

20-Methylcholanthrene の経口投与による RF 系マウス 白血病の発生機構に関する研究

第 1 編

20-Methylcholanthrene の単独経口投与による 白血病の発生について

岡山大学大学院医学研究科 (主任: 大平昌彦教授
主任: 平木 潔教授)

康 逸 雄

[昭和 39 年 2 月 29 日受稿]

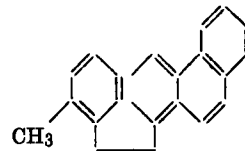
I. 緒 言

発癌性化学物質, 就中最も強力な発癌物質の一つと考えられている 20-methylcholanthrene による白血病の発生に関する実験的研究は, 既に多くの研究者達によつて行なわれており, 数々の知見が報告されている。即ち Mider & Morton¹⁾²⁾ は 1939 年 dba マウスにおいて, 1941 年³⁾ には更に dba, old Buffalo, New Buffalo, C₃H, C₅₇black 等を用いて, methylcholanthrene の塗布によつて前 3 系のマウスに白血病を起させることに成功した。続いて Kirschbaum⁴⁾⁵⁾ (1940, 1953) は, F, C₃H, BALB/C, CBA, および dba/2 マウスにおいて, White⁶⁾ (1941) は dba マウス, Furth⁷⁾ (1941) は Ak, RF マウス, McEndy⁸⁾ (1942) は RF マウス, Law⁹⁾ (1950) は dba マウス, 岡田¹⁰⁾¹¹⁾ (1960) は雑系および dba マウスについて夫々 methylcholanthrene による白血病の発生について報告している。しかしながらこれらの実験はいずれも, 1) methylcholanthrene の塗布によるものであること, 2) 誘発白血病の大部分がリンパ球性白血病であること, 3) 岡田の実験を除いては, 末梢血液像の詳細な検索, 特にその経時的追求は全くなされてないこと, 等の点より, 広く白血病の発生機構の解明のためには断片的, 部分的なものであり, なお解明すべき多くの問題が残されている。

私は従来殆んど行なわれていない, 発癌性化学物質を経口的に投与した場合の白血病発生機構を解明する目的で, RF マウスに 20-methylcholanthrene の経口投与を行なつたところ, リンパ球性白血病の

みならず, 極めて高率に骨髄性白血病をも惹起させることに成功したので, 末梢血液像の経時的検索を中心として, 更に各造血臓器の組織学的検索, 臨床組織培養法等による検索等も併せ行ない, 興味ある知見を得たので報告する。

図 1. 20-Methylcholanthrene の化学構造式



II. 実験方法

1. 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, 平木内科教室で繁殖飼育せるもので, 白血病の自然発生は殆んどみられない, いわゆる白血病嫌発系マウスである。実験には生後 4~6 週間経過した RF 系マウスをほぼ雌雄同数ずつ用いた。RF 系マウスはすべて 20~24°C の恒温純系マウス室にて, 水及びオリエンタル固型飼料を自由に与えて飼育した。

2. 投与材料および投与方法

Dojin Pharmaceutical Laboratories 製の 20-methylcholanthrene C₂₁H₁₆ (図 1) を局方 olive 油に 0.4%, 0.8% の濃度に溶解し, その 1cc ずつをアンプルに封入して用いた。

経口投与にはツベルクリン反应用注射器に先を丸めてやや屈曲させたカテラン針を取付けた自家製の

カテーテル用注射筒(図2)を用い、上記0.4%、0.8% 20-methylcholanthrene の olive 油溶液 0.1~0.15 cc を週3回経口的に注入投与し、白血病が発生するまで継続して行なつた。

図2 経口投与に用いたカテーテル



3. 末梢血液の検査法

Mélangeur, Sahli 氏血色素計および Neubauer 新型血球計算盤はすべて日本血液学会検定済のものを用いた。検血方法は尾部をアルコールで充分消毒乾燥後、尾静脈を鋭利な刺刀で傷つけて採血した。このようにして採血した末梢血液について、赤血球数、白血球数を測定し塗抹標本を作成した。塗抹標本には May-Giemsa 染色を施した。また必要に応じて血色素量、網状赤血球および栓球数検査を行なつた。栓球数算定には Fonio 氏の方法を用い、網状赤血球は Pappenheim 氏法を用いた。血色素係数の計算に際しては赤血球数 1000×10^4 、血色素量 100% の場合の血色素係数を 1 とした。

4. 骨髄、リンパ腺、脾の検査法

屠殺または死後可及的速やかに大腿骨骨髄、脾およびリンパ腺を摘出し、stamp 標本を作製してこれに May-Giemsa 染色を施し観察した。

5. 組織検査法

死後なるべく早く死体を 10% formalin 溶液にて固定後、切片標本を作製し型の如く Haematoxylin-eosin 染色を施し観察した。

6. 臨床組織培養法による検索

白血病の確定診断に極めて有用な平木内科教室考案の臨床組織培養法¹²⁾により、平木式組織培養盤 No. 1 を用いて無菌的に取出した骨髄、リンパ腺、脾、胸腺組織の組織培養を行ないその増生帯を観察して白血病の確定診断を行なつた。

III. 実験成績

1. 骨髄性白血病およびリンパ球性白血病の発生

a. 0.4% 20-methylcholanthrene 溶液投与群

生後4~6週経過した RF 系 マウス 6 匹 (♂ 4 匹, ♀ 2 匹) に 0.4% 20-methylcholanthrene の olive 油溶液を週3回、上記自家製カテーテル(図2)を用いて注入による経口投与を行なつたところ、約16週経過して1例の骨髄性白血病が発生し、1例の Fibrosarcoma と1例の Lungadenoma の発生を見

た。

b. 0.8% 20-methylcholanthrene 溶液投与群
生後4~6週経過した RF 系マウス 20 匹 (♂ 9 匹, ♀ 11 匹) に 0.8% 20-methylcholanthrene olive 油溶液を週3回注入による経口投与を行なつた。その結果9~12週経過後8例の骨髄性白血病と2例のリンパ球性白血病が発生した。上記20匹中4匹 (♂ 2 匹, ♀ 2 匹) は誤飲等の操作上の手違いにより死亡したので、白血病発生率はこの4匹を除外して計算した。

c. 白血病発生率

0.4% 20-methylcholanthrene olive 油溶液の経口投与の場合は、実験動物6例中骨髄性白血病1例が発生し、その発生率は17%であつた。0.8% 20-methylcholanthrene olive 油溶液の経口投与の場合は、実験動物16例中骨髄性白血病8例 (♂ 3 例, ♀ 5 例)、リンパ球性白血病2例 (♂ 1 例, ♀ 1 例) の白血病を発生させ得た。白血病発生率は骨髄性白血病50%、リンパ球性白血病12.5%であつた(表1)。

表1. 20-Methylcholanthrene の経口投与により発生せる RF 系マウス白血病の発生率

	濃 度	例 数	発 生 数	発 生 率
骨 髄 性 白 血 病	0.4%	6	1	17%
	0.8%	16	8	50%
リンパ球性 白 血 病	0.4%	6	0	0
	0.8%	16	2	12.5%

d. 潜伏期および発病後の生存日数

20-Methylcholanthrene の濃度が0.4%の場合は、白血病が発生したのは1例だけではあるが、経口投与を開始してから112日の潜伏期を経て発病しており、発病後2日目に屠殺した。20-methyl cholanthrene の濃度が0.8%の場合では、白血病発生までの潜伏日数が63~83日であり、その平均潜伏日数は72.4日であつた。発病より死亡するまでの生存日数は途中で屠殺したものを除外して2~74日で、平均生存日数は21.5日であつた。

e. 20-Methylcholanthrene の濃度と潜伏期との関係

上述の如く、20-methylcholanthrene の濃度と白血病が発生するまでの潜伏期との間には明らかな差が認められた。即ち0.4%の濃度では白血病発生までに16週間(112日)、0.8%の濃度では9~12週間(平均潜伏期72.4日)の期間を要した。従つて経口

投与する 20-methylcholanthrene の濃度を高めることにより、白血病発生までの潜伏期間をある程度短縮できたと考えられる。

2. 白血病マウスの臨床症状及び剖検所見

a. 白血病マウスは体動不活発、立毛症状、食欲不振、呼吸困難等の症状を呈し、末期には下痢、鼻出血等の症状を呈して死亡した。なお発病後脾腫、腋窩、鼠蹊リンパ腺腫脹等を触知した。また末期には一般的傾向として衰弱症状が認められた。

b. 白血病マウスの剖検所見では、脾、リンパ腺、肝、胸腺において、夫々高度な腫脹を示したものと、中等度～軽度腫脹または全然腫脹のない例等が認められた。なお肺においては、肉眼的に灰白色の粟粒大の浸潤像が散在性に見られる例が認められた（写真1, 2）。

3. 骨髄性白血病症例

a. RFマウスNo.4♂（表2）

本例は 0.4% 20-methylcholanthrene olive 油溶液を経口投与した例である。投与開始後84日目に増加傾向を示した白血球数は96日目には軽度の減少傾向を示し（白血球数12,800）、白血病が発生した112日目には白血球数は163,000の値を示した。その時の末梢血液像は表2に示す通りであるが、骨髄芽球は9%認められ、好中球は81%であつた。リンパ球は大小合せて8%、好酸球は0、単球は2%、核影は20個数えられた。但し核影は白血球100個計算中の値である。発病後注意して経過を観察したところ、白血球数163,000を数えて後2日目に立毛症状著しく呼吸困難を呈し側臥位で活動不活発となつたので屠殺した。屠殺時の白血球数は55,000、赤血球数は

表 2. RF No. 4 ♂ (骨髄性白血病) 末梢血液像

実験日数	1	13	29	43	58	70	84	96	112	114†
赤血球数(万)										820
白血球数	15,000	10,300	9,800	12,800	17,300	13,400	20,300	12,800	163,100	55,000
血色素量(%)										88
血色素係数										1.07
粒球数(万)										
網状赤血球(%)										
骨髄芽球									9%	10%
好中球	前骨髄球							1%	11%	12%
	骨髄球				1%		1%	2%	18%	15%
	後骨髄球	2%		1%	11%	5%	4%	3%	7%	20%
	桿状球	23%	37%	12%	29%	19%	14%	27%	21%	24%
	II ~ V	9%	7%	1%	14%	3%	3%	3%	13%	8%
合計	34%	44%	14%	55%	27%	21%	34%	44%	81%	84%
リンパ球	小リンパ球	59%	47%	82%	34%	64%	67%	58%	44%	7%
	大リンパ球	3%	4%	2%	3%	5%	6%	2%	5%	1%
	合計	62%	51%	84%	37%	69%	73%	60%	49%	8%
好酸球	2%	2%	2%	6%	3%	4%	4%	5%	0%	0%
単球	2%	3%	0%	2%	1%	2%	2%	2%	2%	2%
形質細胞核影※								3ヶ	20ヶ	10ヶ
備考										屠殺

(註) ※; 白血球100ヶ計算中の値

820×10⁴、血色素係数は1.07の値を示した。剖検所見では脾の軽度腫脹、胸腺、腋窩部、鼠蹊部、腸間膜リンパ腺の軽度腫脹と肺に多数の浸潤像が認められた。その際作製した骨髄、脾、リンパ腺の stamp

標本を鏡検するといずれも白血病細胞が瀰漫性に著明に浸潤しているのが認められた。

b. RFマウス No.14♀（表3, 写真3）

本例は 0.8% 20-methylcholanthrene olive 油溶

第 3. RF No. 14♀ (骨髓性白血病) 末梢血液像

実験日数		1	16	35	63	76	80†
赤血球数(万)							
白血球数		8,400	12,600	13,800	15,600	55,100	
血色素量(%)							
血色素係数							
栓球数(万)							
網状赤血球(‰)							
骨髓芽球						8%	
好中球	前骨髓球				5%	8%	
	骨髓球			2%	7%	9%	
	後骨髓球	2%	1%	14%	14%	9%	
	桿状球	19%	16%	24%	41%	35%	
	Ⅱ ~ V	5%	8%	5%	7%	6%	
	合計	26%	25%	45%	74%	67%	
リンパ球	小リンパ球	65%	60%	43%	16%	21%	
	大リンパ球	5%	3%	5%	4%	2%	
	合計	70%	63%	48%	20%	23%	
好酸球	好酸球	1%	8%	2%	3%	0	
	単球	3%	4%	5%	3%	2%	
形質細胞核影※	形質細胞核影					2ヶ	
	核影						
備考							死亡

(註) ※; 白血球100ヶ計算中の値

液を経口投与した例である。投与開始後発病までの末梢血液所見は表3の如くである。白血球数はやや漸増傾向を示しながら投与開始後76日の潜伏期を経て骨髓性白血病が発生した。発病時の白血球数は55,100で、その末梢血の塗抹標本では骨髓芽球は8%認められ、好中球は67%であった。リンパ球は23%、好酸球は0、単球は2%であった。本例の剖検所見では肝臓の著しい腫脹と、脾および胸腺の腫脹が認められ、リンパ腺の腫脹は見られなかった。肺においては灰白色の浸潤像が肉眼で認められた。大腿骨骨髓、脾、リンパ腺のstamp標本では白血病細胞の浸潤が著明であった。なお、本例の骨髓、脾、胸腺、リンパ腺の組織を無菌的に取り出し、平木式臨床組織培養法により、平木式組織培養盤No. 1を用いて組織培養を行なったところ、骨髓および脾組織では増生帯辺縁の境界は鋭利となり、所謂急性白血病型を呈したが、胸腺およびリンパ腺組織の培養所見はむしろ低形成の像を示した。

c. RF マウス No. 54 ♂ (表4)

本例は0.8% 20-methylcholanthrene olive 油溶液を経口投与した例である。投与開始後、83日の潜伏期を経て骨髓性白血病が発生した。白血球数の推移ならびに末梢血液像は表4に示してあるが、白血球数は20-methylcholanthrene 投与開始後漸増傾向を示しながら発病し、前白血病期を捉えることはできなかった。白血病発病後白血球数は一次やや減少傾向を示して後再び増加し、末期になると又減少傾向を示した。末期の臨床症状は一般状態が極めて悪く、立毛症状を伴ない活動不活発となり、絶えずうずくまっている状態で体全体を小きざみに震わせていた。末期の血液所見は表4に示す如く、赤血球数850万、血色素量75%、血色素係数は1.13を示し軽度の高色素性貧血の状態を呈していた。白血球数は8,000で前回測定時の白血球数42,000から急激な減少傾向を示した。栓球数は 20.4×10^4 で出血傾向は見られなかった。検血後数時間を経て死亡した。生存日数は本例が一番長く74日であった。剖検所見では肝臓がやや腫大しており、胸腺およびリンパ

表 4. RF No. 54 ♂ (骨髓性白血病) 末白血液像

実験日数		1	23	39	70	83	110	148	157†
赤血球数(万)									850
白血球数		9,300	9,900	20,100	28,300	30,300	13,500	42,000	8,000
血色素量(%)									75
血色素係数									1.13
栓球数									20.4
網状赤血球(‰)									
骨髓芽球						2%	2%	6%	6%
好中球	前骨髓球				2%	3%	2%	10%	8%
	骨髓球			2%	8%	4%	8%	14%	14%
	後骨髓球	2%	3%	5%	11%	14%	12%	19%	16%
	桿状球	17%	20%	23%	36%	44%	47%	22%	24%
	II ~ V	3%	4%	3%	1%	3%	0	1%	9%
合計		22%	27%	33%	58%	68%	69%	66%	71%
リンパ球	小リンパ球	68%	53%	52%	26%	15%	20%	19%	21%
	大リンパ球	6%	4%	6%	4%	4%	5%	5%	1%
	合計	74%	57%	58%	30%	19%	25%	24%	22%
好酸球	好酸球	2%	6%	3%	9%	9%	3%	1%	0
	単球	2%	10%	6%	3%	2%	1%	3%	1%
形質細胞核影※	形質細胞核影※							6ヶ	12ヶ
	核影※								
備考								体立脾動毛不症活状腫滲	振顫症状 検血後死亡

(註) ※; 白血球100ヶ計算中の値

腺の腫脹は見られなかつた。脾臓の腫脹は著しく、暗褐色を呈し腹腔前面の全域を覆う感があつた。本例の末梢血液像は、白血病発病後死亡するまでの間に骨髓芽球2~6%, 好中球は66~71%, リンパ球は22~25%, 好酸球は0, 単球は1~3%の間を変動した。本例の骨髓および脾組織の stamp 標本においても白血病細胞の浸潤が著明に認められた。

d. その他の骨髓性白血病症例(表5)

上述以外に0.8% 20-methylcholanthrene olive 油溶液を経口投与して発生させた6例の骨髓性白血病の症例についてみると、前白血病期における白血球数の軽度の減少傾向を示す1例を除いて、著明な減少傾向を示す例を把握することはできなかつた。しかしこのことは白血病発生の時期と検血を実施した時期とのずれを考慮しなければならないと思う。これら6例の末梢血液所見を骨髓性白血病発生時に焦点を合せて比較してみると、表5に示されている如

くで、白血球数は25,400~100,300, 骨髓芽球3~7%, 好中球は71~84%, リンパ球は8~22%, 好

表5. 骨髓性白血病症例

a. 白血病発生時の末梢血液像

番号 性別	No. 15	No. 16	No. 43	No. 53	No. 56	No. 57
	♀	♀	♀	♂	♀	♀
潜伏日数	76	63	70	70	70	70
生存日数	4	11	屠殺	屠殺	屠殺	2
白血球数	98,500	25,400	99,000	100,300	40,000	67,300
骨髓芽球	7%	3%	4%	3%	4%	4%
好中球	76%	71%	73%	84%	79%	79%
リンパ球	13%	19%	22%	8%	14%	15%
好酸球	2%	4%	0	4%	2%	1%
単球	1%	3%	1%	1%	1%	1%
核影※	7ヶ	0				3%
その他	鼻出血					

(註) ※; 白血球100ヶ計算中の値

表5. 骨髄性白血病症例

b. 解剖所見

臓器	番号性別	No. 15	No. 16	No. 43	No. 53	No. 56	No. 57
		♀	♀	♀	♂	♀	♀
肝臓		卅	±	卅	+	+	+
脾臓		卅	±	+	±	+	+
リンパ腺		±~+	±	±	±	±	±
胸腺		卅	卅	卅	±	卅	卅
その他		鼻出血					

±~卅腫脹の程度 ±: 腫脹のないもの

+ : 軽度腫脹 卅~卅: 高度腫脹

酸球は0~4%, 単球は1~3%であつた。

脾臓は6例中4例が軽度の腫脹を示し、2例は変化なく、肝臓は6例中1例の著明な腫脹を呈しているものと、4例の軽度腫脹、1例の変化のないものがあつた。リンパ腺は1例の軽度腫脹をしたものを除き、残り5例は腫脹が認められなかつた。胸腺は3例の軽度腫脹と3例の著明な腫脹を呈しているものが見られた。なお、1例(RFマウス No.15 ♀)に鼻出血が認められた。

4. リンパ球性白血病症例

以下に述べる2例のリンパ球性白血病は、いずれも0.8% 20-methylcholanthrene olive 油溶液の注入による経口投与により惹起せしめた例である。

a. RFマウス No.11 ♂ (表6)

本例は20-methylcholanthrene の経口投与開始後63日の潜伏期を経てリンパ球性白血病が発生した。本例の末梢血液所見は表6に示してある。前白血病期の白血球数減少傾向は検血の時期的関係が一致しなかつたためか捉えることはできなかつた。白血病期の白血球数は55,400、その時の末梢血液像は好中球16%, リンパ球71%, リンパ芽球は11%, 好酸球、単球はそれぞれ1%, 核影は6個認められた。但し核影は白血球100個計算中の値である。本例は最終検血後6日目に下痢症状を伴なつて死亡した。死後の剖検所見では、肝、脾、胸腺およびリンパ腺がそれぞれ軽度に腫脹しているのが認められた。

b. RFマウス No. 44 ♀ (表7, 写真12)

本例は20-methylcholanthrene の経口投与開始後、83日の潜伏期を経てリンパ球性白血病が発生した。白血球数は20-methylcholanthrene の経口投与開始後漸増傾向を示しながら発病に到っている。本例の末梢血液所見は表7に示してある。白血病期の

表6. No.11 ♂ (リンパ球性白血病) 末梢血液像

実験日数	1	16	35	63	69†
赤血球数(万)					
血色素量(%)					
血色素係数					
白血球数	15,900	13,100	12,400	55,400	
栓球数(万)					
網状赤血球(%)					
リンパ球	リンパ芽球				11%
	小リンパ球	59%	61%	76%	66%
	大リンパ球	7%	9%	7%	5%
合計	66%	70%	83%	71%	
好中球	後骨髄球	1%	2%		
	桿状球	20%	16%	6%	13%
	II~V	5%	3%	1%	3%
合計	26%	21%	7%	16%	
好単形質細胞核	酸球	4%	8%	7%	1%
	単球	4%	1%	3%	1%
	核影※				6ヶ
備考					下死 痢症 状亡

(註) ※: 白血球100ヶ計算中の値

白血球数は90,000であり、その時の末梢血液像においては、好中球はわずか2%であつた。リンパ芽球は3%, リンパ球は大小合せて93%であつた。検血2日後には立毛症状、呼吸困難および下痢症状が激しく、非常に衰弱したので屠殺した。屠殺時の赤血球数は 379×10^4 、血色素量60%, 血色素係数1.58で極めて高度の高色素性貧血を呈していた。栓球数は68,500であつた。白血球数は40,000、その血液像はリンパ芽球10%, リンパ球75%, 好中球12%であつた。剖検所見は、淡い赤褐色を呈した巨大な脾臓と、腫脹の度合の著しい胸腺および肝臓が認められた。リンパ腺の腫脹は軽度であつた。骨髄、脾、リンパ腺のstamp標本において、リンパ芽球と考えられる幼若細胞の著しい浸潤が認められた。

5. Fibrosarcoma と Lungadenoma の例

0.4% 20-methylcholanthrene olive 油溶液を経口投与したRF系マウス6例中1例のFibrosarcomaと1例のLungadenomaが発生した。

表 7. RF No. 44 ♀ (リンパ球性白血病) 末梢血液像

実験日数		1	23	39	70	83	85†
赤血球数(万)							379
血色素量(%)							60
血色素係数							1.58
白血球数		8,300	11,600	15,300	18,300	90,000	40,000
粒球数(万)							6.85
網状赤血球(%)							
リンパ球	リンパ芽球					3%	10%
	小リンパ球	80%	81%	66%	46%	85%	66%
	大リンパ球	6%	4%	8%	10%	8%	9%
	合計	86%	85%	74%	56%	93%	75%
好中球	後骨髄球	1%			2%		
	桿状球	8%	8%	17%	32%	2%	8%
	II ~ V	2%	1%	1%	2%	0	4%
	合計	11%	9%	18%	36%	2%	12%
好酸球	球	1%	2%	2%	5%	1%	1%
	球	2%	4%	6%	3%	1%	2%
単形核	質細胞影※						
						7ヶ	12ヶ
備考							立衰屠毛弱殺、高度下痢症状

(註) ※：白血球100ヶ計算中の値

a. Fibrosarcoma の例 (写真 22)

この例は雄で、0.4% 20-methylcholanthrene の投与開始後約 7 週間を経過して右側頸部に小指頭大の腫瘍を形成し、約 2 週間後には母指頭大にまで大きくなり、一時腫瘍の一部が裂けて乾酪質の物質を出してつぶれたが、潰瘍は形成しなかつた。その後約 4 週間経過して再び腫瘍が大きくなり母指頭大の大きさまでになった。そして 20-methylcholanthrene 投与開始後 161 日目 (23 週) に全身衰弱と呼吸困難を伴って死亡した。死後腫瘍組織を Haematoxylin-eosin 染色を施し鏡検したところ、組織学的には Fibrosarcoma であることが認められた。20-methylcholanthrene の経口投与開始後死亡するまでの末梢血液の変化をみると、白血球数は一時 37,300 にまで増加したが、以後 15,600 から 22,000 の間を変動していた。なお末梢血液像においては、骨髓性、或はリンパ球性の幼若細胞は認められなかつた。

b. Lungadenoma の例 (写真 24)

この例は雌で、0.4% 20-methylcholanthrene 溶液の経口投与開始後白血球数は 7,600~28,000 の間を変動し、投与開始後 135 日目に原因不明で死亡した。剖検所見では胸腺の軽度腫脹以外は別段所見なく、組織学的検査の結果 Lungadenoma であることが判明した。なお末梢血液像においては骨髓性ならびにリンパ球性の幼若細胞は認められなかつた。

c. Lungadenoma への移行形 (写真 23)

これは 0.8% 20-methylcholanthrene olive 油溶液を経口投与した RF 系マウス群の 1 例で、上述したリンパ球性白血病を惹起した No.11 ♂ である。この例は前述したようにリンパ球性白血病発病後間もなく死亡しているが、死後組織学的検索の結果 Lungadenoma への移行過程を示す初期像が発見された。これはリンパ球性白血病とは無関係に生じたものであると考えられるが、病理発生学的には興味ある問題であると考えられる。

6. 白血病マウス組織像

a. 骨髓：骨髓性白血病マウスでは、骨髓は瀰漫性に白血病細胞が浸潤しており、かかる浸潤像は検索した大腿骨、胸骨、骨盤、肩甲骨、上腕骨のすべてに認められ、また所により一部骨を破壊して骨周囲組織にも浸潤が及んでいるものもあつた（写真4, 5, 13）。

b. リンパ腺：リンパ球性白血病においては、白血病細胞の浸潤が著明で、本来の構造は殆んど破壊され無構造になつていた。骨髓性白血病マウスでも検索を行なつた段階では、リンパ腺への白血病細胞浸潤はかなり高度であつた（写真6, 14, 15）。

c. 脾：白血病細胞の浸潤著明で、脾本来の正常構造が殆んど破壊され無構造になつていた。また巨核球が散在性にみとめられた（写真7, 16, 17）。

d. 肝：白血病細胞が Glisson 氏鞘に著明に浸潤しており、Sinusoid の中にもかなりの程度に浸潤しているのが認められた。そのために肝細胞は圧迫萎縮し、所々全く消失していた。また一部 necrosis を起している部分も認められた（写真8, 9, 18, 19）。

e. 胸腺：検索した殆んどすべての白血病マウスにおいて、胸腺組織はリンパ腺と同様に著明な白血病細胞の浸潤で元の構造が無構造になつているのが認められ、一部 necrosis のみられたものもあつた（写真10, 20）。

f. 肺：灰白色の浸潤像が肉眼で識別できる程に著明な浸潤が認められた。主に気管枝の周囲に輪状に浸潤しており、一部は肺胞の中にも浸潤していた。うつ血もかなり著明ではあるが、炎症性細胞の浸潤はみられなかつた（写真11, 21）。

g. 胃：粘膜固有層と粘膜筋層との間に白血病細胞の浸潤が認められたが、胃粘膜は著明な変化はみられなかつた。

h. その他の組織：唾液腺および睪丸の組織においては、浸潤の度合は軽度で、本来の構造が保たれていた。

IV. 考 按

今回の実験成績は RF 系マウスにおいては 20-methylcholanthrene の経口投与によつて、かなり高率に白血病の発生がみられること、しかもその大部分は骨髓性白血病であることを示している。

methylcholanthrene によるマウス白血病の発生に関する従来の研究は主としてその塗布によるものであり、且つ発生せる白血病は主としてリンパ球性白

血病であつた。Stewart & Lorenz¹³⁾ はマウスにおいて methylcholanthrene の経口投与による広汎な実験を行なつているが、白血病は1例も起らなかつたと報告している。

Methylcholanthrene の塗布によるマウス白血病の発生率については、その投与方法、濃度、マウスの種類等により非常に差があるが、Mider & Morton³⁾ によれば、dba 系 212 亜系においては 98.7%，C₃H では 10.8%，New Buffalo 17.2%，old Buffalo 5.4% で、C₅₇black, C albino では白血病は1例も発生していない。Kirschbaum⁴⁾ は F 系では 34.9%，C₃H では 3.1% で、CHI, NH, C₅₇, CBA では1例の白血病も起らなかつたと報告している。Furth⁷⁾ は AK では 58%，RF では 34%，岡田¹⁰⁾¹¹⁾ は雜系及び ddN 均一系では約 17%，dba では 10% において白血病の発生を認めている。本実験では 0.4% および 0.8% の methylcholanthrene の経口投与によりそれぞれ 17%，62.5% の白血病の発生をみとめ、従来の報告に比しかなり高率である。

先にも述べた如く、マウス白血病は、自然発生日白血病でも、誘発白血病においても、その大部分はリンパ球性白血病であり、骨髓性白血病については、McEndy⁸⁾ は RF について、Kirschbaum⁴⁾ は F マウスについて、ごく少数例に認めているが、その報告は極めて少ない。

1954 年 Furth¹⁴⁾ は RF マウスに X 線照射を行ない、かなり高率に骨髓性白血病を起こし得ることを報告したが、平木、入野¹⁶⁾¹⁷⁾ らによるとやはりその大部分はリンパ球性白血病であり、骨髓性白血病は 53 例中僅か 1 例にみとめたに過ぎない。本実験では 0.4% methylcholanthrene の経口投与によつて 17% に骨髓性白血病を、更に 0.8% の濃度では 50% に骨髓性白血病、12.5% にリンパ球性白血病を惹起することができた。methylcholanthrene の経口投与による骨髓性白血病の発生機序については不明であるが、平木¹⁸⁾¹⁹⁾ らおよび入野²⁰⁾ は RF マウスに methylcholanthrene を塗布することによつても同じく骨髓性白血病が発生することを認め（骨髓性白血病 25 例中 10 例、40%，リンパ球性白血病 25 例中 12 例、48%）、瀬崎²¹⁾ らは 20-methylcholanthrene の塗布により惹起せしめた白血病マウスの臓器内 methylcholanthrene の分布を Farrand の Spectrofluorometer を用いて測定し、骨髓及び胸腺に特に高濃度の分布を認めており、かかる 2 つの実験より、先づ methylcholanthrene に対する RF 系マウスの

感受性と同時に、その骨髓内への高濃度の分布が重要な役割を演じているものと考えられる。

マウス白血病の原因として、Gross²²⁾²³⁾ の自然発生 AKR マウス白血病に関する研究以来、その発生にウイルスが重要な役割を演じていると主張するウイルス説が有力であるが、更に近年に到り、平木、入野¹⁹⁾²⁰⁾²⁴⁾ らは 20-methylcholanthrene の塗布によつて惹起せしめた RF 系マウス白血病の無細胞濾液の移植に成功し、且その白血病組織より電顕的にウイルス粒子を証明し、その白血病発生機序として methylcholanthrene による潜在性不活性ウイルスの活性化によるものと考えているが、今回認められた methylcholanthrene の経口投与による白血病の発生機構に関しても当然同様の推定がなされるところであるが、これが解明には尚今後の研究にまたねばならない。

V. 結 論

1) RF 系マウスに 20-methylcholanthrene の 0.4%, 0.8% の olive 油溶液 0.1~0.15cc を週 3 回、自家製カテーテル用注射筒を用い経口投与を行ない、骨髓性白血病ならびにリンパ球性白血病を発生させることに成功し、その発生機序を末梢血液像、

組織学的検索および臨床組織培養法等により追求した。また少数ではあるが、線維肉腫および肺腺腫の発生も認めた。

2) 白血病は主として骨髓性白血病で、白血病発生率は 20-methylcholanthrene の濃度に比例して高率を示した。即ち 0.4% の濃度では 17% の骨髓性白血病、0.8% の濃度では 50% の骨髓性白血病、12.5% のリンパ球性白血病が発生した。

3) 白血病マウスについては、組織学的に骨髓、脾、リンパ腺、胸腺等全身諸臓器に白血病細胞の浸潤を認め、臨床組織培養法により白血病の診断を確定した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師平木 潔教授、大平昌彦教授、並びに本研究中多大の御援助をいただいた平木内科入野昭三講師、瀬崎達雄先生、平木内科教室員各位および衛生学教室員各位に深甚の謝意を表します。

(本論文要旨は昭和37年5月第24回日本血液学会総会、昭和37年10月第21回日本癌学会総会において発表した)

文 献

- 1) Mider, 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.
- 2) Morton, J. J., and Mider, G. B.: The production of lymphomatosis in mice of known genetic constitution. *Science*, 87, 327~328, 1939.
- 3) Morton, J. J., and Mider, G. B.: Some effects of cacinogenic agents on mice subject to spontaneous leukoses, *Cancer Res.*, 1, 95~98, 1941.
- 4) Kirschbaum, A., Strong, L. C., and Gardner, W. U.: Influence of methylcholanthrene on age incidence of leukemia in several strains of mice. *Proc. Soc. Exp. Biol & Med'*, 45, 287~289, 1940.
- 5) Kirschbaum, A., Shapiro, J. R., and Mixer, H. W.: Synergistic action of leukemogenic agents. *Cancer Res.*, 13, 292~268, 1953.
- 6) White, J., and Mider, G. B.: The effect of dietary cystine on the reaction of dilute brown mice to methylcholanthrene (preliminary report). *J. Nat. Cancer Inst.*, 2, 95~97, 1941~1942.
- 7) Furth, J., and Barnes, W. A.: Differences between malignant blood cells from induced and spontaneous leukemias of mice. *Cancer Res.*, 1, 17~22, 1941.
- 8) McEndy, D. P., Boon, M. C., and Furth, J.: Induction of leukemia in mice by methylcholanthrene and x-rays. *J. Nat. Cancer Inst.*, 3, 227~247, 1942.
- 9) 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.
- 10) 岡田耕一: 20-Methylcholanthrene によるハツカネズミリンパ性腫瘍の研究。第1編、末梢血液像に関する研究。岡山医学会雑誌, 72巻, 1133~1154, 1960.

- 11) 岡田耕一: 20-Methylcholanthrene によるハツカネズミ白血病の研究. とくにその成立機転について. 医学と生物学, 54, 134~138, 1960.
- 12) Hiraki, K.: Studies on diagnosis of leukemia by tissue culture, *Acta Med. Okayama*, 12, 84~91, 1958.
- 13) Stewart, H. L., and Lorenz, E.: Induction of adenocarcinoma of the pyloric stomach by methylcholanthrene. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 2, 193~96, 1941.
- 14) Furth, J., and Upton, A. C.: Induction of leukemia by ionizing irradiation. *Leukemia Research*, 146~161, J. & A. Churchill, Ltd., 1954.
- 15) 入野昭三, 小塚 堯, 宗田 範: X線照射により惹起せしめた RF 系マウス白血病に関する研究. 第1報, 日血会誌, 24, 283§~284§, 1961.
- 16) Hiraki, K., Irino, S., and Sota, S.: Studies on cytogenesis of RF mouse leukemia induced by x-ray irradiation. 8th Congr. Europ. Soc. Haemat., 347, 1962.
- 17) 平木 潔, 入野昭三, 宗田 範, 池尻孝治: X線照射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, 816~821, 1962.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 瀬崎達雄, 須崎正則, 入野昭三: 20-Methylcholanthrene により惹起せる白血病ハツカネズミの臓器内 methylcholanthrene 分布, 医学と生物学, 67, 65~71, 1963.
- 22) Gross, L.: "Spontaneous" leukemia developing in C₃H mice following inoculation, in infancy, with AK-leukemia extracts or Ak-embryo. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 76, 27~32, 1951.
- 23) Gross, L.: *Oncogenic viruses*. Pergamon Press, 1961.
- 24) Irino, S., Ota, Z., Sezaki, T., and Suzaki, M.: Cell free transmission of 20-methylcholanthrene-induced RF mouse leukemia and electron microscopic demonstration of virus particles in its leukemic tissue. *GANN*, 54, 225~237, 1963.

Studies on Leukemogenesis in RF Mice by Oral Administration of 20-methylcholanthrene. I. Induction of Leukemia by Oral Administration of 20-methylcholanthrene

By

Itsuo Ko

Okayama University Postgraduate School of Medicine

1) RF mice were fed three times a week with 0.1—0.15 cc of 0.4 and 0.8% 20-methylcholanthrene in olive oil by means of a needle of a catheter. The mode of development of myelogenous and lymphocytic leukemias in these mice was studied by observation of the peripheral blood picture, histological change and clinical tissue culture. A fibrosarcoma and lungadenomas were also observed in a mouse, respectively.

2) Leukemias induced were mainly myelogenous and their incidence was proportional to the concentrations of 20-methylcholanthrene administered. Of mice given 0.4% solution of the carcinogen, 17% developed myelogenous leukemia while of mice given 0.8% solution, 50% developed myelogenous and 12.5% lymphocytic leukemia.

3) Histologically all the leukemic mice showed leukemic infiltration in many organs including the bone marrow, spleen, lymph nodes and thymus. Clinical tissue culture of these organs confirmed the diagnosis of leukemia.

康 論 文 附 図

写真 1. 骨髓性白血病剖検例



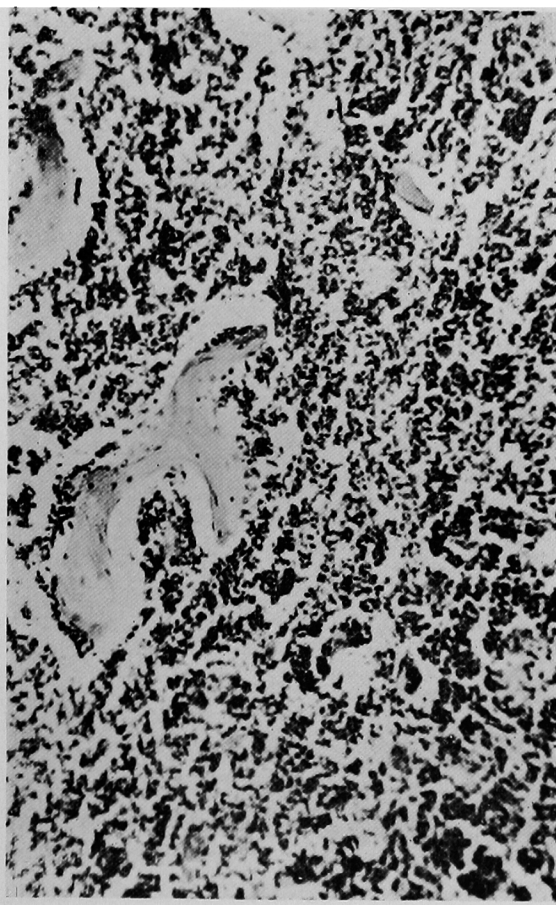
写真 2. 骨髓性白血病剖検例



写真 3. 骨髓性白血病, 末梢血液像, $\times 1000$



写真 4. 骨髓性白血病, 骨髓, $\times 100$



康 論 文 附 図

写真 5. 骨髓性白血病, 骨髓, ×400

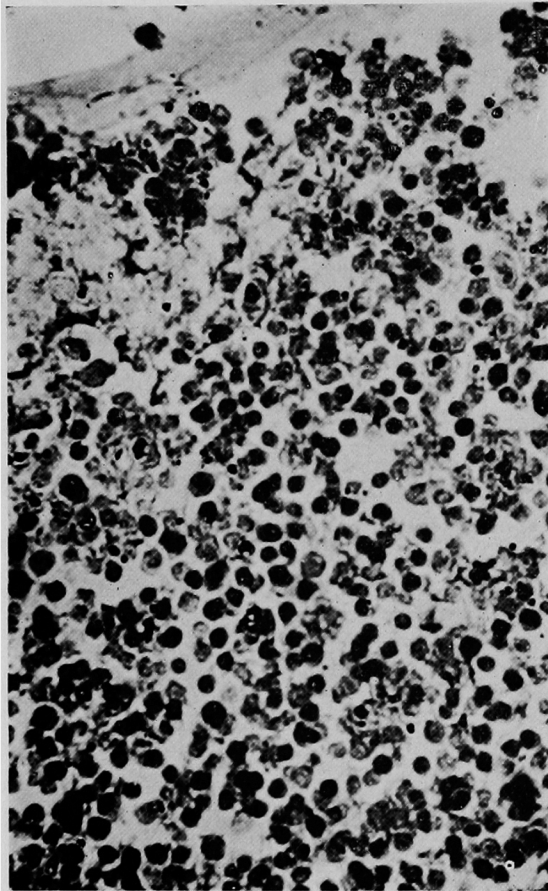


写真 6. 骨髓性白血病, リンパ腺, ×100

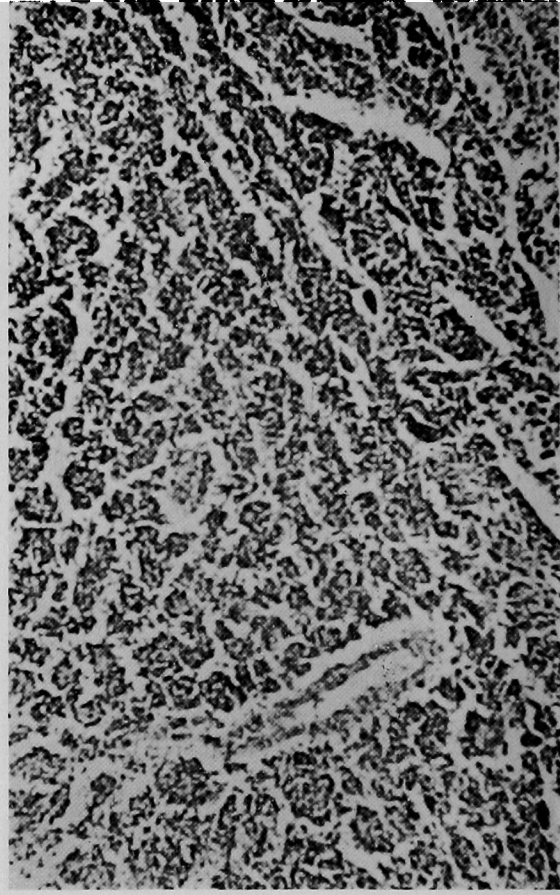


写真 7. 骨髓性白血病, 脾, ×100

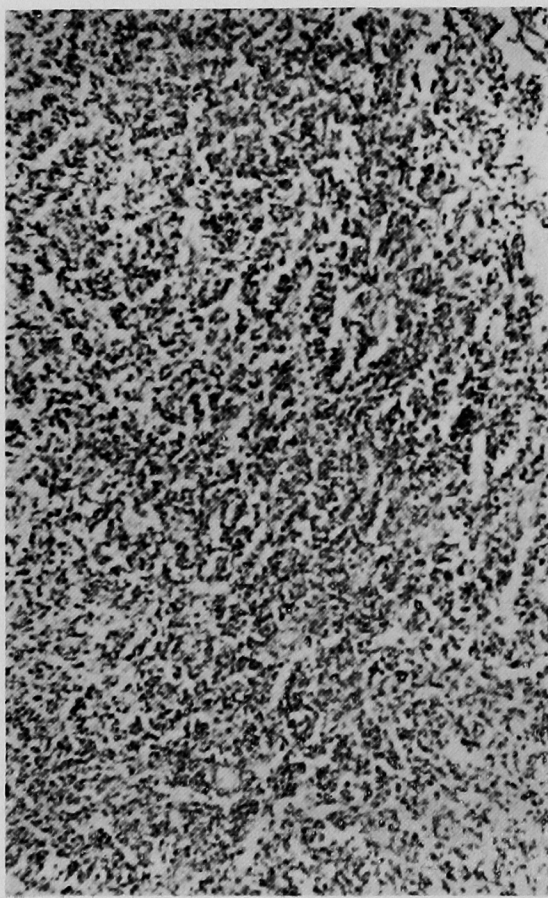
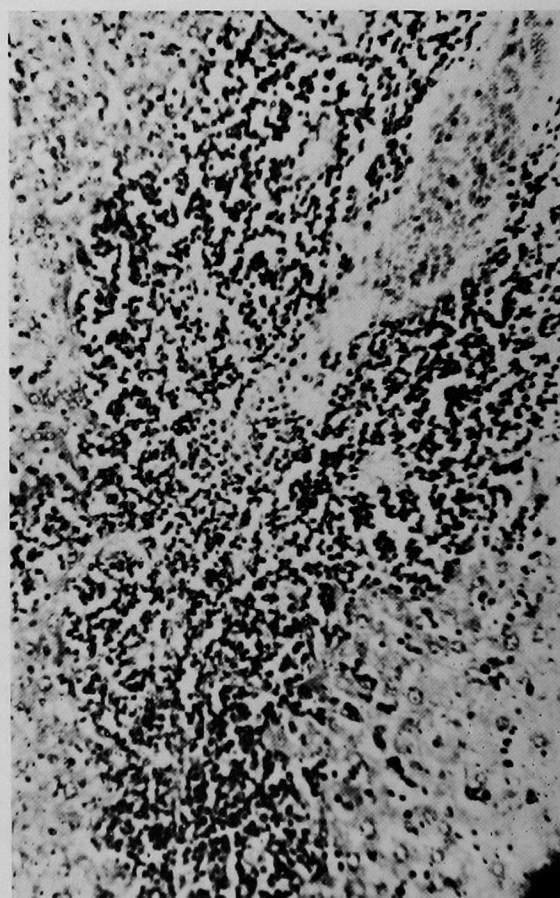


写真 8. 骨髓性白血病, 肝, ×100



康 論 文 附 図

写真9. 骨髄性白血病, 肝, ×400

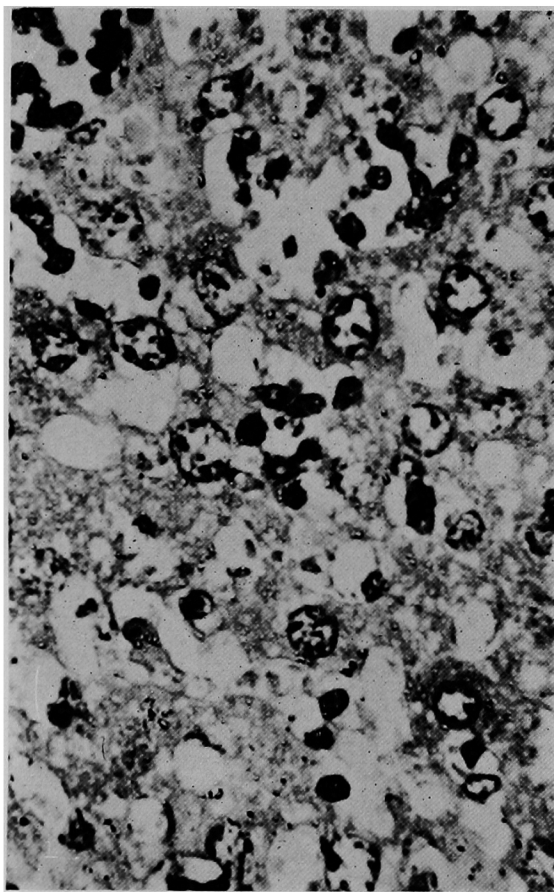


写真 10. 骨髄性白血病, 胸腺, ×100

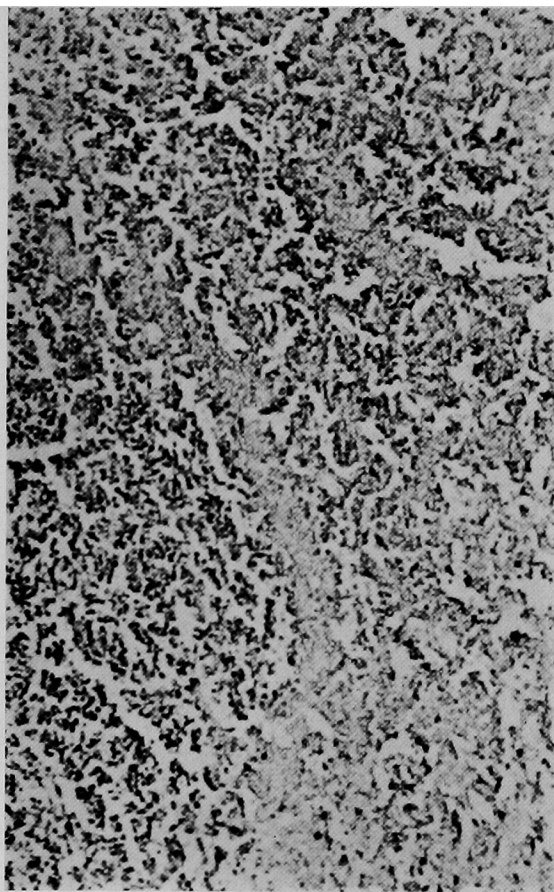


写真 11. 骨髄性白血病, 肺, ×100

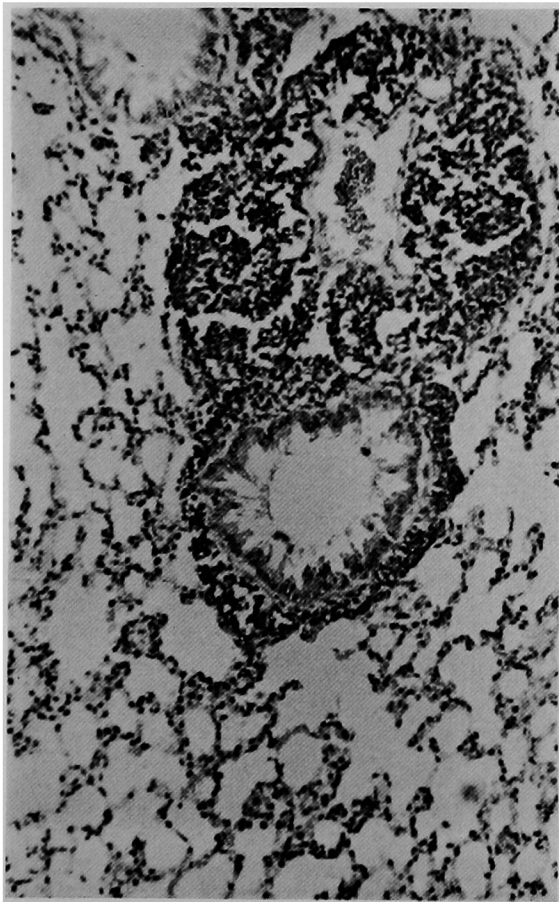
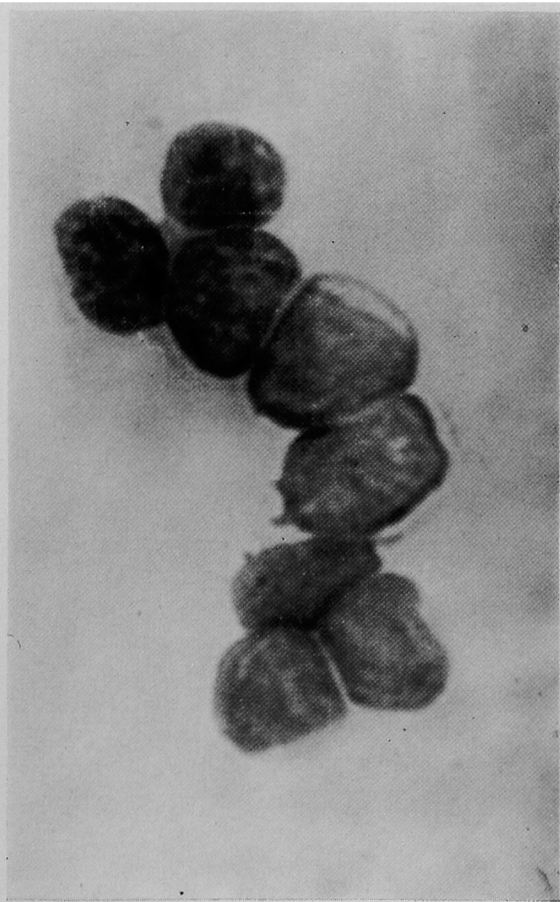


写真 12. リンパ球性白血病, 末梢血液像, ×1000



康 論 文 附 図

写真 13. リンパ球性白血病, 骨髓, ×100

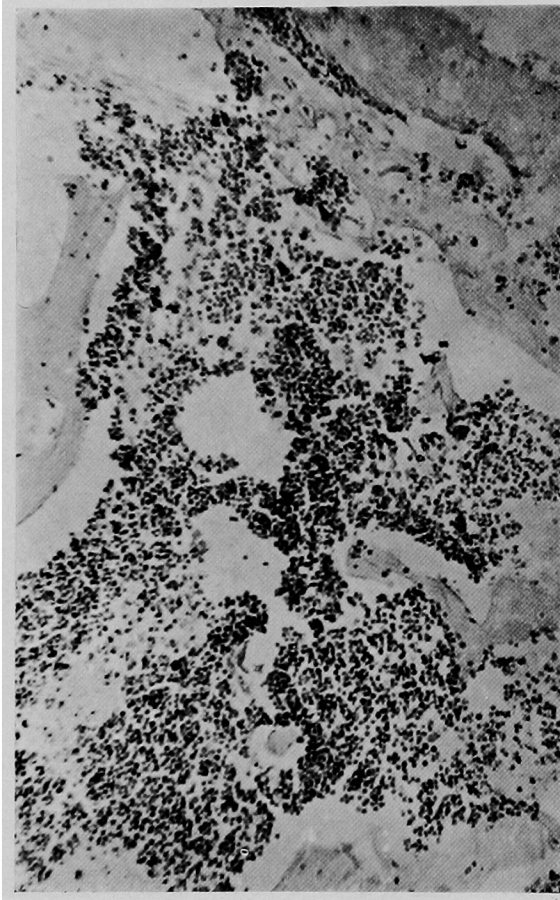


写真 14. リンパ球性白血病, リンパ腺, ×100

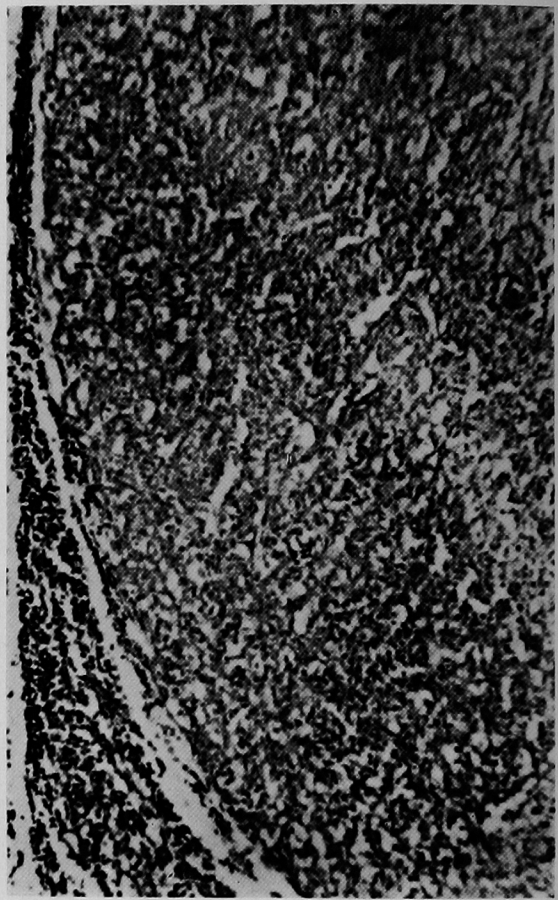


写真 15. リンパ球性白血病, リンパ腺, ×400

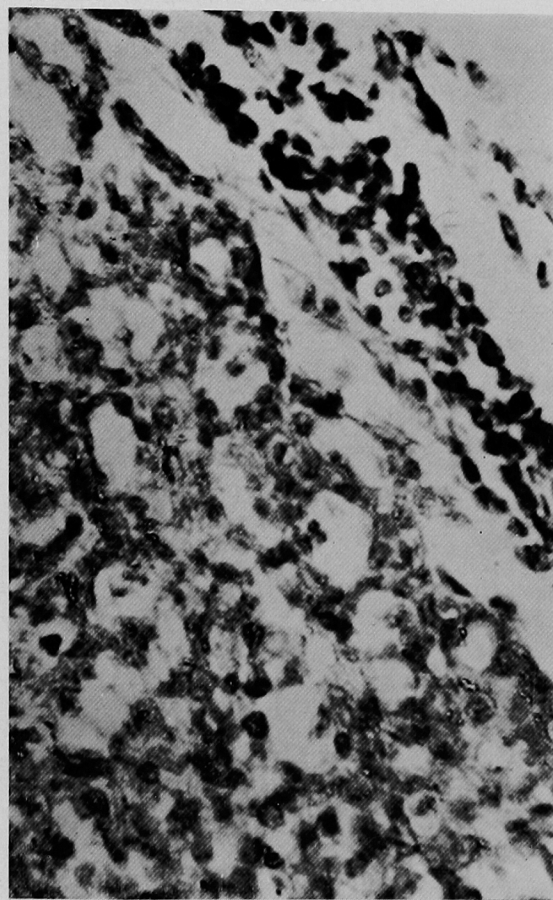
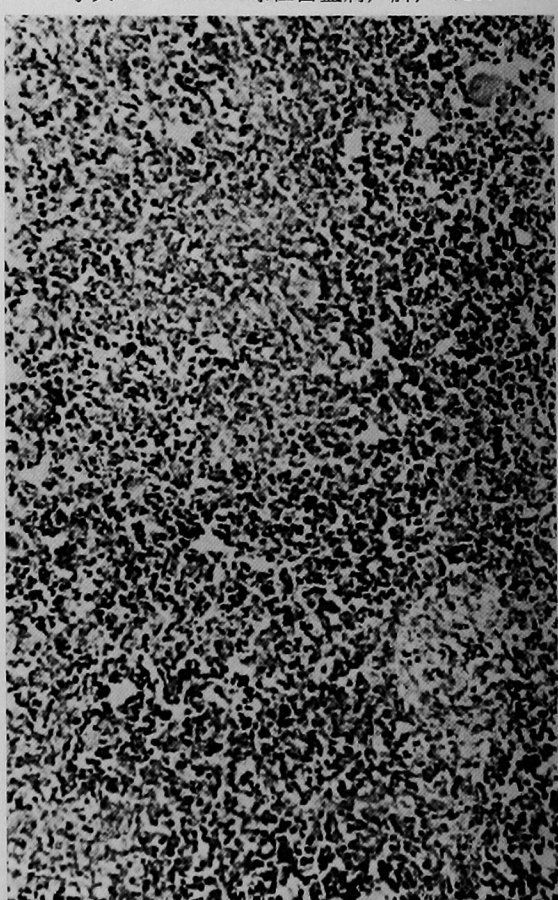


写真 16. リンパ球性白血病, 脾, ×100



康 論 文 附 図

写真 17. リンパ球性白血病, 脾, ×400

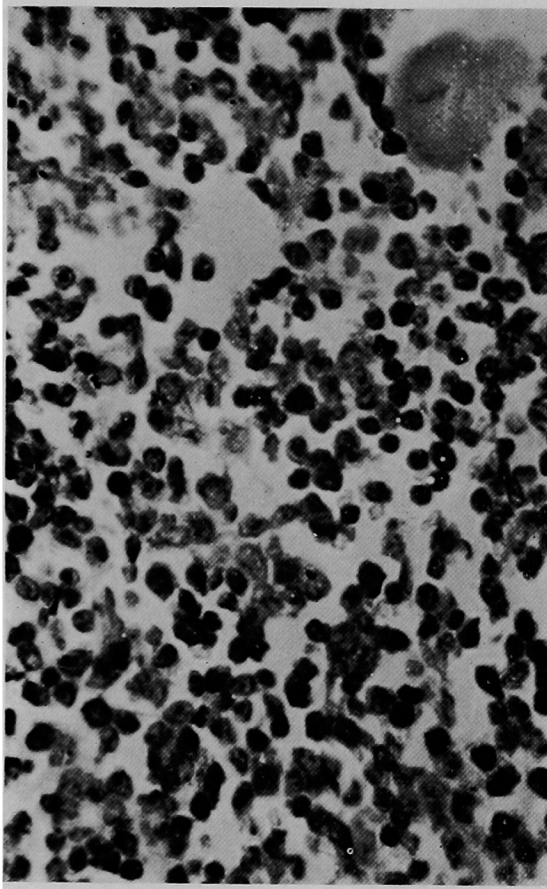


写真 18. リンパ球性白血病, 肝, ×100

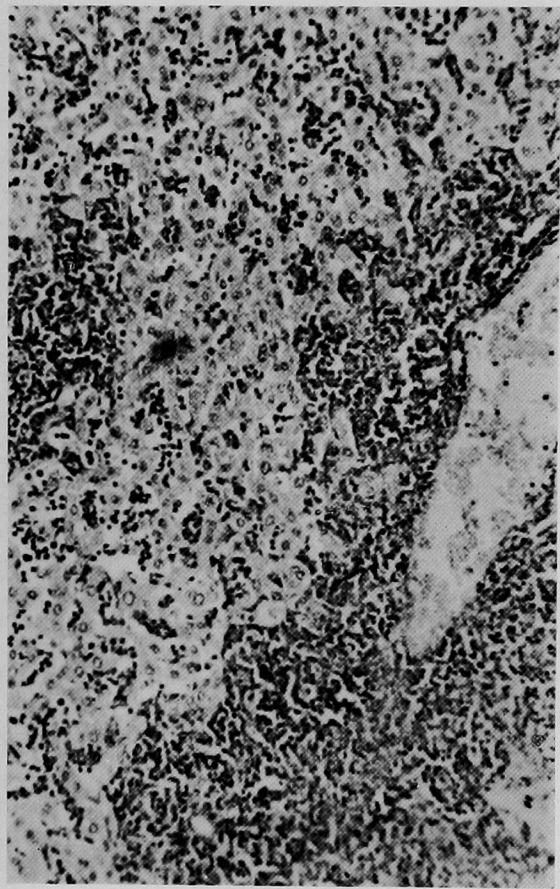


写真 19. リンパ球性白血病, 肝, ×400

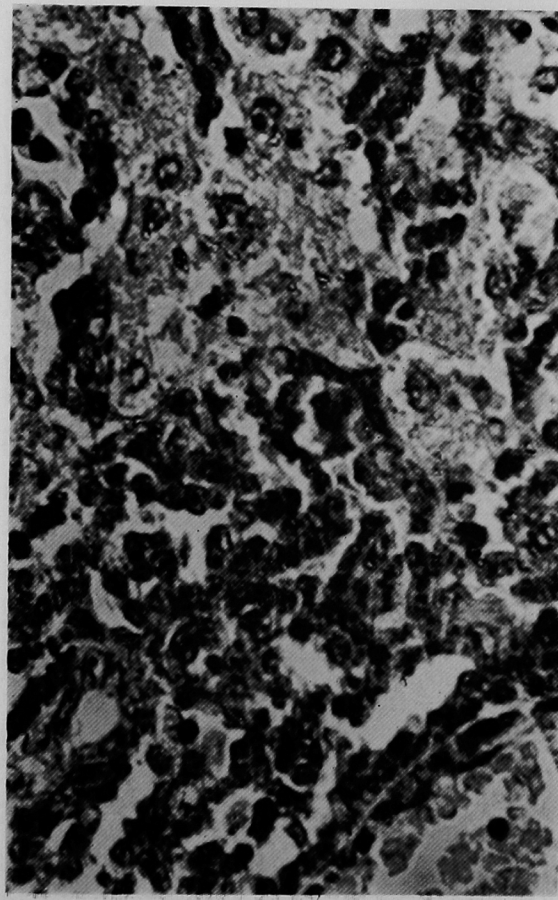


写真 20. リンパ球性白血病, 胸腺, ×100



康 論 文 附 図

写真 21. リンパ球性白血病, 肺, ×100

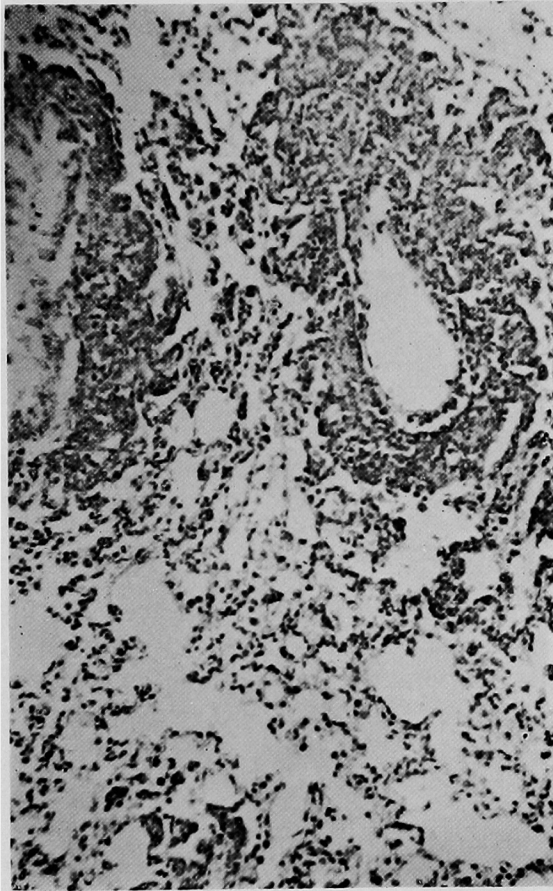


写真 22. Fibrosarcoma, ×100

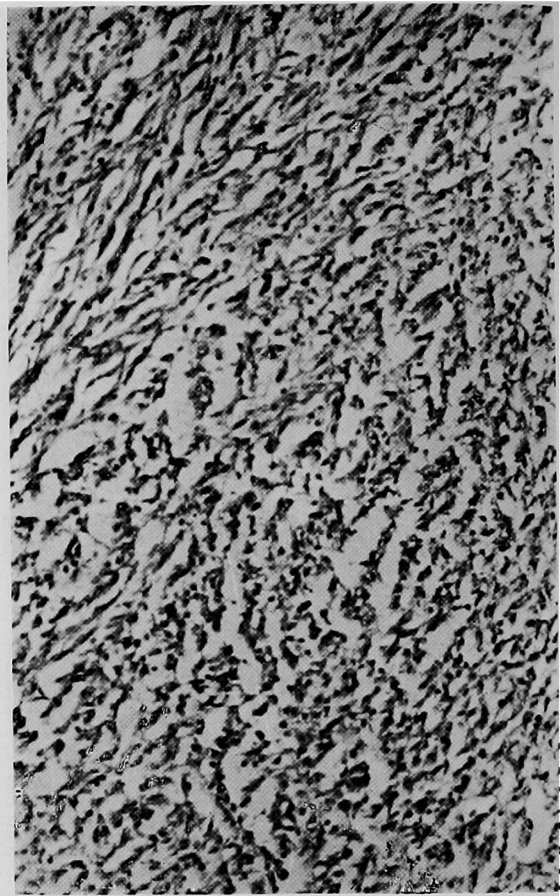


写真 23. Lungadenoma への移行形, ×100

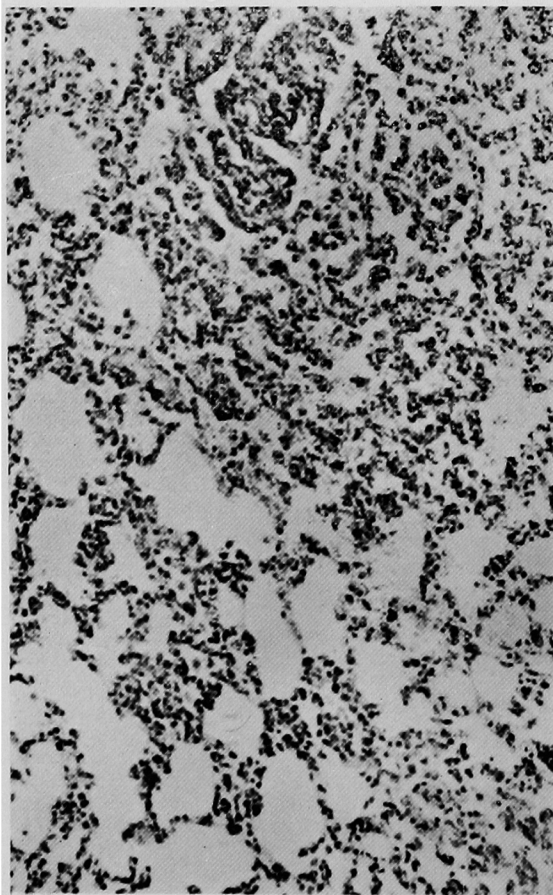


写真 24. Lungadenoma, ×100

