおいて、経口あるいは腹腔内注射による MC 投与後、乳腺およびその部の脂肪組織に、他臓器に比し特に高濃度に MC の分布をみること⁹⁻⁵⁾²²⁾、さらに乳汁中への MC の移行²³⁾とそれによる発癌性との関係が報告されている。

Shimkin & Lorenz²⁾ は A 系マウスにおいて、いろいろの粒子の大きさの MC を静注し、大きな粒子の MC を投与した場合は、小さな粒子の MC を投与した場合に比し、肺内 MC 濃度は高く、又肺腫瘍の発生も約10倍の高率であり、組織内における MC 分布濃度と肺腫瘍発生率との間に相関関係の存する事を報告している。又、肺腫瘍好発性の A 系マウスと肺腫瘍嫌発性の C57 Black マウスに同じ様に MC を静注したところ、肺及び全身臓器に同程度の蓄積をみとめ、又同じ割合で消失して行くのをみとめている。しかし MC を投与し、30分後に屠殺し、そのマウスの肺臓を他マウスに移植したところ、その部に腫瘍の発生をみとめたが、MC 投与後7日たつたマウスの肺臓の移植では腫瘍の発生とみとめていない¹⁾。皮膚癌についても、MC 塗布後の皮膚組織における MC 濃度に及ぼすいろいろの要因と発癌についての研究がある²⁴⁾。本論文の目的は MC による白血病の発生と MC の臓器内分布との関係を明らかにする事にあるが、今回の実験により、MC 反復塗布マウスにおける MC 塗布開始より白血病発生にいたるまでの各臓器内 MC 濃度の推移が明らかになった。すなわち、MC 4 週間塗布頃より骨髓における MC の蓄積傾向がみとめられ、胸腺、脾臓、リンパ腺にも各例に蓄積がある。8 週塗布頃より、骨髓及び胸腺における著明な MC の蓄積のみられること、さらに、脾臓、リンパ腺においても骨髓、胸腺よりも軽度ではあるが、MC の蓄積の傾向がまし、更に塗布回数を増すにつれ、かかる MC の蓄積傾向は強くなるのがみとめられた。平木⁷⁾⁸⁾、入野⁹⁾¹⁰⁾等は MC を RF 系マウスに反復塗布することによつて骨髓性白血病40%、淋毒性白血病48%計88%の高率に白血病を起させる事が出来、かつ骨髓性白血病は骨髓に、淋毒性白血病では胸腺、脾臓、或はリンパ腺に低形成期の後白血病性変化が初発する事を報告している。

須崎は MC 塗布後における各臓器の組織検索を行

なっているが、MC の蓄積が明らかとなつた、塗布後30日頃の組織所見において、骨髓では腰椎、大腿骨髓において細胞成分の減少と線維増殖をみとめており、リンパ腺、脾臓においても萎縮性変化をみとめている。骨髓や胸腺において著明な蓄積の傾向をみせはじめた8週間後頃からは、いずれの臓器においても軽度から中等度の細胞浸潤をみとめている。更に10週～12週後と MC の蓄積はましているが、90日後の組織像において、脾臓では浸潤著明で一部壊死におちいつており、周囲に浸潤をみとめ、骨髓、リンパ腺、胸腺も高度の細胞浸潤で無構造状態になっていると報告している²⁵⁾²⁶⁾。

かかる成績と本実験でみとめられた各造血臓器の MC 高濃度の分布と白血病発生過程との間にはかなり密接な関係が存するものと推論してよいように思われる。併し、MC を反復塗布した RF 系マウスで、白血病発生マウスとしからざるマウスとの間に MC の臓器内分布に差のみられなかつた事、又、MC によつて白血病の誘発をみない C₃H マウスにおいても RF マウスと同様の MC 臓器内分布のみられた事は、MC による白血病発生に、MC の造血臓器えの高濃度分布のみならず、宿主側の要因、すなわちマウスの種属の遺伝的特異性更に個体感受性等も極めて重要な因子の一つである事を物語っている。

正常 RF 系マウスには未熟の A 型ウイルス粒子がみられ²⁷⁾、MC 誘発 RF 系マウス白血病は無細胞濾液による移植が可能であり²⁸⁾、かつ、その白血病マウスのリンパ腺において電顕的にウイルス粒子が証明されている²⁹⁾³⁰⁾。

したがつて、MC による白血病発生機構として、その第1段階は MC の Target organ の到達であり、その組織における高濃度の分布が極めて重要な要因であるが、更にこれが宿主への影響その他何らかの機序によつて潜在性ウイルスの活性化を行ない、白血病の発生を来すものと考えられる。近年 MC の投与が宿主の免疫能を抑制するという報告³¹⁾³²⁾もなされており、かかる作用もその一つの機序として考察せねばならない。

V. 結 語

RF 系マウスに 20-MC を塗布した場合、MC の尿中排泄は投与後36時間以内にほとんどなされるが、その尿中排泄量は、全投与量の約3%にすぎない。しかし MC の反復塗布マウスにおける各臓器の MC 濃度を経時的に測定した所、MC 4 週間塗布頃より

骨髓における MC の蓄積傾向がみとめられ、8 週間塗布頃より、骨髓及び胸腺における著明な MC の蓄積のみられる事、さらに脾臓、リンパ腺においても、骨髓、胸腺に比し、軽度ではあるが、同じく MC の蓄積傾向がみられ、MC の塗布回数を増すにつれて、かかる MC の蓄積傾向は強くなる事を明らかにした。かかる知見に基づいて白血病発生機転と MC の造血臓器内分布濃度との間に密接な関係の存する事を指摘し、かかる知見について若干の考察を行なった。

文

- 1) Lorenz, E. and Schimkin, M. B. : Disappearance of intravenously injected Methylcholanthrene in mice of different susceptibility to Pulmonary tumors. *J. Nat. Cancer Inst.*, 2: 491—498, 1942.
- 2) Schimkin, M. B. & Lorenz, E. : Factors influencing the induction of pulmonary tumors in strain A mice by carcinogenic hydrocarbons. *J. Nat. Cancer Inst.*, 2: 499—510, 1942.
- 3) Dao, T. L., Bock, F. G. & Crouch, S. : Level of 3-Methylcholanthrene in mammary glands of rats after intragastric instillation of carcinogen. *Proc. Soc. exp. Biol. & med.*, 102: 635—638, 1959.
- 4) Bock, E. G. & Dao, T. L. : Factors affecting the Polynuclear hydrocarbon level in rat Mammary gland. *Cancer Res.*, 21: 1024—1029, 1961.
- 5) Hoshino, K. & Bernet, M. A. : 3-Methylcholanthrene concentration and clearance in some adipose tissue in mice. *Cancer Res.*, 24: 648—651, 1964.
- 6) Dauben, W. G. and Dorothea, M. : A study of the metabolism of 20-methylcholanthrene. *Cancer Res.*, 11: 216—220, 1951.
- 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) 平木潔: 白血病の発生. 化学物質について, 第16回日本医学会総会学術講演集—日本医学の1963年版—Ⅲ513—521. 1963.
- 9) 入野昭三, 瀬崎達雄, 宗田範: 20—メチルコラントレン塗布による RF 系マウス白血病に関

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わった恩師、平木潔教授、並びに本研究中多大の御援助をいただいた入野昭三講師、瀬崎達雄博士に深甚の謝意を表します。又いろいろの助言を仰いだ本学薬理学教室村岡三郎講師に深謝いたします。

なお、本論文の要旨は昭和39年6月7日、第26回日本血液学会総会において、又、昭和39年11月10日、第23回癌学会総会において発表した。

献

- する研究, *日血会誌*, 25: 258, 1962.
- 10) 入野昭三: 化学物質による白血病の発生、とくにウイルスとの関係, *日新医学* 50: 74—84, 1963.
- 11) Udenfriend, S. : *Fluorescence assay in biology and medicine*. Academic press, New york, 1962.
- 12) 八木国夫, 吉田善一: 蛍光, 南山堂, 東京, 216, 1958.
- 13) 佐々木喜美枝: 発癌物質 (20—メチルコラントレン) の生体内消長に関する研究, 第1報, 尿中メチルコラントレンの蛍光定量法, *四国医誌* 19: 48—54, 1963.
- 14) 佐々木喜美枝: 発癌物質 (20—メチルコラントレン) の生体内消長に関する研究, 第3報, 臓器中の20—メチルコラントレンの定量法, *四国医誌*, 19 (5) 330, 1963.
- 15) Chalmers, J. G. : The Elimination of 3,4-Benzopyrene and other polycyclic hydrocarbons from the mouse. *Biochem. J.* 32: 271—78, 1938.
- 16) Dauben W. G. and Mabee D. A study of the metabolism of 20-MC. *Cancer Res.* 11: 216—220, 1951.
- 17) 佐々木喜美枝: 発癌物質 (20—メチルコラントレン) の生体内消長に関する研究, 第2報, 生体に投与された20—メチルコラントレンの尿中排泄状態について, *四国医誌*, 19 (5) 323—329, 1963.
- 18) Calcutt, G. and Powell A. K. : The control of some factors involved in experimental epidermal carcinogenesis. *Brit. J. Cancer.* 1: 323, 1947.
- 19) Weigert F. : *The Biochemistry of B.P.* III.

- The quantitative estimation of the metabolites. *Cancer Res.* 9: 169—76, 1948.
- 20) Weigert F. and Mottram J. G. : the Biochemistry of Benzpyrene I. A survey and New methods of analysis. *Cancer Res.* 6: 97—108. 1946.
- 21) Heidelberger. C. and Weiß. S. M. : the distribution of radioactivity in mice following administration of 3-4-Benzpyrene-5-C¹⁴ and 1-2-5-6 Dibenzanthracene-9-10-C¹⁴. *Cancer Res* 11: 885—891, 1951.
- 22) Dao TL: Bock F.G. and Greiner M. J.: Mammary Carcinogenesis by 3-methylcholanthrene. II Inhibitory effects of pregnancy and lactation on tumor induction. *J. Natl. cancer Inst.* 25: 991—1003. 1960.
- 23) Shay H : Friedmann B Gruenstein M and Water house. S mammary excretion of 20-methylcholanthrene. *Cancer Res.* 10: 797—800, 1950.
- 24) Bock, F.G. & Burnham. M : The effect of experimental conditions upon the concentration of hydrocarbons in mouse skin after cutaneous application. *Cancer Res.* 21: 510—515, 1961.
- 25) 須崎正則: 20-MC 反復塗布による RF 系マウス白血病発生機序に関する研究. 第 1 篇 20-MC 反復塗布による RF 系マウスリンパ球性白血病発生機序に関する研究. 岡山医学会雑誌, 78 巻 4.5 号 603, 1966.
- 26) 須崎正則: 20-MC 反復塗布による RF 系マウス白血病の発生機序に関する研究. 第 2 篇 20-MC 反復塗布による RF 系マウス骨髄性白血病の発生機序に関する研究. 岡山医学会雑誌, 78 巻 4.5 号. 620—622, 1966.
- 27) 平木潔, 太田善介, 原田英雄, 鈴木信也, 永森 佛一郎: 正常 RF ハツカネズミのリンパ腺よりのウイルス粒子の電子顕微鏡的証明, 医学と生物学 72: 47—50, 1966.
- 28) 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濾液移植に関する研究, 日血会誌 25: 822—830, 1962.
- 29) 平木潔, 入野昭三, 太田善介, 瀬崎達雄: 20-Methylcholanthrene 誘発 RF 系マウス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濾液移植実験. 医学と生物学. 66: 195—198, 1963.
- 30) Irino, S., Ota, Z, Sezaki, T., Suzaki, M. & Hiraki, K. : Cell-free transmission of 20-Methylcholanthrene induces RF mouse leukemia and elektron microscopic demonstration of virus particles in its leukemia tissue. *GANN.*, 54: 225—237, 1963.
- 31) Prehn, R. T. and Main, J. M. : Immunity to methylcholanthrene, induced Sarcomas *J. Nat. Cancer Inst.*, 18: 769—778, 1952.
- 32) Stjerswård, J. : Immunodepressive effect of 3-Methylcholanthrene. Antibody formation at the cellular level and reaction against weak antigenic Homografts. *J. Nat. Cancer Inst.*, 35: 885-892, 1965.

Study of Distribution of 20-Methylcholanthrene in the Organs of RF Mice Given Repeated Administration of 20-Methylcholanthrene.

Part I. Distribution of 20-Methylcholanthrene in the Organs of RF Mice After Repeated Skin Painting.

Jyunichiro MORIYA

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School.
(Director : Prof. Kiyoshi HIRAKI)

With the purpose of elucidating the action of 20-methylcholanthrene in leukemogenesis in RF mice by painting of 20-methylcholanthrene, the author measured quantitatively the distribution of 20-methylcholanthrene in the organs of mice after repeated painting. The state of

excretion of 20-methylcholanthrene in urine after painting was also investigated quantitatively.

I) Urinary excretion of 20-methylcholanthrene after painting: 0.2 cc of 0.5% benzene solution of 20-methylcholanthrene was painted at the back of mice. The average urinary excretion at 6, 12, 18, 24, 30, 36 hours after painting was 4.16, 2.35, 0.876, 0.360, 0.370 and 0.1537 respectively.

II) Distribution of 20-methylcholanthrene in the organs of mice after repeated painting: 0.2 cc of 0.5% benzene solution of 20-methylcholanthrene was painted at the back of mice twice a week and organ methylcholanthrene was measured quantitatively at 2, 4, 6, 12 and 16 weeks after repeated painting.

1) After 2 week painting, organ methylcholanthrene was too small to be measured in amount, but tended to accumulate in bone marrow. The average tissue distribution of methylcholanthrene after 6 week painting was 137.6 μ /g in bone marrow, 113.4 μ /g in thymus, 61.2 μ /g in lymph nodes, 39.4 μ /g in spleen, 15.3 μ /g in kidney, 14.5 μ /g in heart, 10.3 μ /g in salivary gland and 12.3 μ /g in stomach.

2) After 8 week painting there was a marked increase of methylcholanthrene in bone marrow and thymus, and after 10 and 12 week painting, it further increased. After 16 week painting average tissue distribution of methylcholanthrene was 518 μ /g in bone marrow, 239 μ /g in thymus, 29.7 μ /g in spleen, 44.9 μ /g in lymph nodes, 18.6 μ /g in kidney, 19.7 μ /g in stomach, 19.8 μ /g in salivary gland, and 10.4 μ /g in heart.

3) The state of tissue distribution of methylcholanthrene in C₃H mice (resistant to leukemia) was almost the same as compared with that of RF mice.

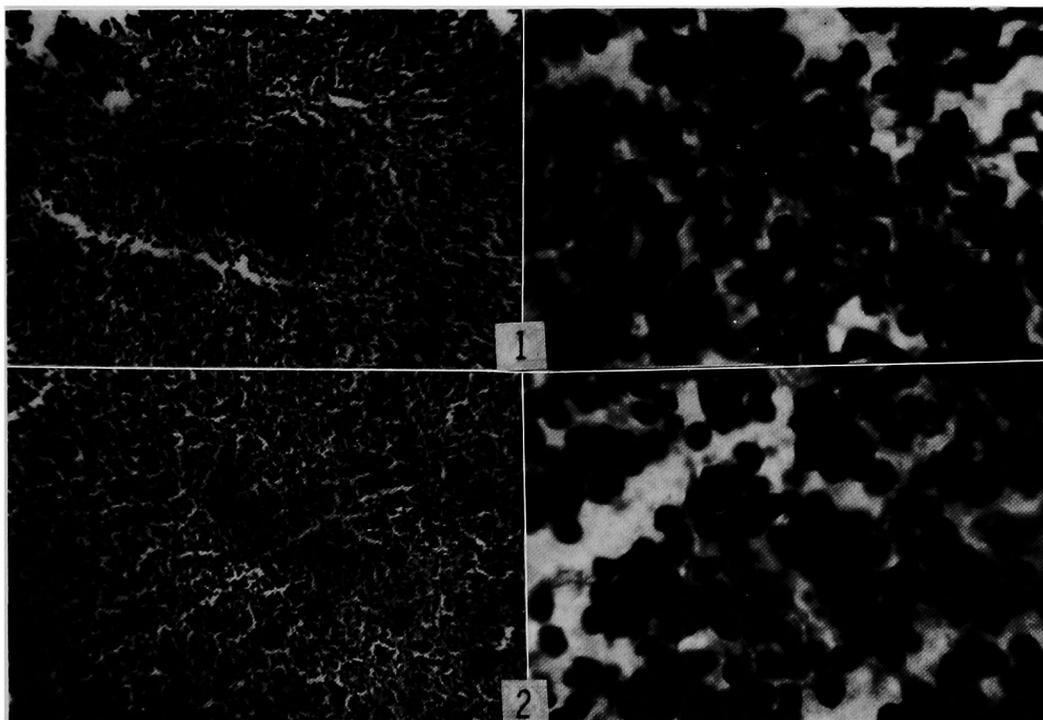
From these findings, it was observed that methylcholanthrene, when repeatedly painted in mice accumulated in a higher concentration in bone marrow and thymus than other organs, suggesting an intimate relationship of the carcinogen and target tissues.

守屋論文附図

写真説明

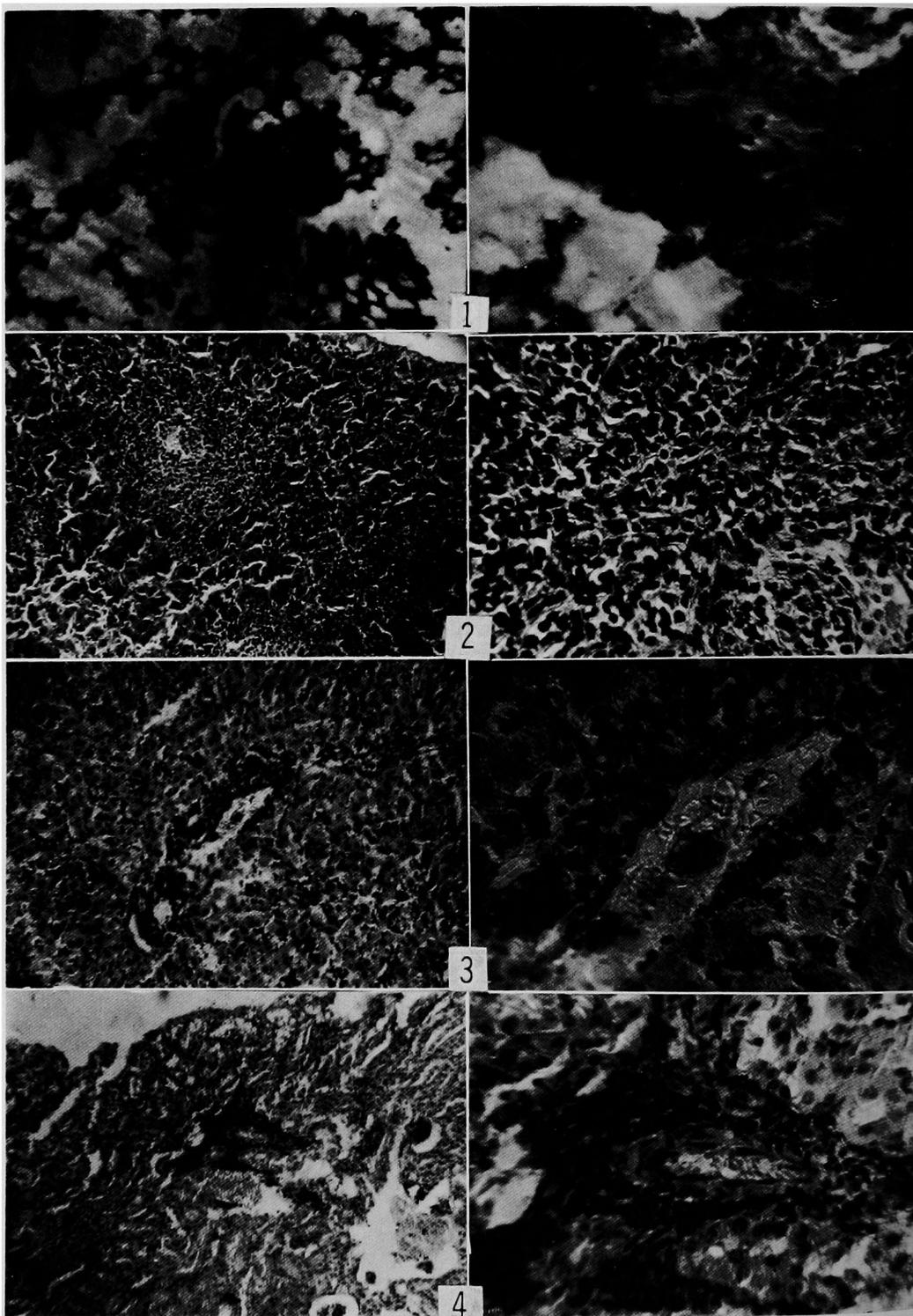
- 写真I 10週間 MC 塗布によつて惹起された淋巴性白血病マウス (No 25 ♂) の脾及び淋巴腺の組織像 左側弱拡大, 右側強拡大
1 脾 2 淋巴腺
何れも白血病細胞の増殖性浸潤著明.
- 写真II 12週間 (1, 2, 3,) 及び16週間(4)の MC 塗布によつて惹起された白血病マウスの各臓器の組織像, 左側弱拡大, 右側強拡大.
1 No 15 マウスの肺臓 (骨髓性白血病)
2 No 15 マウスの肝臓 (骨髓性白血病)
3 No 27 マウスの肝臓 (淋巴性白血病)
4 No 32 マウスの腎臓 (淋巴性白血病)
- 写真III 10週間 (上) 及び12週間 (下) の MC 塗布によつて惹起された淋巴性白血病マウスの末梢血液像 上: No 25 マウス 下: No 27 マウス 淋巴芽球がみられる.

写真 I



守屋論文附図

写真 II



守屋論文附图

写真 III

