

実験的マウス白血病に関する研究

第一編

C₅₈マウス白血病細胞の同系マウスへの移植による研究

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木潔教授）

副手 藤 原 久 義

〔昭和39年6月1日受稿〕

内容目次

- I 緒言
- II 実験材料並びに実験方法
- III 実験成績
 - 1. 白血病細胞の移植率について
 - 2. 移植マウスの性及び年令に関する検討

I 緒 言

マウス白血病に関する最初の報告は、1878年 Eberth¹⁴⁾により行われ、その後多数の研究報告が見られる。白血病細胞の移植に関しては、Tyzzer (1907)⁸⁴⁾ 及び Haaland (1911)²⁶⁾ が最初にマウスの白血病移植を試みて失敗したが、1929年 Richter 及び Mac Dowell⁶⁵⁾ は C₅₈ 老令マウスに自然発生したリンパ性白血病細胞を同系幼若マウスに継代移植する事に成功し、最初の可移植性マウス白血病株を樹立した。その後樹立された C₅₈ マウスの白血病株は、順次にアルファベット文字にて表わされその数株が報告されている⁶³⁾⁶⁶⁾⁶⁷⁾。

移植材料中の白血病細胞数と移植後のマウス生存日数との関係や、移植陽性を来すに必要最少限度の白血病細胞数に関する研究並びに移植率に関する検討が Mac Dowell⁶⁴⁾⁶⁸⁾ 等により行われたが、また移植に用いられる株が異れば移植結果にも差異を生ずる事も報告された⁶⁷⁾。

C₅₈ マウス白血病の移植に用いられる臓器あるいは材料については、皮下腫瘍³⁷⁾、末梢血液³⁸⁾あるいは脾臓⁶⁴⁾⁶⁵⁾ などが用いられているが、これら移植材料の差異が移植結果に及ぼす影響に関する系統的研究は見当らない。

一方 C₅₈ マウス白血病細胞の移植部位についても皮下移植³⁸⁾⁶⁵⁾、腹腔内移植³⁶⁾⁶⁵⁾、静脈内移植³⁶⁾などが行われているが、やはり系統的検討はなされて

- 3. 移植細胞数に関する検討
- 4. 移植に用いられる臓器に関する検討
- 5. 移植部位に関する検討
- IV 総括並びに考按
- V 結論

いない。Goldie, H. 等¹⁹⁾ は移植に用いるマウス白血病株の差異と転移に関連してこの問題を論じている。また他の腫瘍については移植部位の差による病像の変化を認めているものもある¹⁶⁾¹⁹⁾⁶⁴⁾。

さて1961年教室の白石⁴⁰⁾⁷³⁾⁷⁴⁾⁷⁵⁾ 等は純系マウス C₅₈ に自然発生したリンパ性白血病の肝、脾無細胞濾液を生後 4 週の同系マウスに接種した所 3 囚中 1 囚に骨髓性白血病の発生を認め、無細胞濾液接種によりリンパ性白血病から骨髓性白血病への病型変異をおこした事を報告した。更にその後細胞学的、免疫学的研究³¹⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾⁵⁹⁾⁶⁰⁾⁷⁸⁾⁷⁹⁾ により両者の異同に関する検討が行われ、それぞれのマウス白血病ウイルスの抗原性には一部共通部分を有するが異なる処があり、別種ウイルスによるものとして病型変異が説明される様になつたが、私は細胞移植の面からこれを検討し興味ある知見を得たので報告する。

II 実験材料並びに実験方法

1. 実験材料

本研究に使用した純系マウスは総て1958年テキサス大学癌研究所より岡山大学マウスコロニーに送られて來たものに由来する。使用せるマウス白血病株は、平木内科教室において樹立されたリンパ性白血病株（以下 OHS-LL と略す）26代より58代迄のもの及び骨髓性白血病株（以下 OHS-ML と略記す）50代より98代迄のものである。使用せる純系マウス C₅₈ の年令は特殊な移植以外は 1 ~ 3 ヶ月で

あり、同一実験には同性マウスを用いる様にした。各マウスはそれぞれ別個に飼育箱に入れ室温は約20°C 前後に保ち、水及びオリエンタル製固型マウス実験用飼料を自由に与え、マウス箱の清潔を保つ様心掛けた。

2. 実験方法

特に記載しない場合は移植後6～7日目の白血病発症マウスの脾臓を摘出しリンゲル氏液を加えつつ十分細切し10%細胞浮遊液となし、その0.5ccをツベルクリン用注射器を用いてマウス腹腔内移植を行つた。以上の操作はすべて無菌的である。移植材料中の細胞含有数は概ね $3 \sim 5 \times 10^7/0.5\text{cc}$ でその白血病細胞の割合はOHS-MLは94.0%，OHS-LLは91.3%である。マウス白血病の診断基準は末梢血白血球数の著しい増加及び白血病細胞の出現、スタンプ標本及び組織学的検査において諸臓器における白血病細胞の浸潤、平木式組織培養盤による脾及びリンパ腺の培養所見が白血病型である事等である。

III 実験成績

1. 白血病細胞の移植率について

生後9ヶ月迄の雌雄マウス合計290匹にOHS-ML、OHS-LL両株白血病細胞をそれぞれ腹腔内移植を行なつた所全例に移植陽性であり、移植率は100%であつた。

2. 移植マウスの性及び年令に関する検討

骨髓性白血病株の白血病細胞 $5.2 \times 10^7/0.5\text{cc}$ を生後1～9ヶ月迄の雌雄各月令マウスに移植を行つた所すべて7日目に白血病のため死亡した。次に白血病細胞 $2.3 \times 10^6/0.5\text{cc}$ を同様に移植した所第1表に示す如くマウス生存日数は8～13日間であつたが、これを月令別に検討すると1～4ヶ月では平均9～9.5日、5～6ヶ月では10～11.5日間であり高令マウスの方が生存日数はやや長い。雌雄別に生存日数の検討を行なつたが両者の間に大差を認めない。

リンパ性白血病株の白血病細胞 $3.4 \times 10^7/0.5\text{cc}$ を同様に移植した所すべて7日目に白血病のため死亡した。次に白血病細胞 $3.7 \times 10^6/0.5\text{cc}$ を同様に移植した所第1表に示す如くマウス生存日数は8～10日間であり、これを月令別に検討すると1～4ヶ月では平均8.5～9.5日、5～8ヶ月では9.5～10日間であり月令大なる程生存日数は長い傾向がある。雌雄間の生存日数には大差はない。

3. 移植細胞数に関する検討

a. 移植細胞数とマウス生存日数

移植材料中の細胞数はOHS-MLでは $1.2 \times 10^8/\text{cc}$ 、OHS-LLでは $7.2 \times 10^7/\text{cc}$ 及び $2.4 \times 10^7/\text{cc}$ であり、此を10倍段階稀釈法にて計算上それぞれ1.2個/cc、7.2個/cc、2.4個/ccとなるまでリンゲル氏液にて稀釈し各々0.5ccずつを腹腔内移植したところ、第2表及び第1図に示す如く移植細胞数が減少すると共にマウス生存日数は7日より漸次延

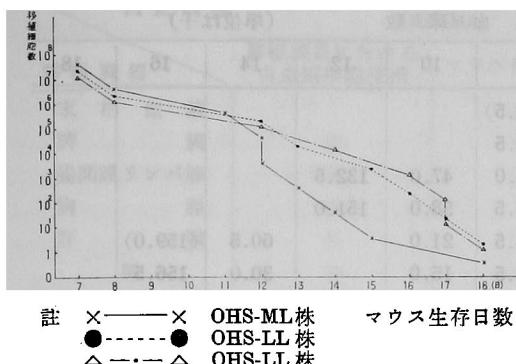
第1表 マウスの月令・性と白血病細胞移植後の生存日数

白血病株	移植細胞数	性	月令		1	2	3	4	5	6	7	8	平均生存日数
			雄	雌	10	10	9	10	11	11	11	8	
骨 髓 性 白 血 病 株	2.3×10^6 個	雄	10	8	9	9	9	9	9	9	12	13	9.8
		雌	8	9	9	9	9	9	9	9	12	13	9.8
		平均	9	9.5	9	9.5	10	10	10	11.5	10.5	10.5	9.9
リ ン パ 性 白 血 病 株	3.7×10^6 個	雄	8	9	9	9	9	10	10	9	10	10	9.3
		雌	9	9	8	8	9	9	9	10	10	10	9.0
		平均	8.5	9	8.5	8.5	9.5	9.5	9.5	9.5	10	10	9.2

第2表 移植細胞数とマウス生存日数

白血病株	移植細胞数	マウス生存日数								
		10^7	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1	10^0	10^{-1}
OHS-ML	$5.9 \times$	7	8	11	12	12	13	14	15	18
OHS-LL	$3.6 \times$	7	8	12	13	15	16	17	18	
OHS-LL	$1.2 \times$	7	8	12	14	16	17	17	18	

第1図 移植細胞数とマウス生存日数



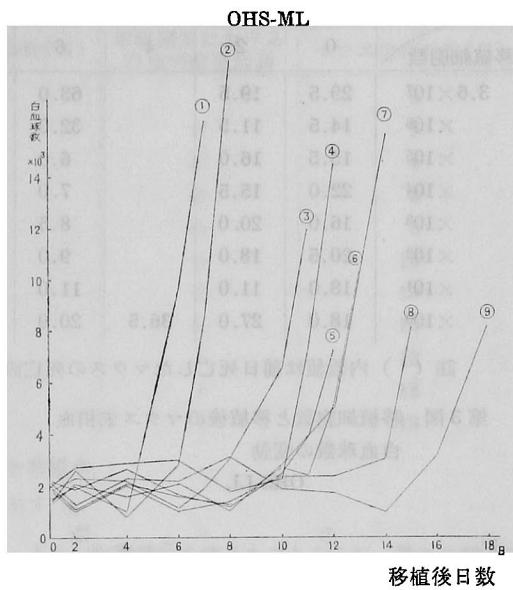
長し理論上約1個の細胞移植も可能であり、その場合のマウス生存日数は18日であった。

b. 移植細胞数と移植後のマウス末梢血白血球数の変動

OHS-MLでは移植細胞数 5.9×10^7 個より10倍段階稀釈法にて計算上0.59個になるまで稀釈しそれぞれマウス腹腔内移植し、その後1～2日間隔をおいて末梢血白血球数の推移を検討した所、第3表及び第2図に示す如く、移植前の白血球数は13,500～22,000であったが各マウス共移植後一時白血球数が増加し、その後一旦白血球数が減少した後再び急速に白血球增多を來して死亡するものが多い。死亡前の白血球数は72,500～186,000であった。

OHS-LLでは移植細胞数は 3.6×10^7 個より10倍段階稀釈法にて計算上3.5個に至るまで稀釈しそれぞれマウス腹腔内に移植し末梢血白血球数の推移を検討した所、第4表及び第3図に示す如く移植前の白血球数は14,500～29,000であったが、各マウス共

第2図 移植細胞数と移植後のマウス末梢血白血球数の変動



移植後一時白血球增多あるいは減少を來すが、多くは著明な白血球減少に続いて著しい白血球増加を來して死亡する。死亡前白血球数は86,500～216,000であった。

OHS-ML, OHS-LL両株共移植細胞数減少と共に潜伏期間は増大し、白血球增多を來した後は3～4日で死亡した。また白血球增多を來す前に一時の白血球減少を示すもの多かつた。

4. 移植に用いられる臓器に関する検討

移植材料は両株共移植後7日目のマウスの末梢血

第3表 移植細胞数と移植後のマウス末梢血白血球数の変動

OHS-ML 株

移植細胞数	末梢血白血球数 (単位は千)									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
5.6×10^7	15.0	20.0	10.5	96.5	(161.0)					
$\times 10^6$	14.5	26.0	8.5	28.5	186.0					
$\times 10^5$	19.0	23.0	22.0	11.5	30.5	66.0	(120.5)			
$\times 10^4$	20.5	27.0	29.0	30.0	18.5	22.5	145.0			
$\times 10^3$	22.0	19.0	26.5	16.5	12.0	23.5	73.0			
$\times 10^2$	19.5	11.0	21.0	16.5	12.5	27.5	52.0	(104.0)		
$\times 10^1$	13.5	20.0	16.0	21.0	10.5	28.0	50.5	158.0		
$\times 10^0$	18.5	10.5	20.5	10.5	13.5	24.0	24.0	30.5	(82.0)	
$\times 10^{-1}$	21.0	12.5	22.0	21.0	30.5	19.0	17.5	10.0	32.0	82.5

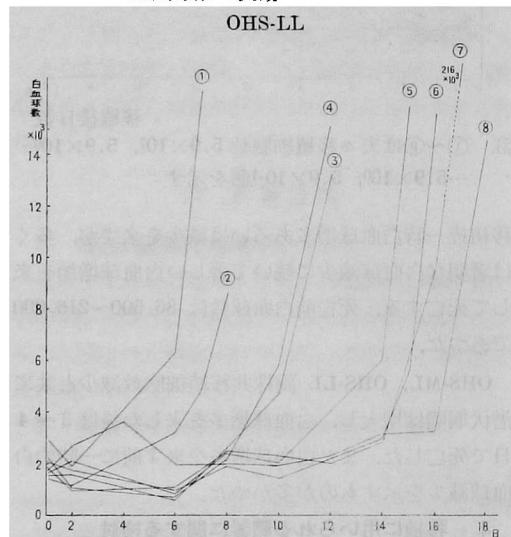
註 () 内数値は前日死亡したマウスの死亡直前の白血球数を示す。

第4表 移植細胞数と移植後のマウス末梢血白血球数の変動 OHS-LL 株

移植細胞数	末梢血白血球数 (単位は千)									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
3.6×10^7	29.5	19.5		63.0	(165.5)					
$\times 10^6$	14.5	11.5		32.0	86.5					
$\times 10^5$	15.5	16.0		6.0	26.0	47.0	132.5			
$\times 10^4$	22.0	15.5		7.0	21.5	58.0	151.0			
$\times 10^3$	16.0	20.0		8.5	24.5	21.0		60.5	(159.0)	
$\times 10^2$	20.5	18.0		9.0	19.5	15.0		30.0	156.5	
$\times 10^1$	18.0	11.0		11.0	25.5	23.5	21.0	29.0	95.5	(216.0)
$\times 10^0$	18.0	27.0	36.5	20.0	20.0	21.5	31.5	32.5	145.5	

註 () 内数值は前日死亡したマウスの死亡直前の白血球数を示す。

第3図 移植細胞数と移植後のマウス末梢血白血球数の変動



註 ①～⑧は夫々移植細胞数 3.6×10^7 , 3.6×10^6 , ..., 3.6×10^1 , 3.6×10^0 個を示す。

液, 肝, 脾, リンパ腺, 胸腺, 脳, 肺, 腎, 骨髄, 睾丸, 筋肉であり諸臓器における末梢血液の影響を除去する目的でマウスの股動脈を切断し失血死せしめた後前記諸臓器を採取し, リンゲル氏液中にて細切し約10%細胞浮遊液となし, その0.3ccをマウス腹腔内移植しマウス生存日数を検討した。一方各移植に用いた臓器のスタンプ標本及び組織標本につき検討した。即ち第5表に示す如くマウス生存日数はOHS-MLでは移植材料が脾では7日で最も短かく, 腸間膜リンパ腺, 末梢血液では8~9日, 胸腺, 肺, 骨髄, 肝, 腎では10~12日, 脳, 睾丸, 筋肉では13~16日であつた。OHS-LLでは末梢血液では6

日間の生存日数を示し, 脾, 腸間膜リンパ腺, 胸腺, 肝では7~8日, 肺, 骨髄, 腎は10日, 脳, 睾丸, 筋肉では12~13日であつた。一方スタンプ標本では白血病細胞浸潤は両株共脾, 腸間膜リンパ腺, 胸腺では最も強く, 肝, 肺, 腎, 骨髄はこれに次ぎ, 睾丸, 脳, 筋肉では最も弱い。即ち移植臓器における白血病細胞浸潤の程度とマウス生存日数とは逆の相関性にある。

移植材料として脾を選ぶ場合, 脾の移植性につき検討する目的でOHS-ML, OHS-LL両株共それぞれ7匹のマウスに同時に腹腔内移植を行なつた後, 每日一匹ずつを屠殺しその脾臓を摘出して10%細胞浮遊液を作りその0.5ccを次代マウスの腹腔内に移植しマウス生存日数を検討した所, 第6表に示す如く移植翌日の脾臓は既に次代マウスに移植が可能であり, 1~3日の脾移植ではマウス生存日数はOHS-MLでは12~10日, OHS-LLでは11日, 4~6日の脾移植ではOHS-MLでは8~7日, OHS-LLでは9日, 7日目の脾移植ではそれぞれ7日間であつた。一方各脾臓のスタンプ標本中の白血病細胞は1~2日目では極めて少いが経過と共に増加し6~7日至り両株共著しく増加した。即ち脾臓における白血病細胞浸潤の程度と移植後のマウス生存日数とは逆の相関性にある。

5. 移植部位に関する検討

移植材料を腹腔内, 皮下, 皮内, 静脈内, 胸腔内, 睾丸内, 脳内に注射を行なつた所すべて著しい肝, 脾腫脹を来し白血病死したが, それぞれにつきマウス生存日数及び病像に関する検討を行なつた。

a. 腹腔内移植: 移植材料0.5ccを注射した所両株共生存日数は7日間で腸間膜リンパ腺及びそい部リンパ腺腫脹が著明であつた。

第5表 移植に用いられた臓器とマウス生存日数

白血病株 移植臓器	OHS-ML		OHS-LL	
	移植臓器における白血病細胞浸潤	マウス生存日数(日)	移植臓器における白血病細胞浸潤	マウス生存日数(日)
末梢血液		9		6
脾臓	++	7	++	7
腸間膜リンパ腺	++	8	++	8
胸腺	++	10	++	8
肝臓	++	11	++	8
肺	++	10	++	10
骨髓	++	10	++	10
腎臓	++	12	++	10
脳	+	13	+	12
睪丸	+	13	+	13
筋肉	+	16	+	13

註 1. 各臓器は 10% 細胞浮遊液となし 0.3cc を移植す。

註 2. 白血病細胞浸潤の程度を ++, +, + にて示す。

第6表 白血病移植後の脾臓における白血病細胞浸潤と次代移植後のマウス生存日数

白血病株	移植後日数(日)	移植後日数(日)						
		1	2	3	4	5	6	7
OHS-ML	脾臓における白血病細胞浸潤	-	+	+	++	++	++	++
	次代移植後のマウス生存日数	11	12	10	8	7	8	7
OHS-LL	脾臓における白血病細胞浸潤	-	+	+	++	++	++	++
	次代移植後のマウス生存日数	11	11	11	9	9	9	7

註 脾臓における白血病細胞浸潤の程度を ++, +, -, 土にて示す。

b. 静脈内移植：移植材料は OHS-ML では 0.3cc, OHS-LL では 0.1cc を尾静脈内注射した所、マウス生存日数はそれぞれ 6 日, 8 日であつた。リンパ腺腫脹は著しくなく、肺、心臓等にも特異な所見はみられなかつた。

c. 脳内移植：移植材料 0.02cc を注射した所、OHS-ML では 7 日、OHS-LL では 8~9 日間の生存日数を示した。両株共リンパ腺腫脅及び脳内腫瘍形成はみられなかつたが、OHS-LL では移植後 3 日目頃より歩行失調症を示したり、脳内移植部位に細胞浸潤のみられる例もあつた。

d. 睪丸内移植：OHS-ML では移植材料 0.05cc を注射した所、生存日数は 9 日間で、そけい部及び腸間膜リンパ腺の中等度腫大及び移植部位の細胞浸潤を認めた。OHS-LL では移植材料 0.06cc を注射した所、生存日数は 8~13 日であり、後腹膜及び腸間膜リンパ腺腫脅著しく、そけい部、腋窩、及び頸

下リンパ腺腫脅を伴うものもみられ、睪丸の腫大及び細胞浸潤が著しく、中央部は壊死におちいり、圧迫により壞死物質の排出をみるものもあつた。

e. 胸腔内移植：OHS-ML では移植材料 0.06cc を注射した所、生存日数は 9 日間であり、縦隔洞リンパ腺腫脅は著しく心臓前面を覆ひ、また移植側腋窩リンパ腺腫脅も著明であつた。OHS-LL では移植材料 0.04~0.1cc を注射した所、生存日数は 9~10 日間で、縦隔洞リンパ腺腫脅は極めて著しく左肺前面を覆うものもあつた。また両側腋窩リンパ腺腫脅を認めた。両株共移植局所及びそけい部及び腸間膜リンパ腺や胸腺の変化は著明ではなかつた。

f. 皮下移植：OHS-ML では移植材料 0.5cc を右背皮下注射した所、生存日数は 9 日間で、移植局所の腫瘍形成はみられなかつたが、移植部皮下より右腋窩リンパ腺に向う細胞浸潤を認めた。右腋窩リンパ腺及び両側そけい部リンパ腺腫脅は著明であつたが、腸間膜リンパ腺腫脅は中等度であつた。OHS-LL では移植材料 0.4cc を右背皮下注射した所、生存日数は 11~15 日間であつた。移植後 3 日目より移植部位に小結節を生じ、6 日目には小指頭大、9 日目には 15×22 mm 大となり以後漸次縮少して死亡時には 17×9×4 mm, 0.3 g の扁豆形となつたが、皮下細胞浸潤のみで腫瘍形成を認めないものもあつた。そけい部及び腋窩リンパ腺腫脅はみられるが腸間膜リンパ腺腫脅は著明ではなかつた。

g. 皮内移植：OHS-ML では移植材料 0.2cc を右背皮内注射を行なつた所、生存日数は 9 日間で

第7表 移植部位とマウス生存日数及び病像

白 血 病 株	移 植 部 位	移 植 量 (cc)	マ生 存 日 ス 数 (日)	病 像							死 因	そ の 他
				肝 脾 腫 脹	腸 間 膜 腺 リ 腫	そ り ン 脹 い パ 部 腺	そ の 他 の リ ン パ 腺	脹 脹	移 植 に お け る 病 変 部 位			
骨髓性白血病株	腹腔	0.5	7	卅	卅	卅	—	—	著変なし	白血病		
	尾靜脈	0.3	6	卅	士	士	—	—	なし	"		
	脳	0.02	7	卅	士	士	—	—	なし	"	歩行失調なし	
	睪丸	0.05	9	卅	廿	廿	—	—	細胞浸潤	"		
	左胸腔	0.06	9	卅	士	士	縦隔洞リンパ腺 左腋窩リンパ腺	—	なし	"		
	右背部皮下	0.5	9	卅	廿	廿	右腋窩リンパ腺	—	細胞浸潤	"		
	右背部皮内	0.2	9	卅	士	右側のみ卅	—	—	右そけいリンパ腺 に向う細胞浸潤	"		
リンパ性白血病株	腹腔	0.5	7	卅	卅	卅	—	—	著変なし	"		
	尾靜脈	0.1	8	卅	士	士	—	—	なし	"		
	脳	0.02	8~9	卅	士	士	—	—	細胞浸潤	"	歩行失調を来たした	
	睪丸	0.06	8~13	卅	廿	廿	後膜膜、腋窩、頸 下リンパ腺腫大	—	睪丸腫大、細胞 浸潤、中央部壊死	"		
	左胸腔	0.04 ~0.1	9~10	卅	士	士	縦隔洞リンパ腺 両側腋窩リンパ腺	—	左肺全面を覆う リンパ腺腫大	"		
	右背部皮下	0.4	11~15	卅	士	廿	両腋窩リンパ腺	—	腫瘍形成細胞浸 潤	"		
	右背部皮内	0.4	9	卅	士	卅	両腋窩リンパ腺	—	細胞浸潤	"		

註. 肝、脾、リンパ腺腫脹は卅：著明、廿：中等度、+：軽度、士：極く軽度、—：なしを示す。

右そけい部リンパ腺腫脹は著明であつたが腸間膜リンパ腺腫脹はなかつた。移植部皮下より右そけい部に向う細胞浸潤を認めた。OHS-LL では移植材料 0.4cc を右背皮内注射した所、生存日数は 9 日間であり、そけい部及び腋窩リンパ腺腫脹を認めたが腸間膜リンパ腺腫脹は著明ではなく、移植部皮下に細胞浸潤を認めたが腫瘍形成はなかつた。

IV 総括並びに考按

腫瘍細胞移植に当り考慮さるべき因子は、宿主の感受性、腫瘍株の特性及び継代数、腫瘍細胞の損傷の有無及び活性度、移植材料中の腫瘍細胞含有量、移植部位等である。

Snell⁷⁷⁾によると腫瘍発生動物と同系動物においては移植率は 100% であり、この際移植陽性と云うのは移植動物を腫瘍死せしめる事である。C₅₈ 系マウスに原発せる白血病株 OHS-ML 及び OHS-LL 両株においては C₅₈ 系マウスへの移植率は 100% であつた。移植マウスの年令及び性の差により移植性

に相違を示す場合³⁴⁾ や然らざる場合⁷¹⁾ が報告されているが、私の実験では大量の細胞移植 (3~5×10⁷ 個) ではこれ等の差異は全く認められないが、移植細胞数が減少すると幼若成熟マウスに比し高令マウスの方が生存日数が延長する傾向がある。また性による有意の差はみられなかつた。

移植性腫瘍においては、株により移植性に差異がある事は諸家の報告¹⁸⁾⁴⁷⁾⁶⁴⁾ にみられるが、同一株においても継代移植中に次第に変化を来し、それは最初の数代において著明であり、次第にその株特有の性質を示して来る事が報告²⁷⁾²⁸⁾⁵¹⁾⁶⁴⁾⁶⁷⁾⁸⁵⁾ されている。OHS-ML 及び OHS-LL 両株についても継代移植中に漸次潜伏期間が短縮してマウス生存日数は短くなり、私が実験に使用した時には生存日数は一定値を示していた。

白血病細胞の損傷を防止するため Furth³⁷⁾ は血清及び Tyrode 液を用いて処理しているが、私は白血病脾をリングル氏液中で細切して白血病細胞浮遊液となし、注射器にて移植を行なつたが細胞 1 個で

も移植が可能であつた点より、本処理法が白血病細胞に著しい損傷を与えないものと考える。

移植材料中の白血病細胞の占める割合は使用臓器及び移植後の日数によつても異なるが、白血病にて死亡間近かのマウスの脾臓は OHS-ML では平均 94.0 %, OHS-LL では平均 91.3 % である。この様に高率に白血病細胞を含有する点より脾臓を移植材料に選ぶ事は移植に有利であるのみならず、移植の半定量的検討を可能とする。

移植細胞数と移植性との関係については諸家の報告^{18) 19) 20) 21)} にみられる如く、移植細胞数が多い程生存日数は短い。私の実験成績でも OHS-ML, OHS-LL 両株において腹腔内移植細胞数 5.9×10^7 個, 3.6×10^7 個ではマウス生存日数は共に 7 日間であり、移植細胞数が減少すると共にマウス生存日数は延長し、計算上移植細胞数約 1 個ではマウス生存日数はそれぞれ 18 日間であつた。移植白血病細胞が宿主マウス中で分裂増殖し白血病を惹起する^{47) 64)} 事を考えれば、移植細胞数が多い程マウス生存日数が短くなるのは当然であると考えられる。

腫瘍移植に必要とする最少限度の細胞数の研究については Costa, A.,⁷⁾ Hewitt, H. B.,²⁹⁾ DeRoppe, R. S. 等¹³⁾, 石橋³⁵⁾, 細川³⁰⁾ 等の報告があり、 10^6 個を必要とするものや 1 個で移植可能なものがある。Richter and MacDowell (1933)⁶⁸⁾ は純系マウス間の白血病移植に数千個の細胞が必要であると述べ、Furth, J. 等³⁷⁾ は皮下移植にて生じた白血病腫瘍を切除し、Tyrode 液中で碎切し此を Micromanipulator を用いて細胞 1 個を吸い上げ S2 系及び Akf 5 系白血病計 95 例中 5 例に白血病移植が成功した。私も OHS-ML 及び OHS-LL 両株において白血病細胞 1 個の腹腔内移植に成功したが、Stroma-reaction を必要としない独立性と運動性が大なる遊離腫瘍細胞⁶⁹⁾ である白血病細胞の同系動物に対する単一細胞移植の成功率が他に比して高い事は容易に理解出来る。

私は色々な数の白血病細胞の移植後のマウスの末梢血白血球数の変動を検討した結果、移植細胞数が多い程白血球增多を来す迄の潜伏期間が短縮し、一度末梢血白血球增多を来たした場合はその後のマウスの生存日数は移植細胞数の如何に拘らず 3 ~ 4 日である事が分つた。

移植材料による移植性の差異については、移植材料として腫瘍³⁷⁾ や腹水⁶⁸⁾, 血液^{36) 68)}, 脾臓⁶⁴⁾ を用いた場合により相違があるが、それぞれの腫瘍株に

おいて最も有利な方法が選ばれている。例えば吉田肉腫⁶⁸⁾においては通常腹水を以つて継代移植されているが、末梢血中に腫瘍細胞の出現する場合末梢血液で移植すると 14 例中 7 例が移植陽性でありこの場合生存日数が延長したという。マウス白血病移植では血液移植³⁶⁾, 脾臓移植⁶⁴⁾, 皮下腫瘍移植³⁷⁾ 等の方法が採用されているが、これらの移植材料についての系統的検討は見当らない。OHS-ML 及び OHS-LL 両株共脾臓あるいは腸間膜リンパ腺を移植に用いた場合、マウス生存日数は 7 日あるいは 8 日間であり、末梢血液を移植した場合それぞれ 9 日及び 6 日の生存日数を示したが、継代移植には材料の豊富な脾臓を選ぶのが最も有利である。胸腺、肝臓、肺、骨髄、腎臓移植では OHS-ML, OHS-LL のマウス生存日数はそれぞれ 10 ~ 12 日間、8 ~ 10 日間であり、各移植材料の細胞浸潤は中等度であつた。脳、睪丸、筋肉移植では両株共最も長いマウス生存日数を示し、これら移植材料における白血病細胞浸潤は最も軽度であつた。即ち移植材料による移植性の差異は移植細胞数の相違によるものであり、逆にマウス生存日数より白血病細胞浸潤の程度を推定出来る。

移植部位の相違による移植率及び病像の変化については、Ehrlich 癌による腹腔内移植、皮下移植、静脈内移植等の研究^{16) 48) 72) 86)}, 吉田肉腫⁶⁸⁾ 及びその他の腫瘍による同様な研究⁷⁰⁾ がある。Ehrlich 癌や吉田肉腫では一般に皮下移植は腹腔内移植より移植率は低く且つ宿主の生存期間も長い。腹腔内移植で腹水型を示す腫瘍でも皮下移植では結節型となり、又静脈内移植では Ehrlich 癌や加藤系家兎肉腫等では肺に結節型腫瘍形成を生ずるのに比して、吉田肉腫では心臓及び腎臓に限り結節を形成するという。脳内移植^{23) 24) 25) 44) 76)}, 前眼房内移植^{20) 22) 61) 82)} や睪丸内移植²¹⁾ については異種移植と関連した研究がある。マウス白血病細胞の移植部位に関する系統的研究は見当らないが、Goldie, H. 等¹⁹⁾ はマウス白血病細胞を腹腔内、側腹部皮下、頭部皮下にそれぞれ移植を行い、諸臓器への浸潤の程度を検査しているが、生存日数は腹腔内移植マウスが最も短かく側腹壁皮下では最も長く、各臓器への白血病細胞の侵入は皮下移植よりは腹腔内移植の方が速やかで且つ広範囲であり、移植部位の如何は原腫瘍発育の量、転移の広さ、宿主の死亡に關係する重要な因子であると述べ、この因子は AK4 の如く細胞自律性が大で血中への早期拡大の傾向の大なるものには意味が少く、P1534 や C1498 の如きものでは重要であり、非白血

病性腫瘍に於て最も重要であると述べている。Furth 等³⁶⁾は A, R, S 各系マウスの白血病移植率に於て、静脈内移植では9.5%が白血病となり、2.8%が aleukemic lymphadenosis を生じ、腹腔内移植では124例中1例が白血病、3例にリンパ性腫瘍のみを認め、皮下移植では全例移植陰性であつたと述べている。私の実験では移植率は移植部位の如何を問わず100%で、移植後マウス生存日数は静脈内、脳内、腹腔内移植では短かく、睪丸内、胸腔内移植がこれに次ぎ、皮下及び皮内移植では最も長い。病像に関してはすべて肝、脾が腫大し白血病により死亡したが、移植部位の変化は軽微であつた。しかし OHS-LL では OHS-ML に比し脳内、睪丸内、皮下移植に際し移植部細胞浸潤がやや強く、特に皮下移植では腫瘍形成をみとめたものもあつた。またリンパ腺腫脹は移植部支配領域のリンパ腺に著しく、リンパ行性転移による事を示しており、睪丸内、胸腔内、皮下、皮内移植に際しては OHS-LL では OHS-ML に比して移植部支配領域のリンパ腺のみならず他部位のリンパ腺腫大も強く且つ広範囲にみとめられた。即ち Goldie 等¹⁹⁾の AK4 の如く移植部位からの転移が極めて速かであるため、移植部位の差による病像の変化は軽微であつたが OHS-ML 及び OHS-LL 両株の間に多少の相違を認めた。またマウス生存日数も移植部位の差による変化がみとめられた。

V 結 語

OHS-ML 及び OHS-LL 両株白血病細胞の同系マ

ウスへの移植性を検討した所、次の如き結果を得た。

- 1) C₅₈ マウスへの移植率は両株共100%であつた。
- 2) 移植に用いられるマウスの年令及び性の相違は移植後のマウス生存日数に著明な差異を来さなかつた。

3) 移植細胞数とマウスの生存日数とは逆の相関々係にあり、白血病細胞1ヶでも腹腔内移植が可能であり、移植細胞数に関する両白血病株の間の移植性の相違はみられなかつた。移植細胞数の減少によるマウスの生存日数の延長は血液像が白血病性となる迄の潜伏期間の延長によるものであつた。

4) 移植に用いられる臓器とマウス生存日数との関係はその臓器に含まれる白血病細胞数如何によるものであり、移植細胞数とマウス生存日数の関係と一致した。従つてマウス生存日数より逆に臓器における白血病細胞浸潤の程度を推定する事が出来た。

5) 白血病細胞の移植部位の差はマウス生存日数に影響を及ぼすが、病像に及ぼす影響は軽微であつた。しかし OHS-ML に比し OHS-LL では脳内、睪丸内、皮下移植に際し移植部局所の変化が強く、また睪丸内、胸腔内、皮下、皮内移植に際しリンパ腺腫脅が著しく且つ広範囲であつた。

擇筆に当り終始御指導を賜つた恩師平木潔教授並びに角南宏講師に深謝する。

(本論文要旨は第24回日本血液学会総会及び第21回日本癌学会総会に於いて発表した。)

Studies on Experimental Leukemia in Mice.

I. Isologous Transplantation of C58 Mouse Leukemia

by

Hisayoshi Fujiwara

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

In 1961 two strains of transplantable leukemia in C58 mice were established in the Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School. One is a lymphocytic leukemia (OHS-LL) of spontaneous origin and the other a myelogenous leukemia (OHS-ML) developing in a mouse inoculated with a cell-free extract from the lymphocytic leukemia. The present paper concerns transplantation experiments of both strains of leukemia into isologous mice.

Both strains of leukemia were transplantable in 100 %, and the age or sex of the recipient mice did not considerably influence the survival days of the animals. The number of the inoculated leukemic cells and life span of the recipient mice showed an inverse relation, and even a single leukemic cell, when transplanted intraperitoneally, killed animals in 18 days. Transplantation of different organs indicated that the number of leukemic cells contained in the organs determined the survival periods of the inoculated mice, and it was possible to assess the degree of leukemic infiltration in a given organ from the life span of the animals. The site of cell-graft influenced the survival days but very slightly the manifestation of the disease. However, the local changes following intracerebral, intratesticular and subcutaneous transplantation were more pronounced in OHS-LL in comparison with OHS-ML.
