

## C58 マウス白血病の研究

## 第 II 編

## 無細胞濾液接種実験特に白血病の病型変異について

岡山大学医学部平木内科 (主任: 平木 潔教授)

大学院医学研究科 鈴木 信也

〔昭和 39 年 10 月 24 日受稿〕

## 第 1 章 緒言

1908年 Ellermann and Bang<sup>13)</sup> が家鶏白血病の無細胞濾液接種による移植に成功し、次いで1911年 Rous<sup>46)</sup> も家鶏肉腫の無細胞濾液による移植を報告し、これらの腫瘍がウイルスに起因することが証明された。この事実は他の哺乳動物の白血病や腫瘍もウイルスによつて起るのではないかと云う重要な示唆を与えた。マウス白血病の無細胞濾液による移植の試みは Mac-Dowell<sup>39)</sup>, Barns and Furth<sup>2)</sup>, Engelbeth-Holm<sup>14)</sup>, らによつてなされいづれも失敗に終つたが、1951年 Grass<sup>21)</sup> の新生児マウスを用いた劃期的な実験により、Ak, C58 らの白血病がウイルスによるものであることが明らかにされた。その後 Friend<sup>17)</sup>, Graffi<sup>27)</sup>, Moloney<sup>41)</sup>, 天野ら<sup>1)</sup> によりウイルス性マウス白血病が相續いで報告され、更に X線<sup>25)79)38)</sup> や化学物質<sup>28)32)</sup> によつて誘発された白血病にもウイルスの関与していることが示唆されるに至つた。これらのウイルス性白血病は、多くの場合、感受性を有するマウスの系統特異性と発現して来る病型が一定している。無細胞濾液接種によつて腫瘍の病型が変異することは最初家鶏白血病で注目された。即ち Oberling and Guerin<sup>43)</sup> は白血病の無細胞濾液接種により肉腫の発生を認め、更に Engelbreth-Holm<sup>15)</sup>, Furth<sup>20)</sup>, Carr<sup>10)</sup>, Burmester<sup>9)</sup>, らにより Erythroblastosis→Myeloblastosis<sup>20)</sup>, Erythroblastosis→Sarcoma→Adenocarcinoma (renal)<sup>10)</sup>, Erythroblastosis→Vicerat Lymphomatosis<sup>9)</sup>, Myeloblastosis→Vicerat Lymphomatosis, →renal adenocarcinomatosis<sup>9)</sup> らの複雑な病型変異が明らかにされている。

マウス白血病に於いて認められた病型変異は Gross<sup>23)</sup> の初期の実験に於いて生じた耳下腺腫であ

つたが、これは後に Stewart and Eddy<sup>11)51)</sup> により分離された Polyoma virus の混在によるものであることが明らかにされた。更に Gross<sup>24)</sup> は Ak マウスリンパ性白血病より分離した Passage A virus を接種した C3H 新生児マウスで、接種後胸腺を摘出したものから骨髓性白血病の発生を認めている。又 Molony 白血病に於いても同様の病型変異が摘脾によつて起ることが報告されている<sup>42)</sup>。これらの事実は単一のウイルスが異なつた腫瘍を起す多能性 (Multipotentiality) を有するのか、ウイルスの変異 (Mutation) によるものか、或は二種以上のウイルスの混在によるものであるか、と云う問題を提起するに至つたが、未だ明確な解答は与えられていない。

教室の白石ら<sup>40)</sup> は、C58 マウスに自然発生したリンパ肉腫を腹水腫瘍に転換し、更に細胞移植を重ねて芽球形白血病を得、その継代移植によつて骨髓性白血病に進展したことを報告した。私は先に、C58 自然発生リンパ性白血病の無細胞濾液を同系幼若マウスに接種して3ヶ月の潜伏期の後、骨髓性白血病の発生を1例認めたが<sup>40)</sup>、発症時既に6ヶ月の成熟マウスであつたので、果してウイルス接種により骨髓性白血病が発生したものか或は自然発生骨髓性白血病であつたのか判定は困難であつた。そこで私は同系新生児マウスを用いて、自然発生リンパ性白血病の無細胞濾液接種により白血病発生促進と病型変異の有無を確認するために以下の実験を行なつた。

## 第 2 章 実験材料並びに方法

実験動物は教室に於いて飼育中の C58系マウスで、その由来に就いては第 I 編で述べた。白血病材料は

C58自然発生白血病で、全てリンパ性白血病であつた。

検血、スタンプ標本作成、電顕の観察らについては第1編で述べた方法に準じた。

無細胞濾液の作製及び接種は Gross<sup>22)</sup> の方法に従つた。即ち、白血病マウスを屠殺し、すみやかに脾、リンパ脾を無菌的に摘出し、シャーレ中で細切した後、約20倍量の冷却せる滅菌生理食塩水を加えガラスホモゲナイザーにて磨砕し20%乳剤とした。乳剤は試験管に移して3000回転15分間遠沈し、更に上清を10000回転10分間遠沈、最終上清を Berkefeld-N には Chamberland L3 濾過器にて水流ポンプで吸引し無細胞濾液を得た。以上の操作は全て 4°C の冷凍室内で可及的短時間に行ない、得られた濾液は 0°C のコンテナに入れ、24時間以内に接種に供した。一部は -30°C のディープフリーザー中に保存し 2~3 週以内に使用した。

被接種動物は生後24時間以内の C58 新生児マウス及び生後3~7日の哺乳児マウスを用いた。前者では無細胞濾液 0.05~0.1cc を背部皮下に、後者では 0.1~0.2cc を腹腔内に注射した。被接種マウスは1ヶ月後離乳せしめ、雌雄別に飼育箱中で飼育し、オリエンタル固型飼料繁殖用を与えた。1ヶ月毎に血液像及び脾、リンパ腺腫の有無を観察した。

Fluorocarbone 抽出液は Epstein の方法<sup>16)</sup> に従つて行つた。即ち白血病マウスの脾、リンパ腺、肝らの組織を計 3g とり、これに pH 7.5の磷酸緩衝生理食塩水 15ml、ダイフロン-S III (CF<sub>2</sub>Cl-CCl<sub>2</sub>F, 大阪金属工業製) 7.5ml を加え 4°C にて15分間 homogenize し、遠沈管に移して1500回転5分間遠沈し上清 I を得る。沈渣に更に磷酸緩衝生理食水10ml、ダイフロン 5ml を加えて、同様の操作によつて上

清 II を得る。上清上清 I + 上清 II にダイフロン 10 ml を加え2分間 homogenize し、1500回転5分間遠沈し上清を分離する。この操作を4~5回繰り返さない透明となつたものを Fluorocarbone 抽出液として用いた。この場合も接種量、被接種動物は無細胞濾液の場合と同様である。

### 第3章 実験成績

#### I. 無細胞濾液接種実験

##### 1. C58 自然発生リンパ性白血病組織の無細胞濾液の同系新生児マウスへの接種

自然発生リンパ性白血病5例の無細胞濾液を35例の同系新生児マウスに接種した(表1)。これらのうち18例は接種後1ヶ月前後に肝炎様の感染症により死亡した。これらのマウスは下痢、るい瘦を来し急激に衰弱死亡し、剖検すると肝表面に黄白色直径1~2mm 斑紋状の小壊死巣が散在し、軽度の脾腫を伴なうものもあつた。この疾患は初め無細胞濾液接種によるものかと思われたが、その後接種を受けない動物や同一飼育箱内の親にも発病するものが現れた。この疾患は肝細胞浮游液により容易に成熟マウスを感染死せしめたが、無細胞濾液接種では発病しなかつた。肉眼的所見病状などから Snell の成書<sup>50)</sup> に見る *Bacillus piliformis* 感染に似るが、同菌の同定ははできなかつた。

感染死をまぬがれた6ヶ月以上生存した17例(♀8例, ♂9例)中12例(♀7例, ♂5例)が白血病を発生した。白血病の発生は表1に示した如く6ヶ月から17ヶ月の間に見られ、顕著な発症の促進は見られなかつた。しかし10ヶ月以内の発症が6例(50%)を占め、これは自然発生白血病に於ける同期内の発症が18%であつたのに比して著しく多い。白血病発生率は感染死マウスを除外すると17例中12例で

表 1 自然発生リンパ性白血病無細胞濾液の接種

Donor mice	No. of mice inoculat.	No. of mice leuk	months leuk. develop.								No. of mice died of infection, nos	
			2~4	4~6	6~8	8~10	10~12	12~14	14~16	16~		
C58 ~ 400	4	3				1♀*		1♀	1♂		1♂	
" 657	7	2						1♂*		1♂	2♂1♀	
" 439	14	5			2♀	1♂		1♀	1♀*		5♂2♀	
" 433	3	2				1♂1♀						
" 576	7	0									3♂4♀	
Total	35 { ♀15 ♂20	12 { ♀7 ♂5			2♀	2♀		2♀	1♀	1♂	1♂	18 { ♀7 ♂11

\* 骨髄性白血病マウス

70.6%に達し、自然発生白血病の64.6%より高い。更に特異な所見は自然発生白血病では全く認められなかつた骨髓性白血病が3例認められたことである。即ち9ヶ月で発症した No. 3096 ♀, 12ヶ月で発症した No. 3103 ♂, 14ヶ月で発症した No. 3119 ♀ の3例である。これらのマウスは末梢血液像, 脾及びリンパ腺細胞像, 組織標本, 組織培養法による所見らによつて骨髓性白血病であることが確認されたもので詳しくは後述する。

2. 移植白血病無細胞濾液の同系新生児マウスへの接種

自然発生リンパ性白血病より細胞移植により継代している OHS-LL. No. 1 株の第1代, 第3代, 第7代について無細胞濾液を作り, 同系新生児マウスに接種した(表2)。本実験でも被接種マウス25例中9例が感染死し, 残り16例(♀10, ♂6)中11例(♀8, ♂3)に白血病の発生が見られた。白血病の発生は全例6ヶ月以後であり, 10ヶ月までに発症せるもの6例(54.5%)であり, 発症率は68.8%であつた。本実験群では自然発生白血病の無細胞濾液接種の場合より発症率はやや低く自然発生白血病の場合と差はなかつた。しかし白血病発生の促進は認められ, 特に雌で顕著であつた。発生した白血病はすべてリンパ性白血病で, 骨髓性白血病は認められなかつた。

3. 自然発生リンパ性白血病組織のFluorocarbone 胞出液の接種

Epstein<sup>16)</sup> は Fluorocarbone を用いて Vaccinia Virus が活性を失なうことなく純化されることを報告し, 岡田ら<sup>44)</sup> は AKR 白血病ウイルスの抽出に本法を応用して白血病原性がよく保たれることを報告している。私も本法を1例の C58 自然発生リンパ性白血病組織を用いて試みた。

表3に示す如く同系新生児マウス7例(♀5, ♂2)に接種し5例(♀4, ♂1)の白血病発生を認めた。発症は8~14ヶ月の間で促進は認められなかつたが, 本実験群からも1例の骨髓性白血病の発生が認められた。

4. C58 哺乳児マウスへの接種(表4)

自然発生白血病4例, 移植白血病2例, 計6例の無細胞濾液を25例の哺乳児マウス(生後3~7日)に接種した。うち4例が感染死したが, 残り21例(♀12, ♂9)中15例(♀9, ♂6)に白血病が発生した。発症率は71.4%で6ヶ月以前の発症はなく, 10ヶ月以内の発症も4例(26.6%)に過ぎず, 発症の促進は認められなかつた。本実験群からも1例骨髓性白血病の発生が認められた。

5. 同系新生児マウスによる無細胞連続接種の試み

C58 自然発生白血病を origin として同系新生児マウスにより無細胞連続接種を行ない, 白血病病原性の強化が起るかどうかを試した。

第1代は表1, No. 439 ♀ に由来する無細胞濾液接種群で7例中5例の発症が見られた。そのうち最

表 2 移植白血病無細胞濾液の接種

Donor mice	No. of mice inoculat.	No. of mice leuk.	months of leukemia develop.								No. of mice died of infection
			2~4	4~5	6~8	8~10	10~12	12~14	14~16	16~	
LL <sub>1</sub>	10	4			1♀	1♀			2♂		5♀
LL <sub>3</sub>	7	2					1♀			1♀	4♂
LL <sub>7</sub>	8	5			1♀	1♀	1♀			2♂	
total	25 { ♀16 ♂9 }	10 { ♀8 ♂3 }			2♀	2♀	2♀		2♂	1♀ 2♂	9 { ♀5 ♂4 }

LL<sub>1</sub>, LL<sub>3</sub>, LL<sub>7</sub> はそれぞれ移植第1代: 第3代: 第7代のリンパ性白血病マウスを示す。

表 3 Fluorocarbon 抽出液の接種

Donor mice	No. of mice inoculat.	No of leuk.	months of leuk. develop.								No of mice died of infection
			2~4	4~6	6~8	8~10	10~12	12~14	14~16	16~	
C58 — 402	7 { ♀5 ♂2 }	5 { ♀4 ♂1 }				2♀	1♀	1♀		1♂*	0 0

\* 骨髓性白血病マウス

表 4 哺乳幼若マウスへの接種

Donor mice	No of mice inoculat.	No of leuk.	months of leuk. develop.								No. of mice died of infection	
			2~4	4~6	6~8	8~10	10~12	12~14	14~16	16~		
C58 — 861	4	4				2♀	1♀	1♂				
" 595	3	3						1♀	1♀	1♀1♂		
" 576	5	2				1♀		1♂				2♀
" 675	3	2			1♀			1♀				
" LL <sub>1</sub>	3	2								1♀1♂		
" LL <sub>3</sub>	4	2					1♀	1♀*				2♂
total	25 { ♀ 14 ♂ 11 }	15 { ♀ 10 ♂ 5 }			1♀	3♀	1♀ 1♂	3♀ 2♂	3♀ 2♂	2♀ 2♂		4 { ♀ 2 ♂ 2 }

\* 骨髄性白血病マウス

も潜伏期の短かつたもの (No. 1182 ♀ 7ヶ月, リパン性白血病) より第2代接種を3例の新生児マウスに行なつたところ1例は接種後6ヶ月 (C58-1263 ♀) にリンパ性白血病を発生した。同マウスより更に第3代接種を6例の新生児マウス (♂ 3, ♀ 3) に行なつたところ, うち1例 (C58-1288 ♀) は接種後2ヶ月でリンパ球性白血病を発生した。しかし他の5例は接種後8ヶ月現在, 白血病の発生を認めず, 又2ヶ月の潜伏期で発症した No. 1288 よりの第4代接種群5例 (♂ 3 ♀ 2) も期待に反して6ヶ月現在1例も発症していない。

## II. 骨髄性白血病の発生及びその血液学的所見について

既に第I編で述べた如く C58 マウスの自然発生白血病はすべてリンパ性白血病であつた。

同系新生児への無細胞濾液接種により上記の如く, 発生した白血病46例中5例 (10.9%) の骨髄性白血病が認められた。即ち新生児期に自然発生リンパ性白血病の無細胞濾液を接種して発生した C58-3096 ♀ (19ヶ月発症), C58-3103 ♂ (12ヶ月), C58-3119 ♀ (14ヶ月), Fluorearbone 抽出液を接種した C58-3173 ♂ (13ヶ月) 及び生後5日目に無細胞濾液を腹種した C58-3204 ♂ (12ヶ月) の5例である。いずれも肝, 脾, リンパ腺の腫大を触知し, 検血上貧血, 白血球増多, 骨髄芽球及び幼若好中球系の多数出現があり, 慢性骨髄性白血病様の血液像を示した (写真 1)。剖検所見, 骨髄像, 脾及びリンパ腺スタンプ像, 臨床組織培養法, 病理組織所見らよりいずれも骨髄性白血病であることが確められた。以下その血液学的所見, 病理所見を述べ, リンパ性白血病との比較鑑別点を述べる。

### 1. 末梢血液像 (表 5)

赤血球数は No. 3173 ♂ の620万より No. 3103 ♂ の960万の間にあり, 平均747万, Hb 値は最低55%より最高94%を示し, 平均72%でいずれも軽ないし中等度の低色素性貧血を呈した。その平均値に於いて自然発生リンパ性白血病よりは軽度であつた。

白血球数は全例著明に増加し, 96,000~246,000 の間にあり, 平均156,000であつた。末梢血液像は全例著しく特徴的で一見して慢性骨髄性白血病の印象を与えた。芽細胞の出現は7~16%, 平均11.8%あり, 桿状核ないし分節核の成熟好中球が著しく増加し, 更に前骨髄球1~2%, 骨髄球2~8%, 後骨髄球6.5~18.0%の出現が認められ, 芽細胞よりこれらの細胞への一連の成熟段階が認められた。出現した芽細胞は自然発生白血病のリンパ芽球に比して胞体は巾広く, 不正円型で時に突起を有し, 核は多く扁在し, 核網は繊細で凝集傾向を示さず, 核小体は1~2ヶ円~楕円型で Chromatin border は厚く明瞭であつた。核は不正円型ないし腎型で切込みは認められなかつた。これらの May-Giemsa 染色上の所見は人の骨髄性白血病に出現する骨髄芽球に類似し, 更に好中球系細胞への成熟過程の連らなりが認められ, 本白血病細胞が骨髄性のものであることが推定された。

### 2. 剖検及び病理組織所見

いずれも自然死前に屠殺剖検した。5例ともほぼ同一の肉眼的並びに組織学的所見を示した。剖検上いずれも著明な肝, 脾, リンパ腺腫脹を認めた。脾腫は一般にリンパ性白血病例より著しく, 表面は貧血性, 斑状灰白色の浸潤巣を認めた。肝腫大も著明で表面は貧血状, 肝小葉構造に一致した網状細胞浸

表 5 骨髓性白血病末梢血液像

		No. 3096 ♀	No. 3103 ♂	No. 3119 ♀	No. 3173 ♂	No. 3204 ♂
R. B. C.	( $\times 10^4$ )	880	960	735	620	540
Hb	(%)	86	94	70	55	46
Reticulocytes	(%)	24	32	84	36	—
platelets	( $\times 10^4$ )	32.56	33.60	20.58	17.36	14.04
W. B. C.		123,000	96,500	142,000	175,000	246,500
Myeloblast		16.0%	15%	9.0%	12%	7%
Neutrophile	Promyelo	1.0%	1%	0	2%	2%
	Myelocyte	2.5%	6%	2.0%	8%	4%
	Metamyelo	6.5%	18%	7.5%	11%	12%
	Band form	14.5%	26%	19.0%	23%	31%
	Segment n.	38.0%	29%	51.0%	33%	34%
	total	62.5%	60%	79.5%	77%	83%
Eosinophile		0.5%	1%	0	1%	0
Basophile		0	0	0	0	0
Monocyte		0	1%	0	1%	0
Lymph.	large Ly.	0	3%	1.5%	0	2%
	small Ly.	21.5%	20%	10.0%	9%	8%
	total	21.5%	23%	11.5%	9%	10%

潤が認められた。リンパ腺腫脹は腸間膜リンパ腺で著明であつたが、表在性リンパ腺の腫大はリンパ性白血病より軽度であつた。又胸腺の腫大はいずれも認められなかつた。尚これらの腫大せるリンパ腺の色調は正常リンパ腺と同じで、Graffi<sup>27)</sup>, Gross<sup>24)</sup>らの報告した緑色白血病は認めなかつた。病理組織所見は以下の如くである。

肝；瀰漫性に白血病細胞の浸潤があり、中心静脈周囲、グリソン氏鞘に著しい。ドーナツ状の核を有する幼若好中球が多数浸潤増殖しているのが認められる(写真7)。白血病細胞は肝小葉の静脈洞内にも多数浸潤し、静脈洞は拡大し、肝細胞索は圧迫萎縮に陥つている。

脾；白血病細胞の瀰漫性の強度の浸潤のため脾濾胞の像は完全に失なわれ、脾梁、被膜下にも著明な好中球系幼若細胞の浸潤が認められる(写真11)。

リンパ腺；辺縁洞、髓質ともに白血病細胞で充満し、リンパ腺固有の構造は全く失なわれている(写真10)。

肺；細気管支、血管周囲に白血病細胞の強い浸潤があり、肺胞は圧迫され atelektatisch である。肺胞隔壁にも白血病細胞の浸潤がある。

腎；皮質、髓質とも血管周囲、糸球体周囲に白血病細胞の浸潤が著明である。

骨髓；赤色髓の拡大と密な好中球系細胞の増殖を認め(写真12)、骨膜下及び周囲筋組織内にも浸潤が及んでいる。

### 3. 骨髓像(表6)

顆粒系球幼若細胞の増加が著明に認められた。骨髓芽球は12.2%から30.2%の間にあり、平均19.6%の出現を認め、前骨髓球9.6~16.0%、骨骨髓球4.2~17.2%、後骨髓球9.6~25.0%といずれも著明に増加している。また核分割像は1.4~3.0%認められ、骨髓像でも本白血病は慢性骨髓性白血病の像を呈した。Peroxydase 反応は前骨髓球、後骨髓に強陽性であるが成熟好中球は弱陽性を示し、骨髓芽球は約半数が弱陽性の反応を示した。

### 4. 脾並びにリンパ腺細胞像(表7, 8)

脾、リンパ腺とも多数の好中球系幼若細胞の出現が認められ、特に脾では26.2~52.4%、平均19.6%の骨髓芽球の出現が認められた。リンパ腺でも脾と同一形態の骨髓芽球が11.6~26.2%出現し、幼若好中球系細胞の浸潤が著明であり、リンパ系幼若細胞は殆ど認められない。脾及びリンパ腺に現われる白

表 6 骨髓性白血病骨髓像

		No. 3096 ♀	No. 3103 ♂	No. 3119 ♀	No. 3173 ♂	No. 3204 ♂
Erythroblast		1.6%	4.8%	0.8%	4.2%	3.6%
Myeloblast		19.6%	20.4%	12.2%	30.2%	15.4%
Neutrophile	Prouyelo	9.6%	13.2%	16.0%	10.6%	9.8%
	Myelocyt	16.8%	17.2%	9.4%	8.4%	4.2%
	Metamyelo	22.8%	25.0%	21.6%	19.2%	9.6%
	Band form	13.4%	4.8%	13.0%	6.6%	19.4%
	Segment. n.	5.2%	1.2%	4.4%	8.2%	16.2%
total		67.8%	61.4%	64.4%	53.2%	59.2%
Eosinophile		0.4%	0	0.6%	0.4%	0.4%
Basophile		0	0	0	0	0
Monocyte		0	0.4%	0.2%	0.2%	2.0%
Lymph	large Ly	0.8%	0	2.0%	0	0.6%
	small Ly	8.2%	11.2%	16.4%	9.4%	15.0%
	total	9.0%	11.2%	18.4%	9.4%	15.6%
Mitosis		1.4%	1.6%	3.0%	1.8%	1.8%
Reticulum cell		0	0	1.2%	0.8%	1.4%
Plasma cell		0.2%	0.2%	0	0	0.8%
Others		0	0	0	0	0

表 7 骨髓性白血脾病細胞像

		No. 3096 ♀	No. 3103 ♂	No. 3119 ♀	No. 3173 ♀	No. 3204 ♂
Myeloblast		43.8%	34.0%	62.4%	30.0%	26.2%
Neutrophile	Promyelo	5.6%	1.0%	4.0%	2.8%	6.2%
	Myelocyte	10.4%	2.0%	7.2%	4.2%	4.0%
	Metamyelo	9.2%	5.2%	10.6%	12.6%	7.0%
	Band form	6.0%	5.8%	4.2%	4.9%	11.2%
	Soyment. n	2.4%	3.6%	1.8%	2.6%	5.4%
total		33.6%	17.6%	27.8%	26.6%	33.8%
Lymph	young Ly.	0	2.0%	0	4.2%	4.6%
	large Ly.	1.6%	2.0%	4.0%	3.2%	2.4%
	small Ly.	11.6%	36.6%	11.2%	24.6%	24.8%
	total	13.2%	40.5%	15.2%	32.0%	31.8%
Mitosis		0.4%	0.4%	0.2%	1.0%	0.6%
Erythroblast		8.4%	6.2%	3.6%	9.4%	5.8%
Ret. cell		0.4%	1.0%	0.8%	0.8%	1.6%
Plasma cell		0	0.2%	0	0.2%	0.2%
Others		0.2%	0	0	0	0

表 8 骨髓性白血病リンパ腺細胞像

		No. 3096 ♀	No. 3103 ♂	No. 3119 ♀	No. 3173 ♂	No. 3204 ♂
Myeloblast		11.6%	16.0%	23.6%	26.2%	12.2%
Nent.	Promyelo	5.2%	4.0%	3.8%	2.8%	4.2%
	Myelocyt	12.4%	4.8%	9.2%	11.6%	7.2%
	Metamyelo	24.4%	18.4%	12.6%	15.2%	13.8%
	Band form	15.6%	18.6%	10.4%	9.8%	10.4%
	Seg. n.	7.6%	6.6%	2.8%	4.4%	8.8%
	total	65.2%	52.4%	38.8%	43.8%	44.4%
Lymph.	young Ly.	0	1.0%	3.2%	1.8%	2.4%
	large Ly.	1.2%	2.2%	1.0%	1.6%	0.4%
	small Ly	22.0%	26.8%	30.6%	25.0%	38.6%
	total	23.2%	30.0%	34.8%	28.4%	41.2%
Mitosis		0	0.8%	1.6%	0.6%	0.8%
Ret. call		0	0.4%	0.4%	0.4%	0.6%
Plas. cell		0	0.4%	0.8%	0.6%	0.6%
Erythroblast		0	0	0	0	0
Others		0	0	0	0	0

血病細胞は形態学的に末梢血で述べたのと同様でリンパ性白血病の像とは明瞭に区別できた(写真3, 4)。また圧挫標本による位相差所見も骨髓性白血病細胞の特徴が認められた。即ち、骨髓芽球は大型円形の細胞で、核は円形ないし楕円形で核膜は明瞭、核網は比較的繊細であり、核小体は大きく通常3~4ヶ認められる。細胞質内には大型桿状の糸粒体が核周にほぼ均等に分布し、多少成熟した細胞ではGolgi野附近に少数の顆粒を認めた(写真5)。

5. 骨髓性白血病細胞の電顕所見(写真13)

脾の電顕的観察で認められる細胞は主として骨髓芽球、幼若骨髓系細胞と少数の赤芽球、細網細胞らであった。骨髓芽球は細胞縁はほぼ平滑円形で、核は円形で中央に位置し核質は均等で中等度の密度を示すが多くは核周に凝集の傾向を認める。核小体は大きく電子密度高く均質無構造である。リンパ芽球の如き深い核の切込みは認められない。胞体はリンパ芽球に比し、小胞体、糸粒体とも多く、よく発達している。小胞体は主に粗面小胞体で、細管状、しばしば内腔の拡大を示す。糸粒体はリンパ芽球に比してやや小型楕円形のものが多く核周に散在する。Golgi体はリンパ芽球の場合と同じく骨髓芽球でも発達が悪く、人の骨髓芽球の如く明瞭に認められるものは少なかった。

III. 骨髓性白血病の移植実験

上記の骨髓性白血病はいずれも細胞移植により同系成熟マウスに移植可能であつて3~4週で100%白血病を来した。このうちNo. 3096をoriginとして現在まで46代細胞移植により継代中で、この白血病株はOHS-ML. No. 2と命名されている。この移植白血病株は継代第5代まではほぼもとの白血病に近い血液像を示し、移植後14~16日で死亡したが、その後生存期間は徐々に短縮し、移植8~10日で白血病死するようになった。血液像(表9)は移植第5代頃より骨髓芽球の出現が徐々に増加し、第20代頃より30~40%の出現を認めるようになった。一方前骨髓球、骨髓球らの幼若細胞は減少し、第7代以降ではこれらの細胞の末梢血中出現は極めて稀となりHiatus leukemicusを示して来た。骨髓芽球の形態も第20代頃より著明な核の変形、胞体の大型化、或は二核性のものなどが出現し、極めて悪性像の強いPrimitiveな細胞を思わせる形態的変化が見られるようになった。これらの変化は移植細胞のうち分裂増殖力の強い細胞が優勢となり、増殖力の弱い前骨髓球、骨髓球らは移植白血病では次第に消失して行くためと思われ、同様の現象はリンパ性白血病移植株でも認められたことは第I編で述べた通りである。骨髓像(表10)、脾リンパ腺細胞像に於ても

表 9 OHS—ML. No.2 株白血病の末梢血液像

		ML <sub>1</sub>	ML <sub>2</sub>	ML <sub>5</sub>	ML <sub>8</sub>	ML <sub>14</sub>	ML <sub>18</sub>	ML <sub>25</sub>
Survival (days)		22	16	14	12	8	8	7
W. B. C		142,000	159,500	130,000	74,500	66,500	122,500	145,000
Myeloblast		9.0%	18%	23%	27%	24%	40%	32%
Neutrophile	Promyelo	2.0%	2%	0%	0	0	0	0
	Myelo	4.0%	7%	2%	0	0	0	0
	Metamyelo	8.0%	12%	5%	4%	2%	3%	7%
	Band form	19.0%	8%	6%	6%	10%	7%	19%
	Segment n.	46.0%	27%	31%	28%	43%	24%	27%
total		79%	56%	44%	38%	55%	34%	53%
Easinophile		0	0	1%	1%	1%	0	1%
Basophile		0	0	0	0	0	0	0
Monocyte		0	1%	0	1%	0	2%	0
Lymph	large Lymph	2%	4%	3%	0%	2%	4%	2%
	small Lymph	10%	21%	29%	32%	18%	29%	12%
	total	12%	25%	32%	32%	20%	33%	14%
Mitosis		0	0	0	1%	0	1%	1%
Others		0	0	0	0	0	0	0

表 10 OHS—ML. No.2 株白血病の骨髓像

		ML <sub>2</sub>	ML <sub>5</sub>	ML <sub>10</sub>	ML <sub>14</sub>	ML <sub>25</sub>	ML <sub>38</sub>
Erythroblast		8.6%	9.4%	15.4%	3.2%	10.8%	11.0%
Myeloblast		21.6%	35.6%	28.4%	46.4%	51.0%	59.8%
Neutrophile	Promyelo	10.2%	7.6%	9.6%	5.2%	3.0%	4.6%
	Myelo	6.4%	2.2%	1.8%	2.8%	2.0%	1.0%
	Metamyelo	12.8%	6.4%	7.2%	6.2%	5.4%	2.6%
	Band form	13.2%	14.4%	12.2%	8.4%	7.2%	4.0%
	Segment n.	7.6%	4.4%	7.0%	7.0%	3.2%	2.8%
total		50.2%	36.0%	37.8%	29.6%	20.8%	15.0%
Eosinophile		0.8%	1.6%	0.8%	3.2%	2.0%	1.0%
Basophile		0	0	0	0	0	0
Monocyte		0.4%	0	0.2%	0.8%	1.2%	0
Lymph	large Ly	1.2%	1.8%	3.8%	2.0%	1.8%	1.0%
	small Ly	14.2%	14.2%	11.4%	10.4%	9.0%	9.8%
	total	15.4%	16.0%	15.2%	12.4%	10.8%	10.8%
Mitosis		1.8%	1.2%	0.8%	2.4%	2.2%	1.4%
Reticulum cell		0.8%	1.0%	1.2%	1.6%	0.8%	0.8%
Plasma cell		0.4%	0.2%	0.2%	0	0.4%	0.2%
Others		0	0	0	0	0	0

移植代数を重ねるにつれて骨髓芽球の出現率が増加し急性白血様様の所見を呈するようになった。

IV. 骨髓性白血病組織内のウイルスの電顕的検索  
 原発骨髓性白血病マウスの1例に就て、脾、リンパ腺を電顕的に観察したが、いずれの組織に於いても白血細胞間隙にウイルス粒子が認められた(写真14)。ウイルスは形態的にも、發育過程に於ても第I編で述べた自然発生リンパ性白血病の場合と異なつた点は認められなかつた。即ちウイルス粒子は所謂C型粒子で大きさ70~90m $\mu$ 、すべて細胞間隙または細胞表面に接して存在し、胞体内には成熟粒子はもとより、その未熟型と思われる粒子も認められなかつた。ウイルスの形成は白血細胞の膜面より budding により形成される像がしばしば認められた。

第4章 総括並び考案

ウイルス性白血病に於いて無細胞濾液接種によつて白血病の病型が変異すると云う現象は比較的稀なことである。Gross<sup>24)</sup>は Passage A virus を接種後胸腺を摘出した C<sub>3</sub>Hf マウスでは白血病の発生は低下し、潜伏期は延長されるが、これらの処置マウスに高率(26例中8例)に骨髓性白血病(Chloroleukemia)の発生することを報告した。ウイルスによつて起るマウスのリンパ性白血病の発生に胸腺が重要な役割をなしていることは多くの人によつて認められている<sup>33)36)37)40)</sup>。上記 Gross の所

見については、白血病原発巣である胸腺の摘出されるためリンパ性白血病の発生は著しく低下し、そのリンパ性白血病の罹患を免れた被接種マウスより比較的長い潜伏期の後に骨髓性白血病を発生して来るものと説明されている<sup>24)</sup>。同様の病型変異は Moloney 白血病に於いて脾摘出によつて起つている<sup>43)</sup>。しかしこれらが果して同一の白血病ウイルスによるものか否かは明らかにされていないが、Gross の骨髓性白血病は無細胞濾液によつては継代できず、次代無処置マウスへの接種ではリンパ性白血病に復帰しているから<sup>24)</sup>、これらの病型変異の原因としては二種の異なつたウイルスの存在よりもむしろ胸腺摘出という host の側の条件により同一ウイルスによつて異なつた白血病を生じて来たものと考えられる。

私は C58 マウスに自然発生したリンパ性白血病の無細胞濾液、Fluorocarbon 抽出液を同系新生児マウス及び少数の哺乳期マウス合計92例に接種し白血病発生率、潜伏期、発生して来る病型の観察を行なつた。うち31例は不慮の感染により死亡したが、生存した61例中43例、70.5%に白血病の発生を認めた。潜伏期は6~16ケ日に及んだが、10ヶ月以内の発症は16例、37.2%であつた。これは自然発生白血病の発生率64.6%、10ヶ月以内の発症18.1%に比して、発生率に於いてやや高く、10ヶ月以内の発症は2倍に増加しており、白血病発生促進が認められた。更に興味あることは、これらの被接種マウスより自

表 11 (Barns and Sisman<sup>2)</sup> より引用)

Myeloid leukemia	Non-malignant extramedullary myelopoiesis
Most myeloid cells are immature	All stages in the development of myeloid cells are present
Erythroid foci are absent among myeloid cells	Erythrogenic foci are usually absent
Megakaryocytes are few and present in the organs where they found in non-leukemic conditions	Megakaryocytes are usually numerous
Myeloid cells often invade muscle and other non-hemato-poietic tissue	Cells are non-invasive
Blood usually contains immature myeloid cells	Blood is either normal or there is leukocytosis with numerous mature forms
Liver is usually enlarged and grey-brown	Liver is usually not enlarged and is brown-red
Most of the lymph nodes are usually enlarged	Most of the lymph nodes are usually of normal size
Hemorrhages are frequent in viscera	Hemorrhagic manifestations are absent
Transmissible to other mice	Not yet shown to be transmissible
Not shown to be produced by bacteria	Can be produced by bacteria

然発生白血病では全く認められなかつた骨髓性白血病が5例(11.6%)発生したことである。C58或はAKRマウスらはGross<sup>26)</sup>の云うvertical transmissionにより先天的に白血病ウイルスの感染を受けており、ウイルスは一定の潜伏期を経て増殖し白血病を惹起せしめると考えられている。従つて新生児期に更に大量のウイルスを接種すれば白血病の発生が促進されることが予想される。Latarjet<sup>35)</sup>、岡田ら<sup>40)</sup>はAKRリンパ性白血病の無細胞濾液を同系新生児マウスに接種し白血病発生の促進を報告した。更に岡田らは同系新生児を用い無細胞濾液による連続継代接種を行ないAKR白血病の発生が2~3ヶ月に短縮されることを報告し、これらの被接種群から骨髓性白血病、形質細胞白血病、細網肉腫の発生を見ている<sup>40)</sup>。このような無細胞濾液接種による無条件の白血病病型の変異が極めて稀れに起ることはGraffi白血病<sup>7)</sup>、SL白血病<sup>31)</sup>でも報告されているが、私の本実験で得た結果もこのような現象の存在を強く裏付けるものと思われる。しからばこのような病型変異は如何なる機転により起るものであろうか。被接種マウスの側に何らの条件も加えていない故、その原因は恐らくウイルスの側にあるものと考えられるが、果して一種のウイルスによつて異なつた病型を生じたものが、或は異なつた二種以上のウイルスが混在するのであろうか。前者であるとすればPolyoma virusの如く多能性ウイルスによるものか、或はウイルス量の差によるものであろうか。このような問題に対して現在までの実験は明確な答をえ与えることはできないが、家鶏白血病でもこれに類似した興味ある実験がある。即ち、Burmesterら<sup>9)</sup>はMyeloblastosis strain Aの接種実験でMyeloblastosisの他、visceral lymphomatosis, renal adenocarcinomaの発生することを認め、接種するウイルス濃度が低いとMyeloblastosisの発生は減少しvisceral lymphomatosisの発生が増加して来ることを報告している。このことは逆に云えば大量のウイルス接種によりMyeloblastosisが発生して来ると云うことであり、事実visceral lymphomatosisからMyeloblastosisへの変異も報告されている<sup>20)</sup>。私の実験成績もこのような観点から見ると、同一ウイルスの大量の接種によつて骨髓性白血病が発生したものととも考えられる。しかし家鶏白血病の病型変異も単に接種ウイルス量の差のみで充分説明される訳ではない。Burmesterら<sup>9)</sup>の実験でもMyeloblastosisの発症は平均23~38日の短い潜伏期で起るのに反

し、visceral lymphomatosisの発生には166~180日を要している。従つてウイルス接種量が少ないとMyeloblastosisに罹患して死亡するものが減少し、相対的にlymphomatosisの発生が増加するものであり、lymphomatosisは全く別種の潜伏期の長いウイルスによつて起る可能性も考えられる。一方家鶏白血病のMyeloblastosisとErythroblastosisとの間には病型変異は起らず<sup>9)</sup>、電顕的には全く同一形態のウイルスが認められているが<sup>20)</sup>、その年令的感受性の差、病原性、Forssman抗原の有無、ATPase活性、沈降反応らにおいて両者に差異が認められ<sup>5)8)</sup>、各々別個のウイルスの存在が想定されている。このように家鶏白血病では形態的にも免疫学的にも極めて類似するが、病原性の異なる二種以上のウイルスの存在していることの方がPolyomaの如き単一多能性ウイルスの存在よりも確からしく思われている。

私も両マウス白血病に於いて、電顕的に両者の白血病ウイルスがその形態、所在、形成過程らに於いて全く同一であつたことを認めたが、教室の平木、大藤ら<sup>30)</sup>は本実験で得られた骨髓性白血病及び岡田らの実験<sup>40)</sup>で得られたAKR骨髓性白血病のウイルスについて、蛍光抗体法、補体結合反応らの免疫学的方法を用いて原白血病(リンパ性白血病)ウイルスとの比較を行ない、両者の抗原性には共通部分があり類縁のウイルスであるが、少しづつ抗原性の異なる部分があり、一応別種のウイルスであることを認め、結局マウス白血病にはこの両型ウイルスの混合が考えられ、リンパ性白血病ウイルスのリンパ組織に対する親和性は骨髓性白血病ウイルスの骨髓組織に対する親和性より強く、それが移植中偶々何らかの要因で後者が前者に優越することが病型変異の直接の要因であろうと説明している。

ウイルス性白血病に於ける病型変異は極めて興味ある問題であるが、その前提として正確な白血病病型の診断が必要であり、その決定に慎重でなければならぬ。マウスに於ける骨髓性白血病の記載はSimonds<sup>47)</sup>、Furth<sup>19)</sup>、Kirschbaum and Strong<sup>34)</sup>、Barns and Sisman<sup>2)</sup>らによりSlye系、Rf系、F系、S系マウスらで見られ、ウイルス性白血病ではGraffi<sup>27)</sup>のAgnes Bluhm系マウスの緑色白血病がよく知られている。しかしC58、AKR系マウスでは骨髓性白血病の発生は極めて稀れである。一方マウスでしばしば出現する髓外造血や類白血病反応が骨髓性白血病と紛らわしく、その診断を著しく

困難にすることは Barns and Sisman<sup>2)</sup>, Dunn<sup>12)</sup>らの綜説にも強調されているところである。Barns and Sisman は表11に引用した諸点を挙げて骨髄性白血病と非悪性の髄外造血との鑑別点としている。私の経験した5症例はいずれも同系成熟マウスに細胞移植可能であり、末梢血中の骨髄芽球の出現、肝脾リンパ腺の腫脹、全身臓器への白血病細胞浸潤を認め血液学的にも病理組織学的にも骨髄性白血病であることを明らかにした。既に第1編で述べた如く、リンパ性白血病、とくに細胞移植白血病ではリンパ芽球の浸潤にともなつて骨髄系細胞の類白血病反応が起ることがあり、末梢血中に多数の幼若顆粒球が出現し診断を複雑にする。しかし、脾、リンパ腺細胞像は両白血病に於いてかなり明瞭な差があり、末梢血中に多数の幼若好中球が出現していても、リンパ性白血病の場合は脾及びリンパ腺細胞像では主としてリンパ芽球が出現し、骨髄系細胞はほとんど出現しなかつた。これに反し骨髄性白血病では脾、リンパ腺とも骨髄系幼若細胞の出現が大多数を占め、骨髄像でも Peroxydase 反応陽性の骨髄系幼細胞が著しく増加していた。しかし両白血病鑑別の根本は白血病細胞の主体をなすリンパ芽球の識別にあることは言を待たない。両者の鑑別は May-Giemsa 染色標本上では区別困難のことも多く、私はこれらの鑑別を主として脾やリンパ腺に出現する芽球について May-Giemsa 標本、Peroxydase 反応、圧挫標本による位相差所見、電顕像、簡易組織培養所見らを総合して行ない、多くの場合両者の鑑別は可能であつた。May-Giemsa 標本では骨髄芽球は一般にリンパ芽球より大型で胞体は巾広く、淡く好塩基性に染り顆粒は認められなかつた。核はほぼ円形でリンパ芽球の如く切込みは有さず、核網はリンパ芽球に比し繊細で核小体も明瞭であつた。位相差所見ではリンパ芽球が1~2の深い切込みを核に有し、核網は

比較的粗で糸粒体は多く核の切込みの部に集まつている。骨髄芽球は円形胞体は巾広く、核も円形で切込みは認められず、核網は繊細、核小体も明瞭であつた。糸粒体はほぼ均等に胞体内に散在する。電顕像ではリンパ芽球は糸粒体、小胞体とも少なく胞体は極めて単調であり、核の深い切込みをしばしば認めたが、骨髄芽球では糸粒体はやや小さく数も多い。小胞体もかなりよく発達し、核は円形で切込みは矢張認められなかつた。以上の所見は骨髄芽球とリンパ芽球の主たる鑑別点であり、多くの症例でこれ等鑑別点によつて両者は比較的明瞭に区別することができた。更に教室考案の平木式簡易培養法、螢光培養法による鑑別により一層明確にされたが、これらについては第3編で詳述する。

### 第5章 結語

C58 系マウス自然発生白血病組織の無細胞濾液を同系新生児及び哺乳期マウスに接種し白血病の発生の促進、発生した白血病病型について観察を行なつた。被接種マウス61例中43例、70.5%に白血病が発生し、潜伏期は6~16ヶ月にわたつたが、10ヶ月以内の発症は16例、37.2%あり自然発生白血病より促進が認められた。また43例中38例はリンパ性白血病であつたが5例は骨髄性白血病への病型変異が認められた。これらは血液学的には慢性骨髄性白血病の病像を呈し、全身臓器に顆粒球系幼若細胞の著明な浸潤が認められた。またこれらの白血病に出現した骨髄芽球について May-Giemsa 染色標本、位相差顕微鏡所見、電顕所見らの特徴を明らかにしリンパ芽球との鑑別的を明らかにした。この骨髄性白血病は同系マウスに100%可移植性を示し、現在その移植継代株を OHS-ML. No. 2 と命名している。

稿を終るに臨み御指導御校閲戴いた恩師平木教授並びに大藤助教授に深く感謝致します。

### 文

- 1) Amano, S. Ichikawa, Y. and Iwakata, S., Peculiarity of leukemia and cancer viruses based on our recent investigations utilizing ultra-thin sections by electron microscopy, *Acta Pathol. Jap.*, 8; 615, 1958.
- 2) Barnes, W.A. and Sisman, I. E., Myeloid leukemia and non-malignant extramedurally myelopoiesis in mice, *Am. J. Cancer*, 37; 1, 1939.

### 献

- 3) Barnes, W. A. and Furth, J., A transmissible leukemia in mice, *Am. J. Cancer*, 30; 75, 1937.
- 4) Beard, D., Virus of avian erythroblastosis, *J. Nat. Oancer Inst.*, 18; 231, 1957.
- 5) Beard, J. W., Etiology of avian leukosis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 68: 4 73, 1957.
- 6) Bernhard, W. et al., Ultrastructure of viruses of myeloblastosis isolated from plasma of leukemic

- chickens, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 97; 48, 1958.
- 7) Bielka, H. Fey, F. and Graffi, A., Uber mogliche Eigenschaft-andeungen onkogenen Agens nach Zellfreier Passage, Naturwissenschafter, 42; 563, 1955.
  - 8) Bonar, R. A. et al, Virus of avian erythroblastosis, J. Nat. Cancer Inst., 19; 909, 1957.
  - 9) Burmeqter, B. R. et al, The oncogenic spectrum of two pure strains of avian leukosis, J. Nat. Cancer Inst., 23; 277, 1959.
  - 10) Carr, J. G., Renal adenocarcinoma induced by fowl leukosis virus, Brit. J. Cancer, 10; 39, 1956.
  - 11) Dawe, C. J. Law, L. W. et al, Studies of parotid tumor agent in cultures of leukemic tissue of mice, J. Nat. Cancer Inst., 23; 717, 1959.
  - 12) Dunn, T. B., Normal and pathological anatomy of the reticular tissue in laboratory mice, J. Nat. Cancer Inst., 14; 1281, 1954.
  - 13) Ellermann, V. and Bang, O., Experimentelle Leukemie bei Hunern, Centralbl. f. Bak. IAbt., 46; 595, 1908.
  - 14) Engelbreth-Holm, J. and Rothe-Myer, A., Bericht uber neue Erfahrungen mit einem Stamm Huhner Erythroblastosen, Acta Path. Microbiol. Scand., 9; 293, 1932.
  - 15) Engelbret-Holm, J., Is it possible to transmit or accelerate the development of mouse leukemia by tissue extracts?, Blood, 3; 862 1948.
  - 16) Epstein, M. A., An investigation into the purifying effect of a fluorocarbon on vaccinia virus, Brit. J. Exp. Path., 39; 46, 1958.
  - 17) Friend, C., Cell-free transmission in adult Swiss mice of a disease having the character of leukemia, J. Exp. Med., 105; 307, 1957.
  - 18) Furth, J. and Strumia, M. Studies on transmissible lymphoid leukemia of mice, J. Exp. Med., 53; 253, 1933.
  - 19) Furth, J., Transmission of myeloid leukemia of mice, J. Exp. Med., 61; 423, 1935.
  - 20) Furth, J., Lymphomatosis, myelomatosis and endothelioma of chickens caused by a filtrable agent, J. Exp. Med., 58; 253, 1933.
  - 21) Gross, L., "Spontaneous" leukemia developing in C3H mice following inoculation, in infancy, with Ak-leukemic extracts, or Ak embryos, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 76; 27, 1951.
  - 22) Gross, L., "Oncogenic Viruses", pp. 148-185, 1961. Pergamon Press. New York.
  - 23) Gross, L., A filtrable Agent recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 83; 414, 1961.
  - 24) Gross, L., Development of myeloid (chloro) leukemia in thymectomized C3H mice, following inoculation of lymphatic leukemia virus, Proc. Exp. Biol. Med., 103; 509, 1960.
  - 25) Gross, L., Attempt to recover filtrable agent from X-ray-induced leukemia, Acta haemat., 19; 353, 1958.
  - 26) Gross, L., Pathogenic properties and "vertical" transmission of the mouse leukemia agent, Proc. Exp. Biol. Med., 78; 342, 1958.
  - 27) Graffi, A., Chloroleukemia of mouse, Ann. N. Y. Acad. Sci., 68; 540, 1951.
  - 28) 平木 潔, 入野省三他, 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, 白血会誌, 25: 822, 1962.
  - 29) 平木 潔, 入野省三他, X線照射により惹起せしめた RF 系白血病の無細胞濾液移植に関する研究, 白血会誌, 25: 816, 1962.
  - 30) 平木 潔, 大藤真他, ウイルス性白血病の病型変異とその機転, 最新医学, 17: 2982 1962.
  - 31) 市川康夫, SL マウス白血病の研究, 第4報, 接種実験, 白血会誌, 25: 743, 1962.
  - 32) Irino, S. et al, Cell-free transmission of 20-methylcholanthrene induced RF mouse leukemia and electron microscopic demonstration of virus particles in its leukemic tissue, GANN, 54; 225, 1963.
  - 33) Kaplan, H. S. et al, Indirect induction of lymphomas in irradiated mice, Cancer Research, 16; 422, 1956.
  - 34) Kirschbanm, A. and Strong, L. C., Leukemia in the F strain of mice, Am. J. cancer, 37; 400, 1939.
  - 35) Latarjet, R., Carcinogenesis by leukemic cell-

- free extracts in mice, Ciba Foundation Symposium, Carcinogenesis, p.274, 1959.
- 36) 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, 1950.
- 37) Levinthal, J. D. and Buffett, R. F., Thymectomy and thymic graft in mouse leukemia, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 106, 426, 1961.
- 38) Lievermann, M. and Kaplan, H. S., Leukemogenic activity of filtrate from radiation-induced lymphoid tumors of mice, Science, 139; 387, 1959.
- 39) MacDowell, E. C. et al, Experimental leukemia, Year, Book, No. 38, Carnegie Inst, of Washington, p. 191, 1939.
- 40) MacEndy, D. P. et al, On the role of thymus, spleen and gonads in the development of leukemia in a high leukemic stock of mice, Cncr Res., 4; 377, 1944.
- 41) Moloney, J. B. Biological studies on a lymphoid leukemia virus extracted from Sarcoma-37, J. Nat. Cancer Inst., 24; 933, 1960.
- 42) Moloney, J. B., Murine Leukemia, Fed. Proc., 21; 19, 1962.
- 43) Oberling, C. and Guerin, M., Nouvelles recherches sur la production de tumeurs malignes avec le virus de la leucemie transmissible des poules, Bull. du Cancer, 22; 320, 1933.
- 44) Okada, K. et al, Studies on leukemogenesis by cell-free filtrates of AKR mouse leukemia, Acta haemat. Jap., 25; 1, 1962.
- 45) Richter, M. W. and MacDowell, E. C., Experiments with mammalian leukemia Physiol. Rev., 15; 509, 1935.
- 46) Rous, P., Transmission of a malignant new growth by mean of cell-filtrates, J. Am. Med. Assc., 56; 168, 1911.
- 47) Simonds, J. P., Leukemia, pseudoleukemia, and related conditions in the Slye stock of mice, J. Cancer Res., 9; 329, 1925.
- 48) 白石彰徳他, C58 マウス白血病の研究, 日血会誌, 24:280, 1961.
- 49) 白石彰徳他, C58 マウスリンパ性白血病の研究 第20回日本癌学会記事: P. 120, 1961.
- 50) Snell, G. D., Biology of laboratory mouse, pp. 416-418. Dover Pub. Inc., New York, 1954.
- 51) Stewart, S. E. Eddy, B. E. et al, The induction of neoplasms with a substance released from mouse tumor by tissue culture, Virology, 3; 370, 1957.
- 52) Stubbs, E. L. and Furth, J. The relation of leukemia to sarcoma of chicken, J. Exp. Med., 61; 593, 1935.

## 写真説明

1. C58 マウス骨髄性白血病末梢血液像。
2. 同, 骨髄像, Peroxydase 反応陽性の好中球系幼若細胞
3. 同脾細胞像。
4. 同リンパ腺細胞像。
5. 骨髄芽球の位相差像 (リンパ腺圧搾標本)
6. リンパ芽球の位相差像。
7. 骨髄性白血病マウス肝組織標本, グリソン氏鞘に著明な幼若好中球の浸潤を認める。
8. 同上, 肝小葉内の細胞浸潤, 肝細胞の萎縮変性が著明。
9. リンパ性白血病マウスの肝組織, 肝小葉内への白血病細胞浸潤は少い。
10. 骨髄性白血病マウスのリンパ腺組織標本。ドーナツ状核の幼若好中球の浸潤が著明。
11. 同上脾の組織標本。
12. 骨髄性白血病マウスの骨髄組織標本。
13. 骨髄性白血病マウス脾の電頭像。
14. 骨髄性白血病マウスのリンパ腺組織内に認められたウイルス粒子の電頭像, X52.500

Studies on Leukemia in The C58 Strain of Mice  
Part 2. Isologous transmission of leukemia by cell-free extracts  
from leukemic tissue of mice

By

Shinya SUZUKI

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

Isologous inoculations of cell-free extracts from the lymphatic leukemia in the C58 mice were performed using new born and suckling mice.

1. Among the 92 inoculated mice, 31 had died of unknown infectious disease 1 or 2 months after the inoculation. Another 61 survived mice were observed for the development of leukemia thereafter.

Forty three of them (70.5%) developed leukemia after the latent periods varying from 6 to 16 months. During the period of 6 to 10 month, 16 mice developed leukemia (37.2% of all leukemias developed). This was higher in incidence comparing with the incidence of leukemia occurred (13.1%) in the control group within the same period. These fact indicates the acceleration of leukemia development by the isologous inoculation of the leukemic filtrate.

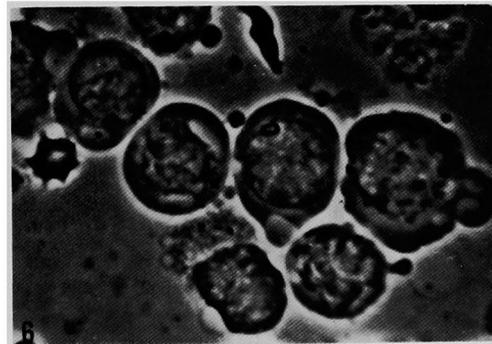
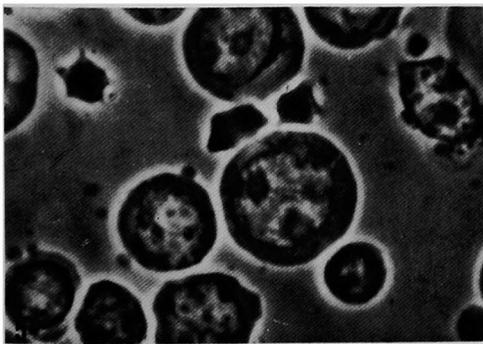
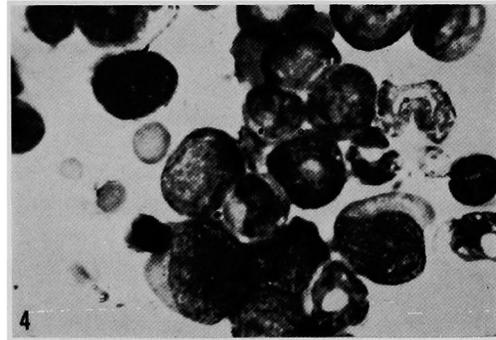
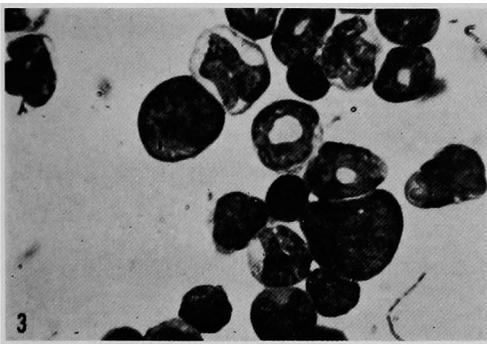
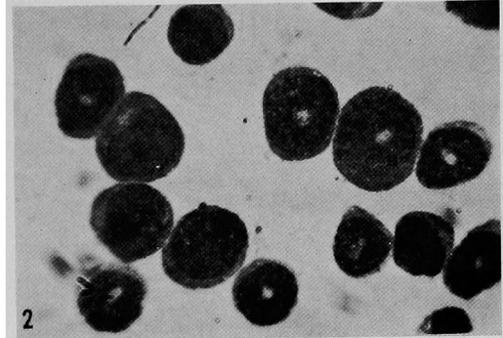
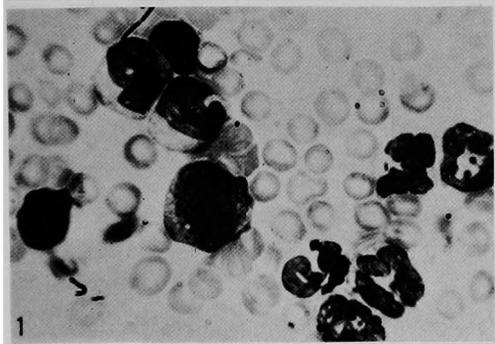
2. Five of the inoculated mice (8.2%) developed myelogenous leukemia which had not been observed in the spontaneous case. Possibility of the transformation of leukemic type from lymphatic to myelogenous by the inoculation of leukemic filtrate was discussed in this paper, although its exact mechanism is not clear as yet.

3. Cytological studies of myelogenous leukemia were performed. Peripheral blood, myelogram and impressed preparations of lymph node and spleen showed numerous appearance of myeloblasts and immature myeloid cells. In May-Giemsa stained preparations, myeloblast showed broad basophilic cytoplasm and eccentrically located nucleus with fine chromatin network and clearly defined nucleoles. Nuclear indentation which was one of the characteristics of lymphoblast was not seen in myeloblast. Phase contrast microscopy of myeloblast was also lacking of nuclear indentation and showed centrally located large round nucleus. Mitochondrias were abundant and scattered throughout the cytoplasm. In electron microscopy, myeloblast had many well developed endoplasmic reticulums and small spherical mitochondrias in cytoplasm. Nucleus was round and nuclear substance was homogenous with a dense nucleole.

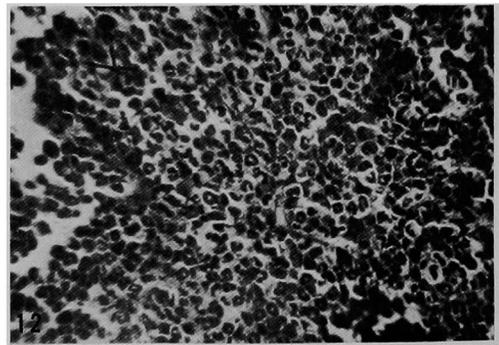
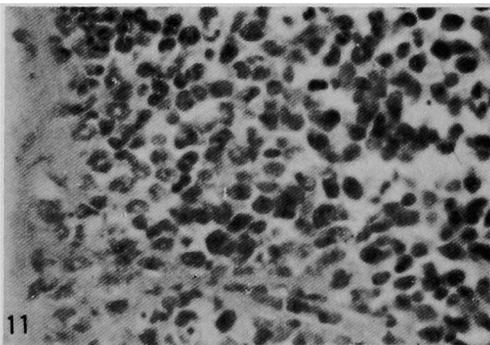
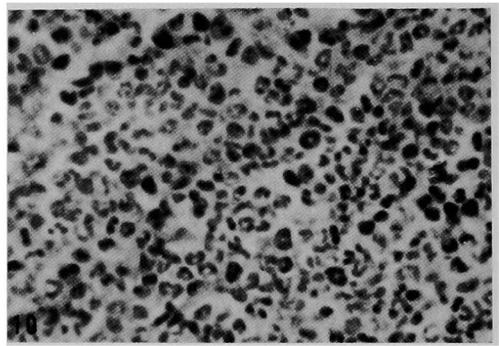
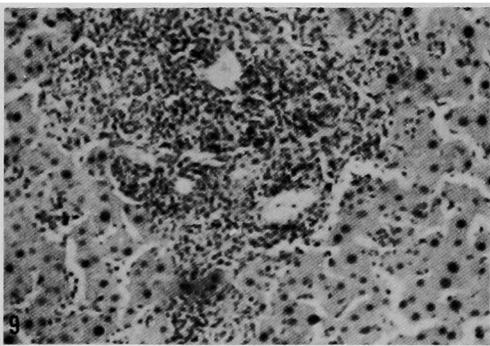
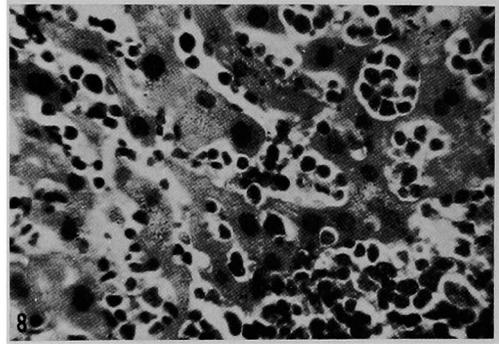
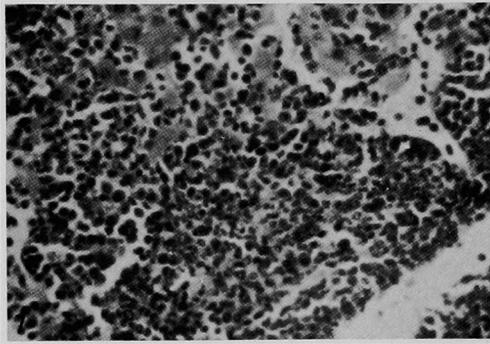
4. Electron microscopic observations of lymph node and spleen of the myeloid leukemia mice revealed numerous extracellularly located virus particles. These virus particles were morphologically indistinguishable from that of lymphatic leukemia mice.

---

鈴木論文附図



鈴木論文附図



鈴木論文附図

