

間葉系 mesenchyma よりみた癌の発生増殖に関する実験的研究

金沢大学大学院医学研究科外科学第二講座(主任 水上哲次教授)

磨 伊 正 義

(昭和43年1月8日受付)

本論文の要旨は1966年12月日本癌学会第25回総会, 1967年4月
日本網内系学会第7回総会にて発表した。

癌の発生に関しては今日なお不明な点が多いが, 近年多数の研究家は動物の自然発生腫瘍, 人工的発生腫瘍, 移植癌の各種実験腫瘍を用い, その機構解明に努力している。

中でも1941年 Berenblum¹⁾²⁾ は癌原性炭化水素による皮膚癌発生実験において, 発癌現象の2段階説, 即ち正常細胞を先ず潜在性癌細胞に変化させる初期段階 initiation と, それを 目にみえる癌にまで発展させる促進段階 promotion の過程があることを指摘した。その後もこの2段階説を支持する報告が多い³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾。このように種々の癌原性物質並びに非特異性 noxa 等が長年月に亘り作用した場合に始めて正常体細胞の不可逆性病変 irreversible mutation が惹起され, 遂に組織の癌化が出現するもの (syncarcinogenesis, 水上⁸⁾) と推測せられる。しかしこの initiation の過程はまだ正常体細胞への可逆性変化をもたらし得る時期であって, これが悉く癌性悪変を惹起するものでないといえるし, 且つ癌原性物質により惹起された病変部において, 発癌可能な1個の mutation を起した細胞が存在していたとしても, 實際上発癌をみるかどうかは疑問である。即ちそれが癌として増殖する場合, 細胞自身の vitality もさることながら, その周辺組織殊に間葉織 mesenchyma の反応-防禦力, 引いては全身性の所謂癌防禦力によって大きな影響を受けるものと考えられる。従って癌発生を単に体細胞自体の生物学的ないしは病理学的な変化のみから理解することは困難であり, その増殖に全身的ないしは局所的な条件を考え合わせると理解を容易にすることができる。このように腫瘍発生に対する防禦力, 抵抗力は一定の臓器, 恐らくは脾, 肝, 骨髄, 胸腺等の網内系臓器と密接な関連性を有し, これらの臓器の障害によって腫瘍発生に好条件が提供されるもの

と考えられる。

既に Fromme⁹⁾, Cohnheim¹⁰⁾ らは生体の老化などに基づく間葉系組織の活力 vitality の減弱が発癌の有力な要素の一つであることを示唆している。即ち全身或いは局所における生理学的防禦力の低下している個体または組織に, 何らかの原因で体細胞の不可逆性の mutation が惹起された場合, 始めて悪性腫瘍としての増殖を営むものとする。この概念は腫瘍と宿主生体との間の所謂 tumor host relationship なる考え方に基づいたものであり, この間葉系の発癌防禦機構は, 引いては制癌においても重要な意義を有し, 今後の悪性腫瘍の研究において極めて肝要な領域になりつつあることは疑うべくもない事実である。

これらの見地から著者は癌腫に対する生体反応展開の場が先ず癌腫周辺の間葉織であるとの前提のもとに実験的皮膚腫瘍を作成し, そこに展開される所謂前癌性病変, 間質反応, 更に宿主側の網内系臓器の変化, 血液像, 血清蛋白像の推移等も合わせ検討した。更に薬剤投与と脾剝により網内系を賦活或いは低下させ, 実験的皮膚癌並びに肉腫の発生増殖状態を観察し, 2, 3の興味ある知見を得たのでここに報告する。

I. 発癌過程における網内系組織の変化

発癌と網内系の関連性を検討するため実験的皮膚腫瘍を作成し, その発癌過程における網内系の変化を経時的に観察した。

1. 実験材料および実験方法

1) 使用動物: dd-系マウス 15~20 g

2) 癌原性物質投与方法

20-Methylcholanthrene (20-MC) の0.5%ベンゼン溶液を週2回腰部皮膚に反覆塗布した。

Experimental Studies on Carcinogenesis from the Aspect of the Attitude of the Mesenchyma. Masayoshi Mai, Department of Surgery (II) (Director: Prof. Dr. T. Mizukami), School of Medicine, Kanazawa University.

3) 腫瘍の発生経過並びに発生率

4) 腫瘍間質並びに網内系臓器の組織学的検索

発癌過程における宿主側の態度を観察するため経時的に屠殺し、以下の方法で検索を進めた。

i) 組織学的検索

皮膚の腫瘍間質, 肝, 脾, リンパ腺, 胸腺, 皮下組織。

染色方法: ヘマトキシリン・エオジン染色, ワンギーンソン氏染色, Gomori の鍍銀染色, 生体染色 (1% トリパンブルー液 0.2 cc を1日1回, 3日間皮下注射し屠殺した)。トリジンブルー染色, PAS 染色 (Mc Manus 法), アルカリホスファターゼ染色 (以下 ALPase と略す), 酸ホスファターゼ染色 (以下 ACPase と略す), なお ALPase 染色は Gomori のカルシウムコバルト法¹¹⁾に準じ次の要領で施行した。

1. Incubation time

Cryostat 組織切片	37°C	1時間
一部パラフィン包埋	37°C	2時間

2. Incubation solution

3% Natrium-β-glycerophosphat	10 cc
2% CaCl ₂	20 cc
5% Mgnessi sulfas	2 cc
2% Barbital sodium	10 cc
蒸留水	5 cc

PH 9.0

次に ACPase 染色は Gomori 変法, 硝酸鉛法¹¹⁾によった。

1. Incubation time 37°C 1~2時間

2. Incubation solution

(0.05M)CH₃COOH·CH₃COONa 緩衝液

PH 5.0

Lead nitrate (0.004 M)

Natrium-β-Glycerophosphat (0.01 M)

5) 末梢血液像並びに骨髓像

i) 赤血球数算定, ヘモグロビン値定量, 白血球数およびその分画 (リンパ球/好中球の比で表わす)。

ii) 骨髓塗抹標本作成法: 松雪¹²⁾の方法に従った。即ち大腿骨から骨髓を針の先で掻き取り人血清を約2滴加え, 針の先でゆるやかにまぜ, 骨髓組織片から細胞を遊離, 分散させて塗抹し, ギムザ染色を施行した。

6) 血清蛋白像の推移

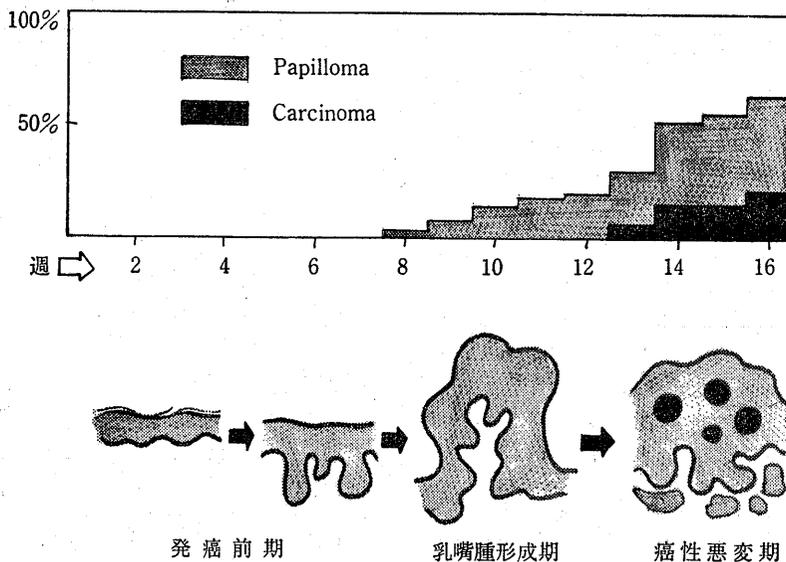
血清蛋白濃度, A/G 比, 分画, なお血清蛋白分画の観察にはセルローズ・アセテート膜による濾紙電気泳動法を用いた。

2. 実験成績

1) MC 皮膚腫瘍の発生経過並びに発生率

MC 塗布数週後より毛髪の脱落, 表皮の萎縮或いは肥厚, 弾力性の減退等の慢性炎症性病変をきたす。更に塗布を繰り返すことにより疣状の腫瘍が数個出現, 数週後には次第に増大するとともに数個の腫瘍が融合し, 肉眼的にも明らかな悪性像を呈し自律性増殖を営む。しかしすべてこれらの皮膚変化は MC の一定期間以上の反覆塗布により出現する腫瘍性病変である

図1 MC 皮膚腫瘍の発生経過並びに発生率



が、この塗布を或る時期で中止放置するとその病変が癌化していない限り一般に消褪することが多い。

次に MC 皮膚腫瘍の発生経過および発生率は図 1 に示す如く MC 塗布後 7 週目に初発、10 週目では 20%、12 週目で 40%、15 週間の観察で約 70% のマウスに腫瘍の発生をみ、一部悪性化していた (図 1, 写真 1)。

2) 組織学的所見

著者はその発癌過程を以下の如く 4 期に分けそれぞれにつき組織学的観察を試みた。

第 I 期 (MC 塗布 1~3 週)

塗布第 1 週目より著明な上皮細胞層の増殖、即ち角質層の肥厚、中等度の acanthosis、真皮の強い炎症、間質における炎症性細胞浸潤が顕著である。この過程においては ALPase、ACPase 活性は正常のマウスと殆んど差異はないが、トリイジンプルーによる肥胖細胞のメタクロマジーは真皮層内に著明に出現していた。

第 II 期 (MC 塗布 4~7 週)

表皮は次第に上皮性増殖をきたし、角質層は厚さを増し真皮内へ深く侵入している。これらの領域中の間質には細胞浸潤の増加、線維芽細胞の出現が著明で特に円形細胞の一部は強い ACPase 活性を示しており、一方結合繊維線並びに線維芽細胞にも ALPase 活性が増加している。また間質繊維成分中に PAS 陽性物質が顆粒状に出現している (写真 4,5,7,8)。

塗布中止 1 カ月後には表皮や間質結合織に円形細胞浸潤や細繊維の増生等の再生像がみられ、ほぼ正常皮膚像に修復されている (写真 3)。それ故この時期にみられる腫瘍性病変は可逆性 reversible の状態といえる。

第 III 期 (MC 塗布 8~11 週, 乳嘴腫形成期)

毛包腺の不規則な増生と表皮の異常増殖を認め、papilloma 形成が認められ塗布中止数週経過しても再生像はみられない。

腫瘍内の間質には stromal response は殆んどなく、肥胖細胞も認められなかった。しかし腫瘍形成巢

の直下 basal portion に隣接した結合織においては強度の間質反応を示し ALPase、ACPase 活性を伴う結合繊維線の増生をみ、肥胖細胞が増加していた (写真 6, 図 2)。またトリイジンプルーによる生体染色でも他の時期に比し、網内系細胞の出現が多く間質反応の増大を認めた。

第 IV 期 (12~15 週, 癌性悪変期)

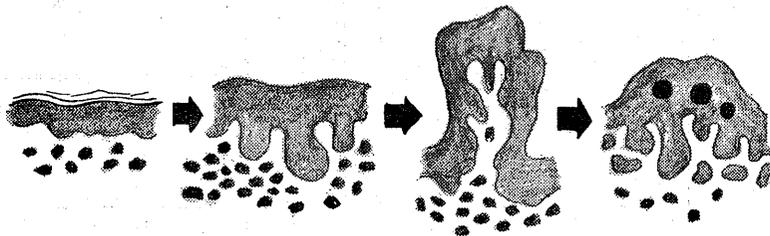
乳嘴腫の内向性増殖が著明となり、表皮が不規則に真皮内へ増殖侵入し (写真 7,9)、深層の上皮層に細胞の異型化が起り悪性化傾向を示す。角化を伴った扁平上皮癌が殆んどである (写真 10)。一方癌化が進行するにつれて肥胖細胞の減少、間質結合織の ALPase、ACPase 活性細胞の減少をきたし、間質反応の低下とともに癌細胞が瀰漫性増殖をみる。また腫瘍発育先進部の癌巣周囲に PAS 反応が陽性で、これは基質の粘液多糖類の解重合によるものと考えられる (写真 11)。

以上のことを要約すると、MC 塗布の 6 週目頃までの皮膚の腫瘍性病変は reversible であるのに対し、8~10 週以後では irreversible のまま悪性化へと移行する。更には発癌過程においては単に上皮性細胞成分の変化のみならず、癌腫周囲の間質結合織成分が防禦因子として重要な役割を演じ、両者の協調性が破綻した際に発癌の可能性が強化されるものと考えられる。

3) 他の網内系臓器の組織学的変化

MC 塗布 2, 3 週の初期においては肝、脾とも特徴的な変化はなく、僅かに肝における間質への白血球浸潤、「ク」星細胞の中等度増加をきたしているのみである。しかし 5~6 週目頃より肉眼的にも肝、脾が腫大し、顕微鏡的にも肝における「ク」星細胞の動員、即ち多形化、腫大並びに色素貪食能亢進像、ACPase 顆粒、PAS 陽性顆粒の増加を認め、一方脾、胸腺においてリンパ濾胞の肥大、増生がみられる (写真 12, 13, 14, 15, 16)。この状態はその後数週続くと 8~10 週の乳嘴腫形成期に前後して一部のマウスにこれらの網内系臓器の退行性変化、即ち肝星細胞の扁平、縮小化、ACPase 陽性顆粒の消失、リンパ濾胞の萎縮等

図 2 MC 塗布皮膚における肥胖細胞の分布



をみ、間葉系組織全体の抵抗減弱をきたし、逆に皮膚腫瘍の無軌道な増殖をみる。

4) 末梢血液像並びに骨髓像

i) 赤血球数並びにヘモグロビン値

正常赤血球数 $600\sim950\times 10^4/\text{cmm}$, 平均 $850\times 10^4/\text{cmm}$, 正常ヘモグロビン値 $80\sim100\%$, 平均 90% , 塗布開始後6~9週目頃までは著変を認めないが, papilloma 出現の10~12週目頃により漸次低下する. 一方ヘモグロビン値は赤血球数の減少の2~3週前より下降の傾向にあり, 末期には赤血球数, ヘモグロビン値とも著しく減少している(図3).

ii) 白血球数並びにその分画

正常マウス白血球数 $6000\sim13000/\text{cmm}$, 白血球数は各 stage を通じて著変を認めないが, 末期ではや

や増加の傾向にある. 一方その百分率では8~10週頃はリンパ球増多, 末期は改中球増加を認める. なお少数例においてリンパ性白血病の像を呈していた(図4).

iii) 骨髓像

全経過を通じてリンパ系細胞増多, 遊離大食大型細胞の増加, 顆粒球減少を認めている. しかし癌発生末期においてはリンパ球細胞は次第に減少をみ, 骨髓の hypoplasia の状態となった. しかしここでは MC そのものによる骨髓障害, 換言すれば骨髓造血機能障害の影響も見逃せない(写真17).

5) 血清総蛋白量, A/G 比, 分画

正常マウスの総蛋白濃度は $5.8\sim6.6\text{g}/\text{dl}$, 平均 $6.2\text{g}/\text{dl}$, A/G 比 $0.80\sim1.15$, 平均 0.90 , 各分画に関

図3 末梢血球像の推移 (1)

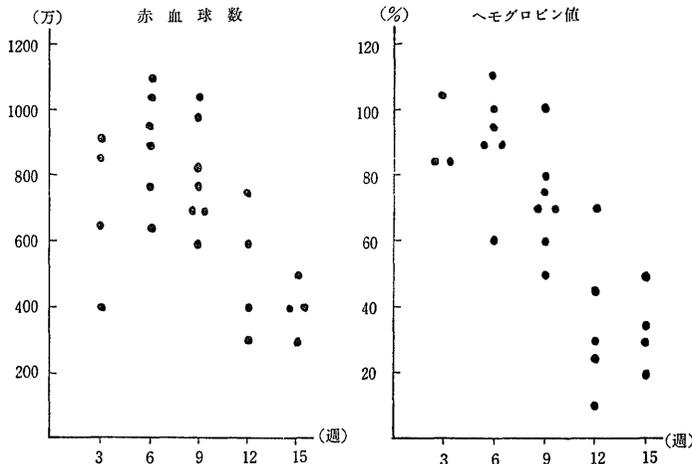
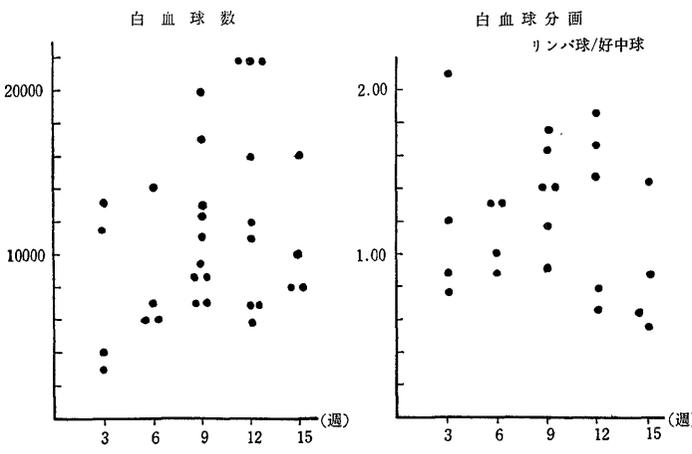


図4 末梢血液像の推移 (2)



してはアルブミン分画 65~41%, 平均 51%, α_1 -グロブリン 8~15%, 平均 10.6%, α_2 -グロブリン 9~6%, 平均 8%, β -グロブリン 21~30%, 平均 26%, γ -グロブリン 10~12%, 平均 11%となっている。

次に MC 発癌過程の蛋白像の推移を比較検討すると、先ず総蛋白濃度は 3~6週 6.0 g/dl, 9~12週 5.8 g/dl と著変を認めない。しかし 12~15週目の特

に癌末期のマウスにおいては 5.5 g/dl 以下とかなり減少し著明な低蛋白血症をきたしている。A/G については 3~6週平均 0.85, 9~12週平均 0.65と漸次低下の傾向を辿っている(図5)。

次に濾紙泳動によるアルブミン分画においては癌進展に伴い下降をみ、特に癌末期には40%以下の著明な減少を示している。グロブリン分画では発癌を確認で

図5 血清蛋白像の推移 (1)

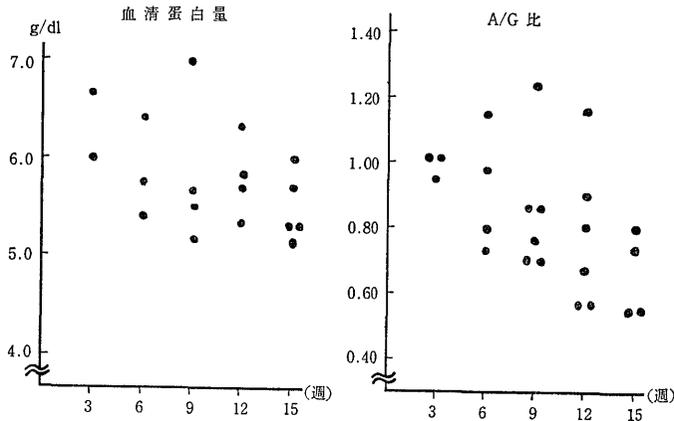
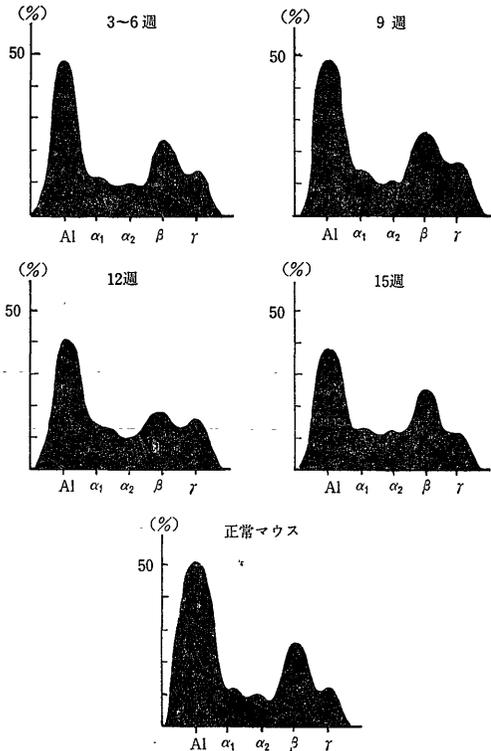


図6 血清蛋白像の推移 (2)



きる1週前後の時期に α_1 -グロブリン14%, α_2 -グロブリン 10% と対照群に比しやや増加の傾向にある。 β -グロブリン分画については21~31%と或る程度のばらつきがある。一方 γ -グロブリンは 6~9週17%, 9~12週18%と次第に上昇し、腫瘍の発生に対する抵抗性を示しているものと考えられる。しかし癌病勢の進行に従って γ -グロブリンは平均11%と低下する(写真18, 図6)。

3. 小 括

以上の所見より発癌過程には上皮性細胞成分および間質結合織成分の変性と再生が繰り返され、この過程に肥胖細胞が関与するとともに PAS 顆粒, ALPase, ACPase 活性がこの腫瘍性病変を被包する。一方宿主側の全身性反応として末梢血液中のリンパ球増加, A/G 比の低下, α_1 -, α_2 -, γ -グロブリンの増加等の変化がみられ、間葉系が癌の発生増殖に対し防禦的に働いているものと推定される。

II. 網内系機能の発癌に及ぼす影響

薬剤投与と脾剝により網内系機能を賦活或いは低下させ、この MC 皮膚腫瘍の発生増殖状態を観察した。

1. 実験材料および実験方法

1) 使用動物: dd-系マウス 15~20 g ♂ 30~40 匹を1群としVI群を作成した。

2) 動物処置並びに薬剤投与方法

以上の薬剤を1~2週に1回宛, 15~20週間に亘り右大腿部に注射した。

I群	Parotin	0.6%塩化ナトリウム溶液
		0.2 mg/週 筋注
II群	Cortisone acetate	2.5%生食懸濁液
		0.5 mg/週 筋注
III群	Cortisone acetate	2.5%生食懸濁液
		2.5 mg/2週 筋注
IV群	Trypan blue	2%生食溶液
		4.0 mg/週 皮下注

V群 脾臓剔出群

VI群 無処置群

3) 脾臓剔出法: マウスを手術台上に腹臥位かつ四肢伸展位で固定する。背部左側の毛を広範囲に除去し、型の如く消毒後脊柱より5 mm 外側で肋弓より2 mm 尾側の所に脊柱に平行に約1.0 cm 位の皮切を加え、背筋を排し腹膜を切開すると直下に脾臓をみる。脾門部で結紮切断し脾臓を剔出する。

4) 癌原性物質投与方法

以上の処置を開始後3週目より20-Methylcholanthrene (20-MC) の0.5%ベンゼン溶液を週2回マウスの腰背部皮膚に反覆塗布した。

5) 網内系機能測定法

網内系機能は Halpern の墨粒クリアランス法¹³⁾と杉山氏の皮下組織球貪食能¹⁴⁾とにより測定し、同時に組織学的にも検討を加えた。

i) 墨粒クリアランス法

貪食能については Halpern¹³⁾、綿貫¹⁵⁾の方法に従った。

$$K = \frac{1}{T - T_0} \log \frac{C_0}{C}$$

K: 貪食指数

C₀: T₀ 時の墨粒粒子の血中濃度

C: T 時の墨粒粒子の血中濃度

T, T₀: 墨粒粒入り一定の時間

Perikan ink (Gürther-Wagner 社製) をゲラチン加生理食塩水で16 mg/ml に稀釈し、1 ml/100g 体重の割合でマウス尾静脈に注射した。注射後10分(T₀), 30分(T) に眼窩静脈叢 retroorbital venous plexus よりマイクロピペットで0.02 ml ずつ採血、これを0.1%炭酸ナトリウム溶液3 ml で溶血させたのち光電比色計 (filter 660 Å) にて吸光度を測定した。K値の上昇は貪食能の亢進、低下は減退を示している。

同時に墨粒液注入後約1時間経過した被検マウスの肝、脾、リンパ腺につき組織学的に検索した。

ii) 皮下組織球貪食能 (杉山氏法¹⁴⁾)

マウス皮下組織内に1.6 mg/cc に稀釈した Perikan ink (c11/1431a) 0.2 cc 注入、3時間後に黒染部境界の皮下結合組織の伸展固定標本を作り、黒粒の瀰漫性に存在せる部位より100倍率で、1視野離れた部位の組織球を検索した。

墨粒貪食度は杉山氏法に準じて0~4度の5段階に分け、平均食作用度を求めた。

$$\text{平均食作用度} = \frac{\sum xy}{100}$$

x: 食作用度 y: 細胞数

2. 実験成績

1) 網内系機能は図7, 8に示す如く墨粒貪食指数K値は、8週目の無処置マウスでは0.020~0.030, 平均0.024, 皮下組織球貪食作用度は2.0であった。I群のParotin投与群ではK値は0.030~0.050の範囲にあり、平均0.036とかなり上昇し、皮下組織球貪食能においても2.5を示し無処置群を遙かに上廻っている(写真20)。一方Cortisone (0.5 mg), Trypan blue投与群ではそれぞれ値は平均0.012, 0.015の低値を示し、皮下組織球貪食能についても1.5以下とほぼ同様な結果を得た。またIII群のCortisone (2.5 mg)投与群ではK値0.010~0.005と著明な貪食能低下をみた。しかし脾剔群では脾剔直後はK値0.010~0.020, 皮下組織球貪食能1.5と低下を認めるが、1カ月目頃よりそれぞれ0.028, 2.5と正常範囲に回復している。

2) 組織学的にはParotin投与群では肝星細胞の肥大、多形化と脾リンパ濾胞の増生を認めた。一方、Cortisone, Trypan blue投与群では肝細胞の変性、星細胞の扁平、縮小化がみられ墨粒の貪食像も他群に比しかなり減少している(写真19)。このような組織学的所見よりみても墨粒クリアランスK値は肝星細胞の墨粒貪食状態とほぼ平行を示している(図11)。

従ってParotin投与群では網内系機能が亢進し、Cortisone, Trypan blue投与群では障害されているものと考えられる。一方脾剔群では脾剔直後では低下を認めるが1カ月後より正常範囲に回復している。

3) 各群の体重の変化

Parotin投与群では体重はかなり増加し、死亡例は殆んどないが、Cortisone大量投与群では実験開始時期より体重増加は全然なく、むしろ全身衰弱が強く死亡するものが多い。他の群は無処置群と大差がない(図9)。

4) 各群のMC皮膚腫瘍発生頻度

Parotin投与群では表1, 図10に示す如く腫瘍発生までの期間、所謂潜伏期がかなり延長、70日目で初

図7 各群の網内系機能の変動 (1)

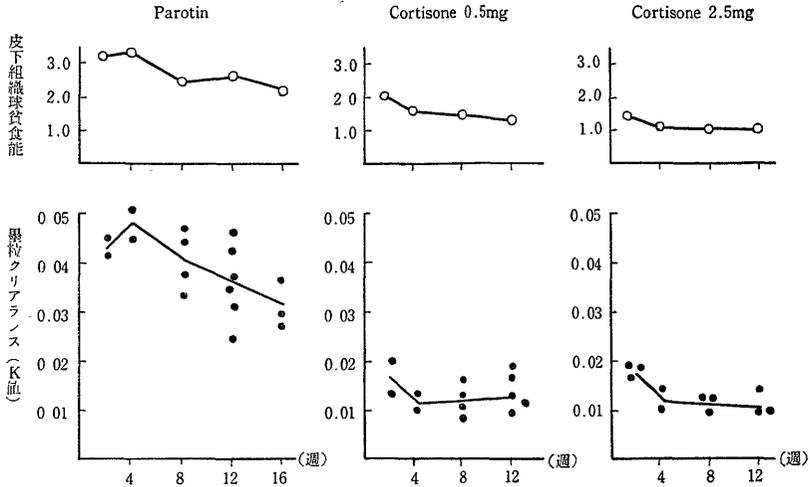


図8 各群の網内系機能の変動 (2)

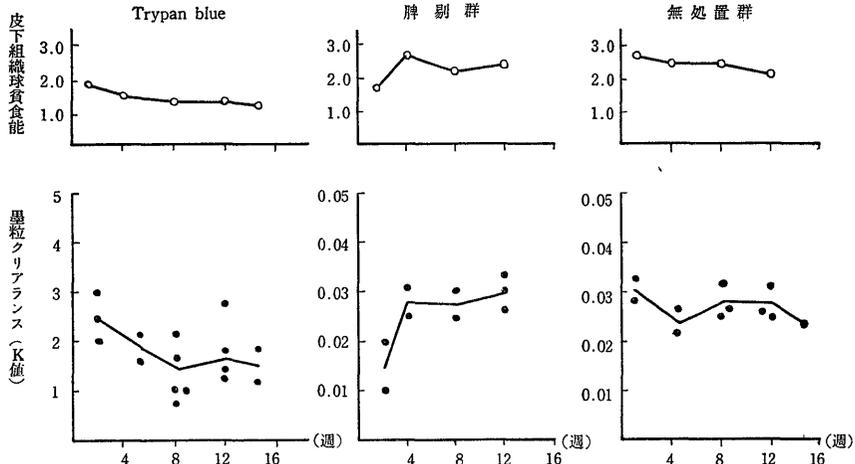


図9 各群におけるマウスの体重の変化

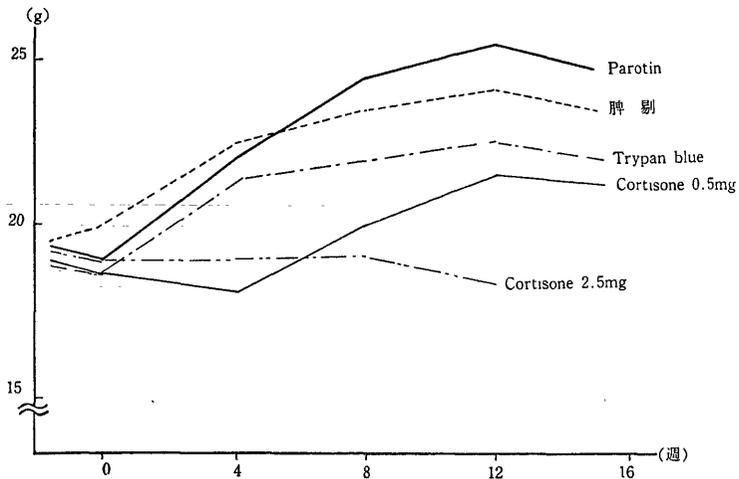
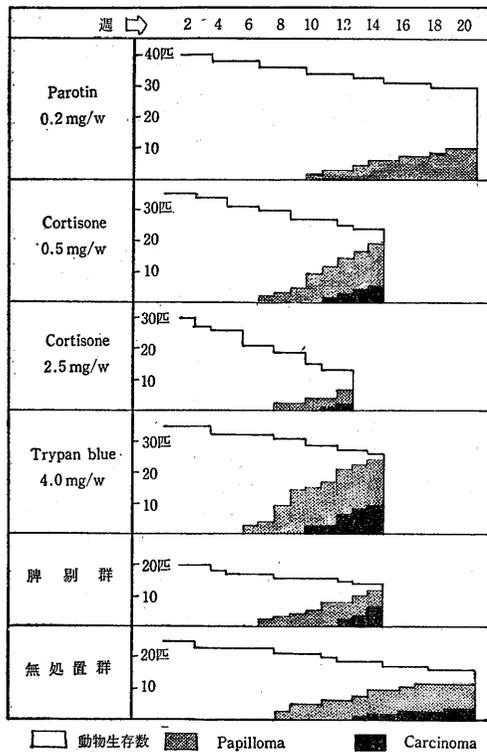


表1 各群における MC 上皮性腫瘍の発生頻度

動物処置法	実験開始時の動物数	動物生存数 (a)	腫瘍発生迄の期間 (潜伏期)	腫瘍発生動物数 (b)	悪性化	発生率 $\frac{b}{a} \times 100$
Parotin	40匹	30匹	10週	10匹	0匹	33%
Cortisone 0.5mg	35匹	25匹	5週	20匹	6匹	80%
Cortisone 2.5mg	30匹	19匹	8週	6匹	2匹	32%
Trypan blue	35匹	28匹	6週	25匹	9匹	89%
脾 剔 群	20匹	15匹	5週	12匹	6匹	80%
無 処 置 群	20匹	17匹	8週	12匹	4匹	70%

図10 各群における MC 上皮性腫瘍の発生頻度



発、20週までの発生率は30例中10例 (33%) であって悪性化は認められなかった。一方 Cortisone (0.5 mg), Trypan blue 投与の網内系ブロック群では腫瘍発生までの潜伏期が35日、42日と著明に短縮され、その発生率は80%並びに89%と高く悪性化の像も多く現われている。しかし Cortisone (2.5 mg) 投与群では19例中6例 (42%) と却って低く、これは Cortisone 大量投与により全身衰弱が強く、腫瘍発生までに至らなかったものと考えられる。また脾剔マウスでは網内系機能が回復している時期でも腫瘍発生率は高く、15例中12例 (80%) でそのうち約半数に悪性化が認められた。これは脾の特殊性、即ち脾そのものが

発癌に対し抗腫瘍性を有することを示唆するものではないかと考えられる。

次に腫瘍発生部皮膚の間質の態度を病理組織学的に観察すると、Parotin 投与群では線維細胞や脂肪細胞増加に伴う間質の増生が著明で、これは唾液腺ホルモンの生体防禦反応によるものと推定される。一方 Cortisone, Trypan blue 投与群では間質細胞成分の減少と結合織の粗糙化らの退行性変化が強く、逆に上皮性細胞は乳嚢状に増殖し、一部 anaplasia の強い悪性像を示している。Cortisone 大量投与群では結合織成分の退行性変化、角質層の菲薄化等がみられ腫瘍発生は却って減少している (写真21,22,23)。

3. 小 括

以上の成績から網内系機能亢進状態では、MC 上皮性腫瘍の発生率が低下するのに対し、Cortisone, Trypan blue により R.E.S. をブロックとする宿主抵抗性の減弱を招き、腫瘍の発生が促進された。また Cortisone 大量投与群では全身衰弱が強く、腫瘍発生率は却って低下した。一方脾剔群では網内系機能が回復しているにも拘らず腫瘍発生率は高く、そのうち約半数が悪性化している。

III. 網内系機能の肉腫発生に及ぼす影響

生体防禦機構に主役を果す網内系は癌の発生増殖に対して極めて大きな影響をもち、その低下は癌の発生増殖を促進させることが判明した。一方生体の防禦力の根源をなしている間葉系そのものから発生する肉腫は、如何なる増殖態度を示すかは誰しも疑問を抱くところである。そこで上述の実験に引き続き、網内系機能の強弱と肉腫発生との関連を追求するため次の実験を行なった。

1. 実験材料および実験方法

1) 動物処置および薬剤投与方法

生後約1カ月の dd-系マウスを4群に分ち、実験日の方法を準じ各種薬剤投与と脾剔を行なった。即ち

図11 各群における組織学的な変化

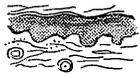
	Parotin	Cortisone 0.5 mg	Cortisone 2.5 mg	Trypan blue	脾 剔
皮 膚	 間質の増殖が著明、線維細胞の増加、角化亢進	 間質細胞成分の減少、上皮性細胞は乳嘴状に増殖	 結合織成分の退行性変化、角質層の菲薄化、線維の粗糙化	 上皮性組織の著明な増殖、一部悪性細胞出現(扁平上皮癌)	 表皮細胞の増生、基底細胞分裂像著明、一部肉腫形成をみる
肝	肝細胞の肥大・多形化、ク星細胞貧食能亢進	肝細胞の変性、墨粒貧食能低下	肝細胞の変性、ク星細胞の扁平・縮小化	墨粒貧食能低下	肝細胞腫大、墨粒貧食像著明
脾 胸 腺 リンパ腺	濾胞の肥大・増生	リンパ濾胞の萎縮、細網細胞の減少	胸腺退縮、退行性変化著明	リンパ濾胞の萎縮	著変なし

表2 各群における MC 皮下肉腫の発生頻度

動物処置法	実験開始時の動物数	動物生存数 (a)	肉腫発生迄の期間 (潜伏期)	肉腫発生数 (b)	発 生 率 $\frac{b}{a} \times 100$
Parotin	30匹	19匹	13週	13匹	68%
Trypan blue	25匹	12匹	15週	5匹	41%
脾 剔 群	15匹	8匹	8週	7匹	87%
無 処 置 群	20匹	10匹	13週	6匹	60%

間葉系賦活剤として Parotin, 阻害剤として Trypan blue を以下の如く20~25週に亘り注射した。

I 群 Parotin 0.6% 塩化ナトリウム溶液
0.2 mg/週 筋注

II 群 Trypan blue 2% 生食溶液
4.0 mg/週 皮下注

III 群 脾臓剔出群

IV 群 無処置群

2) 癌原性物質投与方法

以上の処置開始後 3週目より 20-Methylcholanthrene (MC) 1.0 mg 含有 オリーブ油を剃毛消毒したマウス背部皮下に 1 回のみ注射した。

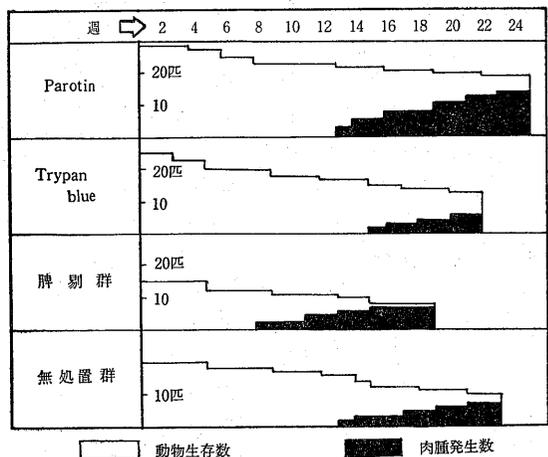
3) 網内系機能測定法

実験 II の成績を参照した。

2. 実験成績

1) 各群の MC 皮下肉腫の発生頻度並びに組織像
無処置群 (IV 群) の肉腫発生率は10週まで 0%, 13

図12 各群における MC 皮下肉腫の発生頻度



週目で皮下に比較的境界鮮明な硬い小結節を作り、この結節はまもなく急速に増大する。約20週前後の観察で、10例中6例(60%)の肉腫発生をみ、大きさは小指頭大〜拇指頭大を示した。Parotin 投与の網内系機能亢進群では13週目に初発、18週目45%拇指頭大、24週間の観察で19例中13例(68%)鳩卵大の腫瘍発生をみ、大部分は紡錘形肉腫を示していた。これに対して Trypan blue 投与による網内系機能低下群では15週で初発、21週までの発生率も15例中5例(41%)と低値を示した。腫瘍も極めて小さく大豆大程度のものが多く、他は軽度の MC 肉腫および表皮の瀰漫性の肥厚を示すに過ぎなかった。一方脾臓群では8週目に初発、12週目 41.7%、18週目までは8例中7例(87%)鳩卵大と発生率は他群に比し顕著に促進していた。なお全例とも遠隔転移は認めなかった(表2, 図12, 写真24)。

3. 小 括

網内系機能亢進は MC 肉芽並びに肉腫形成を促進させ、その低下は肉腫発生を抑制した。一方脾臓群では MC 肉腫発生の顕著な促進をみた。

考 察

日常われわれが遭遇する所謂前癌性病変と呼称されているもの、例えば萎縮性胃炎や慢性胃潰瘍を母地として胃癌が発生(久留¹⁶⁾, 木元¹⁷⁾)し、煙草喫煙常習者にみられる慢性気管支炎がしばしば気管支癌に移行し得ることも一般に認められている。このように癌は健全な皮膚や粘膜から発生するものでなく、一定の病変、例えば上述のような前癌性病変を母地として発生するものであることは推定に難くない。著者の行なった実験的皮膚癌の場合でも、これが一般に MC 反覆刺激によって惹起された疣状増殖を母地として発生している。またこの皮膚腫瘍の発生過程を組織学的に観察すると6週目頃までの皮膚の腫瘍性病変は可逆性 reversible であるのに対し、9〜12週塗布以降のマウスでは表皮の異常増殖、更には papilloma へ移行し irreversible のまま悪性へと進行していく。即ちすべてこれらの病変は MC が反覆塗布されて始めて出現する病変であって、かかる操作を停止すればその病変が irreversible mutation をきたしていない限り一般に消褪する。しかしかかる病変部に更に MC が塗布されれば癌性悪変が招来され、その後の癌原性物質の作用如何を問わず独自の自律性増殖を営むものである。それ故発癌過程を大体2期に区分して考えることができる。即ち第1期は所謂発癌準備期間であって細胞の可逆性変化 reversible mutation をきたす

時期であり、第2期は細胞の不可逆性変化 irreversible mutation を起し悪性腫瘍として特有な増殖をきたす時期である。このうち第1期は所謂前癌性病変として一般に考えられているもので、この病変は勿論これ自体癌でないが、終局的には発癌の可能性を有する準備状態であるといつて過言でない。

従来からの皮膚癌発生実験によれば強烈な作用を有する癌原性物質でも、動物の皮膚に対して僅かに1回の塗布のみでは殆んど発癌をみないものとされている。しかし先ず癌原性 noxa によって前癌性病変が惹起されている場合、これに数回の良性刺激(クロトン油などの非癌原性 noxa)を加えることによって真性の腫瘍を惹起せしめ得ることは既に Graffi⁴⁾, Boutwell³⁾らの証明しているところである。このように局所の体細胞が不可逆性の mutation をきたして悪変しても、必ずしもこれが癌として顕性化するものではなく、正常ないしは過形成組織中に潜在し、それに種々の非癌原性 noxa の刺激が加わって始めて癌として顕現するまでに発展するものであるといひ得る。一方潜在性癌細胞を肯定する考え方は臨床の見地からもすこぶる重大である、即ち非特異的な刺激から癌が発生したかにも見える症例が多数報告されており、これは既存の潜在性癌細胞に第2の刺激が促進的に作用した結果に基づくものとする。

しかしこのように発癌の過程を2期に分けて考える概念に対し、否定的な立場に立っている人もある。Marchant & Orr¹⁸⁾¹⁹⁾により行なわれた移植実験によると、彼らは癌原性炭化水素をマウスの皮膚に12週間塗布後、表皮の一部を切除し、未処置マウスに移植する。その後は promoting agent としてクロトン油を塗布するが、その結果は癌の発生が全くみられなかったので、発癌を一元的に考えて差し支えないとしている。一方馬場²⁰⁾は発癌機構に対して加算説を支持し、細胞癌化は細胞内遺伝様因子における不可逆性変化の加算により惹起され、その後その細胞が増殖し、臨床的な癌腫に進展するといっている。

しかし以上の報告者は何れも間質結合織の反応には全然顧慮を払っておらず、この発癌には上述した如く附加的因子として間葉系 mesenchyma が関与するものと考えられる。Orr²¹⁾も発癌における癌原性炭化水素の上皮細胞層に対する作用はむしろ間接的で、間質結合織に起された環境の変化によって二次的に上皮の腫瘍性変化の起る可能性を指摘している。

一般に腫瘍細胞は必ず一定の間質の中で増殖するものであり、この場合その腫瘍実質と間質は各個に独立したのではなく、間質に生物学的、解剖学的な作用

を及ぼし、一方間質は腫瘍実質の働きをどう修飾しているかという相互の関連性を知ることが重要と考えられる。それ故著者は間葉系の働きを担癌宿主の自己防禦機構の一環とみなして、癌腫周辺に展開される間葉組織の態度を組織化学の立場から検討した。特に最近組織化学の研究は長足の進歩発展を遂げ、腫瘍の間質についてもかかる観点からの研究が次第に現われるようになった。

著者の MC 腫瘍の発癌過程における組織化学的所見によると、ALPase 活性は腫瘍間質における浸潤細胞に認められず、増殖性結合線維に中等度または強度の酵素活性が認められる。一方 ACPase 活性は間質円形細胞に強い活性を示し、MC 腫瘍の進展につれて ALPase, ACPase 活性を伴う結合線の増生がみられる。また癌基質の細胞反応の中で ALPase, ACPase 活性所見とも関連して肥胖細胞は特異な立場に立っている。即ち MC 塗布皮膚において肥胖細胞浸潤状態を Toluidine blue 染色による metachromasis から観察すると表皮の異常増殖とともにその密度を増し、癌化につれてその数の減少をみる。このように MC 癌発育過程における肥胖細胞の消長が他の間質反応の所見と一致して腫瘍の増殖に対し防禦反応を示すものと考えられる。Twort²²⁾ はタールの皮膚塗抹後、マウスの内臓にみられた肥胖細胞瀰漫性浸潤状態について報告し、Crammer & Simpson²³⁾, Okamoto²⁴⁾ らは化学的発癌物質投与によって招来される肥胖細胞の増加は扁平上皮癌発生に対する防禦反応であろうとし、肥胖細胞の意義を詳細に論じている。人体の皮膚でも所謂前癌性状態といわれる Keratosis senilis および Bowen 氏病等は著明な肥胖細胞の増加があるといわれている。それ故少なくとも皮膚癌の場合には肥胖細胞が基質反応としてかなり重要な意義をもつことは推定に難くないところである。

一方 Carruthers²⁵⁾, Louis²⁶⁾, Melczer²⁷⁾ らは実験的皮膚腫瘍の発癌過程を螢光抗体法による免疫組織化学の立場より観察し、その結果癌組織の非腫瘍部では臓器特異抗原を証明できるのに対し、腫瘍組織内ではその特異抗原が消失しているのを認めている。

以上の知見から間質結合線と基質は癌の浸潤増殖に何らかの抵抗性を有することは推察されるところであって、一方癌組織はある種の酵素によってこの基質の粘液多糖類を破壊、融解することが知られており²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾³¹⁾、この酵素は hyaluronidase で基質の粘液多糖類を解重合させるといわれる。著者の所見でも基質多糖類は上皮細胞の増殖に伴う間質の離解した細胞に PAS 陽性の基礎物質が侵入、更に進行した腫瘍先進

部の癌巣周囲に増加しているが特に後者の所見は同所の基質の解重合に基づくものと考えられる。中馬³²⁾ は MC 癌発生時にその間質において多糖類の解重合によりメタクロマジーが現われるとし、人癌組織においても木村²⁸⁾、高嶺²⁹⁾、大槻³⁰⁾ らは腫瘍周辺部間質においては腫瘍内および遠隔部の間質に比し PAS 反応が著しく、またメタクロマジーが強度にみられることを指摘している。一方 Gersh³³⁾, Seelich³⁴⁾ は幼若組織においては重合度は低く、組織の老化につれて間葉系の重合度が高まり各種の酵素に対し反応度が減弱すると述べている。従って、このような現象は発癌或いは癌増殖の際において間質組織の抵抗減弱を意味するものであり、腫瘍増殖の補助的因子になり得るものと考えられる。また発癌過程における肝、脾らの間葉系組織においても MC 塗布 7, 8 週間後の肝星細胞の肥大、色素貪食能亢進並びに脾、リンパ腺の濾胞増生等がみられる。逆に癌化末期においては脾、リンパ組織は萎縮の傾向等の所見が認められることは宿主側の抵抗力の減弱を示しているといえる。また Domagk³⁵⁾ もタールを塗布した家兎では、高度の脾萎縮、肝細胞変性並びに骨髄の退行性変性等の所見を認め、これらの病変はタール癌発生のかかなり以前に発現することを指摘している。なお MC を生体に投与した際、他臓器に比し胸腺 および 骨髄に高濃度の MC が分布することが知られており、MC の生体に対する直接的影響も考慮されねばならない。

以上述べた如く発癌過程において上皮性細胞成分の変化のみならず間質結合線の態度、引いては担癌宿主の間葉系の強弱が重要な役割を演じ、両者の協調性に破綻がもたらされた場合に始めて発癌へと移行するものと推測される。

次に MC 皮膚腫瘍進展に伴う血液学的な変化を追求し、その結果、末梢血の赤血球数、ヘモグロビン値は末期では著減し、白血球数はやや増加するがその増加はリンパ球が主体をなすものである。一般に貧血はしばしば動物の腫瘍性病変の随伴症状として起るが、この際特記すべきことは、腫瘍の出現する数週間より既にヘモグロビン濃度の著明な低下がみられ、Greenstein³⁶⁾ が指摘するように癌準備状態の時期においては、その生体のヘモグロビン値に及ぼす影響は二次的というより直接的、一次的なものであると考えられる。一方著者の実験でも皮膚癌と白血病の併発したものを少数例認めたが、このように同一個体における悪性腫瘍と白血病の併発については Milder³⁷⁾, Furth³⁸⁾, 平木³⁹⁾ らの報告を始めとして多数にみられる。また癌進展期におけるリンパ球の増多はリンパ

濾胞の増生によるものであり、この濾胞がリンパ球の産生に密接な関連を保有しているものといえる。

次に血清蛋白像に関しては、癌末期にアルブミン分画の著明な減少による低蛋白血症をきたすことを認め、一方グロブリン分画では肉眼的に発癌を確認できる1週間後の時期に α_1 、 α_2 、 γ -域蛋白の一成分に増加をみ、この所見は癌病勢の進行に伴って著明に現われ、かつ末期には却って γ -グロブリンは低下する。しかしこのような α 、 γ -域の変化は移植腫瘍マウス血清中には確認できない点から、腫瘍組織成分の血中への湧流のみによるものではなく、癌化に伴う生体側の反応にも緊密な関連を有するものと考えられる。

実際臨床的にも癌患者が貧血および低蛋白血症をきたすことに既に周知の事実であり、黒沢⁴⁰⁾は胃癌患者の血清蛋白の変動を追求し、アルブミン分画の減少、 α_1 、 α_2 -グロブリン分画の増加並びに末期癌における γ -グロブリン分画の増加を指摘している。このように担癌生体での血清蛋白の変動は血清蛋白産生源である肝や網内系臓器の機能障害等に大きく左右され、かつ腫瘍の進展に対する宿主の反応とも関連あるものと推定される。

これらの所見より癌の発生増殖に際して、生体防禦機構の中核をなす間葉系 *mesenchyma* が極めて重要な役割を演じていることは疑う余地がない。一方臨床的には *Stern*⁴¹⁾、*山形*⁴²⁾、*大森*⁴³⁾⁴⁴⁾らは癌患者においては、網内系機能は非癌患者に比し一般に低下しており、癌腫の剔出により一般状態の改善するものには、網内系機能亢進の所見をなすものが多いと述べている。当教室においても *Alder-Reinmann* の方法による *congo red* 係数並びに *Diphthelia toxoid* による抗体産生能により、癌患者の網内系機能を測定した⁴⁵⁾。その結果、悪性腫瘍群では大多数の症例において両機能が低下していることが判明している。また当教室の古川⁴⁶⁾は *BP* 皮下肉腫発生実験において、肉腫と判定される数週間より網内系機能が低下していることを認めている。以上の所見から少なくとも担癌生体において、間葉系の全般的な活力の減衰をきたしていることは推定に難くない。

このように癌増生ないしは軽快過程にみられる種々な程度の網内系機能の消長が、癌性病変の経過と密接な関連性を示していることから、担癌生体における網内系機能を有利に調節することによって、生体の癌に対する抵抗性を増強させ、癌の増殖を抑圧し得ることが期待される訳である。

生体の老化などに基づく間葉系組織の脆弱化は、発癌の有力な一要因と考えられるが、しからばこの網内

系機能の状態を左右する因子として如何なるものがあるだろうか。それを外的因子と内的因子とに区分していうならば、先ず前者については化学薬剤、ビタミン剤特に *B₁₂*、放射線等があげられる。一方後者としては動物の種属差、年齢差、性差、遺伝的素因、生活環境因子等に左右され^{47) 48) 49)}、引いてはその機能の低下により腫瘍性疾患の罹患率、移植率の差異を導くものであろうと考えられる。一般にチフスワクチン、*BCG*、*Zymosan* 等の薬剤は網内系の食食能や抗体産生能を刺激してバクテリア、*virus* 感染に対する宿主の防禦反応を有利に変えることが知られているが、他方これらの薬剤はまた悪性腫瘍の発育増殖に対して宿主の抗腫瘍性を高め、腫瘍の増殖阻止を企図する試みは最近実験的、臨床的に多数報告されている⁵⁰⁾⁵¹⁾⁵²⁾。

一方教室の宮城⁵³⁾は種々の薬剤を担癌宿主に投与し、移植腫瘍の増殖並びに宿主の網内系機能、生存期間を観察した。その結果 *Solcoseryl*、*Zymosan*、*Typhus vaccine*、*Parotin* の投与群では網内系機能が亢進し、*Ehrlich ascites tumor* 動物においては延命効果を認めている。しかしこれらの移植腫瘍は自然発生癌に比して悪性度も低く、自然治癒を営むことはしばしば経験されるところであって、これは移植腫瘍が所謂前癌性病変を母地として発生したものではないためであろう。

そこで著者は各種薬剤投与と脾剝により、網内系機能を賦活或いは低下させ、*MC* 皮膚腫瘍の発生増殖状態を観察した。なおこの種の実験には網内系機能測定は不可欠であるが、これには著者は *Halpern* の墨粒クリアランス法⁴³⁾⁴⁵⁾並びに *杉山氏*の皮下組織球法¹⁴⁾を採用した。この検査法はいうまでもなく、網内系の重要な機能の一つである食食能を指標とした機能検査であり、*R. E. S.* 機能の一面を忠実に反映しているものと考えられる。次に間葉系を賦活する薬剤として、*Parotin* を投与し、その結果腫瘍発生までの期間、所謂潜伏期はかなり延長し、発生率も無処置群の約半数に抑えられ悪性化も認めていない。組織学的には線維細胞や肥胖細胞の増加を伴う間質の増生が著明で肝、脾においても *Kojima*⁵⁴⁾、*Baillif*⁵⁵⁾らの指摘する網内系賦活の *pattern* を呈していた。一方間葉系を阻害する方法として *Trypan blue* による素色の充填と *Cortisone* 投与を行なった。その結果は *Trypan blue*、*Cortisone* (0.5 mg) 投与群では明らかに腫瘍発生までの潜伏期が短縮し、かつ発生率が促進した。一方 *Cortisone* 大量投与群では全身衰弱が強く発癌にまで至らなかった。

ところで自然発生腫瘍並びに人工的発生腫瘍に対す

表3 腫瘍発生に及ぼすコーチゾンの影響に関する報告

報告者	腫瘍の種類	マウス	コーチゾン処置				
			量	回数と用法	開始時期	期間	効果
Spain et al ⁵⁷⁾	MC 上皮性腫瘍	BALB	0.2mg	週3回 皮下	6週 同時	2ヵ月	促進
Sulzberger et al ⁵⁸⁾	MC 上皮性腫瘍	Swiss	0.5mg	週3回 皮下	同時	6週	促進
Boutwell & Rusch ⁵⁹⁾	BP 乳嘴腫	mice	0.5mg	毎日 経口			抑制
Baserga & Schubik ⁶⁰⁾	MC 上皮性腫瘍	Swiss	0.5mg	週6日 腹腔	同時	19週	抑制
Qureshi et al ⁶¹⁾	MC 肉腫	Swiss	2mg	毎週 腹腔	同時	19週	抑制
福士他 ⁶²⁾ 磨伊	MC 肉腫	dd-	2.5mg	2週毎 腹腔	同時		抑制
	MC 上皮性腫瘍	dd-	0.5mg 2.5mg	週1回 筋注 2週毎 筋注	同時 同時	14週 12週	促進 抑制

る Cortisone の影響については表3に示した如き業績が知られているが、Cortisone によって腫瘍の発生増殖が促進されるとするもの⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾、抑制するというもの⁵⁹⁾⁶⁰⁾⁶¹⁾⁶²⁾⁶³⁾⁶⁴⁾、或いは全く影響されないとするものがあって、見解の一致をみていないがこれは Cortisone の投与方法、即ち使用量、使用時間、使用方法、使用開始時期の相違並びに使用動物の種類、癌原性物質等の相違によるものと考えられる。Spain⁵⁷⁾、宮崎⁵⁶⁾、Sulzberger⁵⁸⁾らは癌原性物質と同時に、Cortisone 投与を行ない、腫瘍の発生が促進したとしているが、彼らも述べている如く一般に Cortisone は上皮細胞の増殖を阻害することなしに間質結合織に対し、その機能を抑制するため発癌が促進されるものと考えられる。また Spain⁵⁷⁾はこの腫瘍発生促進作用は発癌過程の初期に認められると述べている。他方 Cortisone は腫瘍の発生を抑制するという報告も少なくなく、Qureshi⁶¹⁾らは結合織の機能抑制によりその組織の栄養障害をきたし、腫瘍発生が抑制されるとしている。また Agosin⁶⁵⁾は移植された局所の腫瘍増殖は抑制されるが転移形成は増大せしめることを指摘している。また著者の実験でも示した如く Cortisone の大量投与群で腫瘍発生率は却って低く、これは Cortisone 大量投与により全身衰弱並びに局所の栄養障害が強く、細胞自体の増殖能力が低下した結果に基づくものと考えられる。事実臨床的にも高令者の癌は若年者の癌に比し悪性度が低く、その予後が比較的良好的なものが多いことは、我々臨床家がしばしば経験することである。即ち高令者は、その臓器或いは組織全体の生存過程の疲労現象が著しく、従って生活力の減弱した体細胞から腫瘍が発生したことに基因するものであろう。

一般に腫瘍は上皮性組織と間葉系組織が共存する時

においてのみ発生し得るものであり、事実間葉組織の全く欠如している眼水晶体、硝子体前部には癌の発生は全くみられない(水上³¹⁾⁶⁶⁾。一方 Kulenkampf⁶⁷⁾は間葉組織はお互に組織の生長の均衡を絶えず維持しているものであることを指摘している。Fromme⁶⁾の癌腫発生に関する間葉説 Mesenchymtheorie によれば、R. E. S. は上皮性細胞の異常な増殖を阻止するものであるから、上皮性細胞に腫瘍化が現われてもこの間葉系の組織の阻止作用が保持されている以上癌腫の発生を示すに至らないが、一旦この阻止作用が失われると腫瘍芽は旺盛な發育をきたし腫瘤を形成するものであるとされ、更に Stern⁶⁸⁾も生体における腫瘍の發育を局所的並びに全身網内系の disorder なる概念の下に理解しようとし、腫瘍発生は網内系の脆弱化並びに腫瘍に対する抵抗性の減弱、或いは腫瘍促進物質の過剰増加に伴う網内系の乱調等の種々な因子の協同作用に負うものと想定している。しからばこの間葉系に癌腫發育阻止作用があるとすれば、老人における間質異栄養の発現は当然癌腫発生に対し抵抗減弱を招来し、腫瘍発生を促進する訳である。このような見地から緒方⁶⁹⁾は唾液腺ホルモンである Parotin の補給により網内系機能を亢進させると癌抑圧に効果的であろうと述べているが、このことに対しては著者の実験成績からもある程度賛意を表したい。

一方形態学的にも Dunn⁷⁰⁾によれば老人において間葉系組織には変性の所見が認められ、脾の萎縮、リンパ結節の減少、線維性成分の退縮等がみられると述べている。それ故老化による生体の生活力の衰退は主として間葉系組織の機能低下と密接な関連を有するものと推察され、これによって生体の防禦力の減弱を招来されている状態ともい得る。例えば更年期以降に癌が多発するという事実等から、癌は間葉系の機能

失調症の一つといっても過言ではなからう。

一方脾が網内系の主要臓器であり、脾剔が一時的にせよ網内系機能の著しい減退を示すことは多数の研究家によって指摘されているところであって、長谷川⁷¹⁾ 藤井⁷²⁾ はこれを congo red 法により、また Nicol⁷³⁾ はマウスの Carbon clearance によって phagocytotic activity の著明な低下等からこれを裏付けている。

著者の MC 上皮性腫瘍、MC 肉腫発生実験でも脾剔マウスでは網内系機能が回復しているにも拘らず、癌、肉腫とも発生率は高く、かつ良性腫瘍からの悪変も多数に認められている。文献的にも Stasney⁷⁴⁾ は脾剔マウスに 2AAF を投与し、肝癌発生の促進をみ、杉琴⁷⁵⁾ は脾剔並びに骨髓の部分的破壊を行なったダイコクネズミに DAB を投与すると網内系機能低下を招来し、発癌が促進したことを報告している。一方田中⁷⁶⁾ は Brown-Pearse 腫瘍家兔の脾剔に対する影響を論じ、彼は悪性腫瘍の発生や増殖に網内系が関与するとすればその抗体産生能を通じてであって、異物摂取能と無関係であろうと述べている。

著者の実験からも脾剔により他臓器の網内系が単に脾の代償を行なったものとは考え難く、脾そのものが他臓器の網内系を制御しつつ活動し、かつ脾の特殊性、即ち脾中に何らかの抗腫瘍因子が存在し、癌の発生増殖に対抗しているものと考えられる。Lewis⁷⁷⁾、Amreich⁷⁸⁾、水上⁷⁹⁾ らは脾抽出物は抗腫瘍因子として制癌に重要な地位を占め、更に細網細胞中にも抗腫瘍因子が産生されるとの見地からこれを豊富に有している脾、胸腺、骨髓、肝、肺からの抽出物が抗腫瘍性を有することを指摘している。それ故間葉系を刺激して癌防禦力を強化しようとする所謂 R. E. S. の賦活療法は癌化学療法とは全く趣を異にし、癌の補助的療法の一つとして考えられ、手術不能の癌や姑息的手術後に行なって意義あるものと信ずる。このような観点より水上⁷⁹⁾⁸⁰⁾ は脾動物結紮によって脾から産生されると推定される Caspari⁸¹⁾ の所謂 Nekrohormone⁸²⁾ によって拒癌生体の間葉系を賦活、刺激せんと試み剔除不能の癌症例に行ないかなりの効果をおさめている。事実著者ら⁸²⁾ も切除不能の進行性肺癌に対し脾動脈結紮を試み、congo red 指数の上昇、全身状態改善、血痰、胸水の減少、疼痛の軽減等を目している。これらはたとえ一時的であるにせよ、脾動脈結紮によって生体の腫瘍に対する抵抗性が増強され、腫瘍の発育が一時停止したものと考えられる。

一方悪性腫瘍の発生、増殖に対する胸腺の影響について論じた文献も多く、Nishizuka⁸³⁾、Parrot⁸⁴⁾、

武谷⁸⁵⁾ らは新生児マウスの胸腺剔出により癌発生が促進され、Miller⁸⁶⁾ は生後3日目に胸腺剔出を行なったマウス皮膚に BP を塗布し、皮膚腫瘍発生と悪性化の促進を認めた。またこれらの脾、胸腺等の類リンパ組織は雄性および雌性ネズミ両者において著しい数の相違があるとされている。即ち Andreassen⁸⁷⁾、Dunn⁷⁰⁾ によるとこの類リンパ組織数の相違は2~2.5カ月の年齢の者に最も著しく、雌性の胸腺、リンパ腺および脾臓の重量は雄性のものより2~3倍重いとされている。それ故 Andervont⁴⁸⁾ は当然両者に癌発生率に差異が存在することを指摘している。

一方以上の事実は癌の発生、増殖に間葉系が極めて重要な役割を演じていることを示唆するものである。このように癌腫の発生に防禦力、抵抗性を示す間葉系組織より発生する肉腫に関して更に検討を加えてみた。即ち著者の実験で示した如く Parotin による網内系機能亢進状態では却って MC 肉芽並びに肉腫形成を促進せしめ、一方その低下は MC 肉腫の発生率を低下せしめた。元来網内系細胞の刺激されている状態では fibrosis を強化し、悪性腫瘍の周辺を被回化し、その増殖を抑制し転移を阻止するように働くものと考えられやすい。しかし著者の実験では刺激を加えられた網内系細胞自体に炭原性物質が作用し、肉腫の発生が促進されたものと解釈される。まさしくこれは発癌過程におけるクロトン油と DMBA との相乗作用を想定せしめるものであって、小田島⁸⁸⁾、福士⁶³⁾⁸⁹⁾ も MC 皮下肉腫に対し Parotin 或いは Typhus vaccine の影響を論じ、腫瘍の発生が促進されると述べ、特に福士⁸⁹⁾ はマウス皮膚 MC 肉腫発生にはその基源となる皮膚網内膜の機能の低下が強く影響することを指摘している。臨床的には癌と肉腫の発生年齢において水上⁹⁰⁾ の報告によると、肉腫は各年齢を通じほぼ平均しているのに対し、癌は40歳以上に急増し、一方壮年以降に発生した肉腫は比較的良好な臨床像を示す。これは若年者の肉腫に比し、より分化した或いは老化した間葉系組織から発生したことによるものであろうとしているが、これらの事柄は著者の肉腫発生実験の成績を裏書きしているものと信ずる。

結 論

著者は先ず間葉系の働きを拒癌宿主の自己防禦機構の一環とみなして実験的皮膚腫瘍周辺に展開される前癌性病変、間質反応等を組織化学的に観察し、更に癌進展に伴う血液学的変化、血清蛋白像の推移を合わせ検討した。次に薬剤投与と脾剔により、網内系を賦活或いは低下させ、実験的皮膚腫瘍の発生増殖状態を観

察した結果、以下の結論を得た。

1. MC 塗布マウスにおいては6週目頃までの腫瘍性病変は reversible であるのに対し、8~10週目以後では irreversible のまま悪性へと移行する。

2. これらの時期における MC 腫瘍間質の態度を著者は4期に区分し、組織化学的に観察した。MC 塗布数週後の第I期には ALPase, ACPase 活性は正常マウスと殆んど差異はないが、第II期、第III期になると間質の増殖性結合繊維に中等度 或いは強度の ALPase 活性が出現し、ACPase 活性は間質円形細胞に著明に認められる。一方トルイジンブルーによる肥胖細胞のメタクロマジーは、全経過を通じて真皮層内に著明に出現している。しかしこれらの反応は癌化が進行するにつれて低下している(第IV期)。それ故これらの所見により間質は腫瘍増殖に対して防禦的に働いているものと考えられる。

3. MC 腫瘍進展に伴い赤血球数、ヘモグロビン値は著明な低下をきたす。一方血清蛋白像においてはアルブミンの減少、 α_1 -, α_2 -, γ -グロブリンの増加をみる。

4. Parotin 投与による網内系機能亢進状態では、MC 上皮性腫瘍の発生率が低下するのに対し、Cortisone, Trypan blue で R.E.S. をブロックすると、宿主抵抗性の減弱を招き、腫瘍の発生が促進される。一方 Cortisone 大量投与群では却って発生率は低下した。一方網内系機能亢進は MC 皮下肉腫発生を促進させ、その低下は肉腫発生を抑制した。

5. 脾臓剔出群では癌、肉腫とも発生率が高く、これは脾の特殊性、即ち脾そのものが発癌に対し抗腫瘍性を有することを示唆する。

これらの実験成績から、発癌に際して体細胞の不可逆性 mutation と間葉系組織の vitality が重要な役割を演じていることは推定に難くない。即ち種々の外来性 noxa による間葉系の障害が、その生体の全身または局所性の防禦力の減弱をきたし、癌発生の重要な補助的要因をなすものと考えられる。

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水上哲次教授に謹んで謝意を捧げるとともに、本研究の達成に御協力を頂いた野田彰博士、西尾功博士並びに教室の諸先生に篤く感謝する。本研究は文部省がん特別研究費の援助を受けている。

文 献

- 1) Berenblum, I.: Cancer Res., 1, 44 (1941).
- 2) Berenblum, I., N. Haran: Brit. J. Cancer, 9, 268 (1955).
- 3) Boutwell, R. K.: Progr. Exp. Tumor Res., 4, 207 (1964).
- 4) Graffi, A., Scharsach, F., Hyrer, E.: Naturwissenschaften, 42, 184 (1955).
- 5) Roe, F. J. C.: Brit. J. Cancer, 10, 72 (1957).
- 6) Saffiotti, U., P. Schubik: Brit. J. Cancer, 10, 34 (1956).
- 7) Salaman, M. H., Gwynn, R. H.: Brit. J. Cancer, 5, 252 (1951).
- 8) 水上哲次: 日医新報, 1805, 21 (1958).
- 9) Fromme, A.: Arch. Geschwulstforsch., 4, 329 (1952).
- 10) Cohnheim, J.: Vorlesung über allg. Pathologie, Berlin, 1882. 45) より引用.
- 11) 小林忠義・景山圭三: 病理組織標本の作り方, 第2版, 171頁, 東京, 医学書院, (1964).
- 12) 松雪銀彦・大原幸彦: 九血会誌, 4, 146 (1954).
- 13) Halpern, B. N.: Brit. J. Exp. Path., 34, 426 (1956).
- 14) 杉山繁輝: 血液及び組織の新研究とその方法, 81頁, 東京, 南江堂, (1942).
- 15) 綿貫 勤・土肥千里・斎藤武久・三浦幸雄・鈴木康之: 日網会誌, 5, 298 (1965).
- 16) 久留 勝: Medical Culture, 1, 78 (1959).
- 17) 木元正二: 十全会誌, 56, 649 (1954).
- 18) Marchant, J. & J. W. Orr: Brit. J. 7, 329 (1953).
- 19) Marchant, J. & J. W. Orr: Brit. J. Cancer, 9, 128 (1955).
- 20) 馬場恒男: 蛋白質核酸酵素, 9, 1103 (1964).
- 21) Orr, J. W.: Fact. Bact., 46, 494 (1938).
- 22) Twort, C. C. & Twort, J. M.: Lancet, 1, 1331 (1930).
- 23) Cramer, W. & Simpson, W.: Cancer Res., 4, 601 (1944).
- 24) Okamoto, Y.: GANN, 57, 563 (1965).
- 25) Carruthers, C. & Baumler, A.: J. Nat. Cancer Inst., 34, 191 (1965).
- 26) Louis, C. J.: Brit. J. Cancer, 12, 537 (1958).
- 27) Meltzer, N. & M. Hamar: Oncologia, 18, 195 (1964).
- 28) 木村 勇: 信州医学, 4, 91 (1955).
- 29) 高嶺三郎: 癌, 45, 242 (1954).
- 30) 大槻道夫: 日外会誌, 65, 495 (1964).
- 31) 水上哲次: 最新医学, 13, 1770 (1958).
- 32) 中馬英二・徳田 修: 癌, 45, 189 (1954).
- 33) Gersh, I., H. R. Catchpole: Cancer Res. 25, 657 (1965).
- 34) Seelich, F.: Wien Klin. Wschr., 112, 593 (1952).
- 35) Domagk, G.: Hdb. allge. Path., IV/3, 242, Berlin, Springer-Verlag (1956).
- 36) Greenstein, J. P.: Biochemistry of Cancer, p. 1, New York, Academic Press inc., (1947).
- 37) Milder,

- J. F. & Morton, J. J. : *Am. J. Cancer*, 37, 355 (1939). 38) Furth, J. & Barnes, W. A. : *Cancer Res.* 1, 17 (1941). 39) 平木 潔・入野昭三・太田善介・瀬崎達雄・須崎正則・鈴木信也・大里尚司 : *医学のあゆみ*, 49, 701 (1964). 40) 黒沢孝夫 : *日外会誌*, 66, 1983 (1965). 41) Stern, K. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 88, 1 (1960). 42) 山形敏一・三浦清美・結城時男・内海信男・添田 実・佐藤正次 : *癌*, 47, 489 (1956). 43) 大森幸夫 : *日網内誌*, 3, 28 (1963). 44) 塚 哲郎・大森幸夫 : *最新医学*, 17, 1133 (1962). 45) 水上哲次・小坂進 : *日医新報*, 2264, 17 (1967). 46) 古川 信・水上哲次 : *日本網内系学会第7回総会発表*, 1967. 47) 太田邦夫 : *日本臨床*, 13, 1039 (1955). 48) Andervont, H. B. : *Text. Rep. Biol. and Med.*, 15, 462 (1957). 49) Gowen, J. W. : *J. Nat. Cancer Inst.*, 15, 555 (1954). 50) Donovan, J. : *Arch. Surg.*, 94, 274 (1967). 51) 末山文一 : *日網会誌*, 5, 273 (1965). 52) 佐藤春郎・佐藤博・藤井敬二 : *日網会誌*, 3, 35 (1963). 53) 宮城文男 : *日網会誌*, 6, 157 (1966). 54) Kojima, M. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 88, 196 (1960). 55) Baillif, R. N. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 88, 1 (1960). 56) 宮崎誠示 : *十全医会誌*, 71, 84 (1965). 57) Spain, D. M., N. Molomut, A. B. Nivikoff : *Cancer Res.*, 16, 138 (1956). 58) Sulzberger, M. B., F. Herrmann, P. Piccalis, L. Frank : *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 82, 673 (1953). 59) Boutwell, R. K. & Rusch, H. P. : *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 1, 5 (1953). 60) Baserga, R., P. Schudik : *Cancer Res.* 14, 12 (1954). 61) Qureshi, S. & H. Zaman : *Cancer Res.*, 26, 1516 (1966). 62) Bianch, C., G. O. Benedictis, G. Tridente, L. F. Donati : *Brit. J. Cancer*, 17, 672 (1964). 63) Fukushi, K., K. Okawa, A. Zuzuki, R. Ohkawa, K. Nomoto : 9th International CancerCongress, 64, Tokyo, (1966). 64) Gillmann, T., Hathorn, M., Penn, J. : *Brit. J. Cancer*, 10, 394 (1956). 65) Agosin, M., Christen, R., Badinez, Q., Gasic, G., Neghme, A., Pizarro, Q., Jaspers, A. : *Proc. Exp. Biol. & Med.*, 80, 128(1952). 66) 水上哲次 : *老年病*, 3, 746 (1960). 67) Kulenkampff, D. : *Allg. Chirurgie Leipzig*, (1949). 66)より引用, 68) K. Stern : *The Reticuloendothelial system and Neoplasia. The Reticuloendothelial structure and function. The proceedings of the third international symposium on the reticuloendothelial system*, p. 233, New York, Ronald Press Co., (1960). 69) 緒方知三郎 : *ホルモンと臨床*, 1, 101 (1953). 70) Dunn, T. B. : *J. Nat. Cancer Inst.*, 14, 1281 (1954). 71) 長谷川弥人・藤井高明 : *最新医学*, 17, 1076 (1962). 72) 藤井高明・笹脇敏郎・与那原良夫・北川美知夫 : *日血会誌*, 20, 274 (1957). 73) Nicol, T., D. L. J. Bilbey, C. C. Ware : *Nature*, 182, 534 (1958). 74) Stasney, J., K. E. Paschkis, A. Cantarow : *Cancer Res.*, 10, 283 (1950). 75) 杉琴 孝 : *大阪市医誌*, 12, 281 (1960). 76) 田中 聰 : *岡山医誌*, 71, 2423 (1959). 77) Lewis, M. R. : *Science*, 100, 314 (1944). 78) Amreich, J. : *Wien Med. Wschr.*, 20, 390 (1957). 79) 水上哲次 : *臨床と研究*, 39, 247 (1957). 80) Mizukami, T. : *Oncologia*, 19, 150 (1965). 81) Caspari, W. & H. Föcken : *Z. Krebsforsch.*, 36, 546 (1932). 82) 出口国夫・磨伊正義・宮城文男・林 征一郎・長治達雄 : *金大結研年報*, 23, 217 (1966). 83) Nishizuka, Y., Nakakuki, K., Usui, M. : *Nature*, 205, 1236 (1965). 84) Parrot, D. M. U. : *Nature*, 195, 347 (1962). 85) 武谷健二 : *医学のあゆみ*, 54, 113 (1965). 86) Miller, J. F. A. P. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 99, 340 (1962). 87) Andreasen, E. : *Anat. Rec.*, 100, 634 (1948). 88) 小田島成和 : *日病会誌*, 43 (地方会), 443 (1954). 89) 福士勝成・吉井隆博・小笠原勲・三浦道夫 : *日網会誌*, 6, 153 (1966). 90) 水上哲次 : *外科*, 21, 208 (1959).

Abstract

Regarding the mesenchymal function as one of the manifestation of self defense mechanism of tumor-bearing host, in the present experiment, precancerous alteration and stromal response around experimentally induced skin tumor in dd-mice were histopathologically studied, at the same time, changes in blood constitution and serum protein content were investigated with advancement of carcinogenic process. The reticuloendothelial system was activated or inactivated by administration of drugs or splenectomy, and carcinogenic process and appearance of the tumor development were studied in 20-methylcholanthrene (abbreviated to MC, hereafter) induced skin tumor and subcutaneous tumor.

The results obtained were summarized as follows:

1. As investigated histologically in mice, cancerous alteration of the skin brought about was reversible, when MC was applied at longest for 6 weeks, whereas the alteration was irreversible on one way to malignant transformation, when MC was applied longer than 8 to 10 weeks.

2. The attitude of stroma of MC induced skin tumor was histochemically investigated approximately every 4 weeks. A few weeks after application of carcinogen (stage I), little difference was observed between alkaline phosphatase and acid phosphatase activity in the experimental animals and those in the control animals. From 8 to 12 weeks after the application of carcinogen (stage II and III), enzymohistochemical findings revealed from moderate to intense activity of alkaline phosphatase in the fibres of the proliferative connective tissue, and high activity of acid phosphatase in stromal round cells. On the other hand, metachromasia of the mast cells for Toluidine blue was remarkably observed in the papillary layer throughout the entire course of carcinogenesis. As the tumor growth advanced with malignancy (stage IV), these mesenchymal responses deteriorated with enzymatic activity. From these findings, it was considered that mesenchymal tissue acted defensively against tumor growth.

3. With the development of MC induced skin tumor marked decrease in red blood cell and hemoglobin content were observed at a late stage of the development, and decrease in albumin fraction and slight increase in α_1 -, α_2 - and γ -globulin fraction were observed in a relatively early stage. However, γ -globulin fraction decreased in the terminal stage.

4. Under an activated condition of the reticuloendothelial system by administration of Parotin, the incidence of MC induced epithelial tumor was lower, while the incidence was increased by blockade of the reticuloendothelial system by Cortisone or Trypan blue, which presumably acted to decrease host defense. On the other hand, in mice with administration of large doses of Cortisone the incidence of the tumor contrariwise decreased.

5. When the reticuloendothelial system was activated by the above-mentioned method, incidence of MC induced sarcoma, i. e. mesenchymal tumor, was decreased, and inactivation of the reticuloendothelial system by Trypan blue resulted in a lower incidence of the mesenchymal tumor.

6. In splenectomized mice, the incidence of both epithelial and mesenchymal tumor was increased, which was suggestive of the anti-carcinogenic character of the spleen itself.

From these findings, it was easily presumed that irreversible mutation of the somatic cells and function of the mesenchymal tissue played an important role in carcinogenesis. In other words, it was assumed that deterioration of the mesenchymal vitality caused decrease in defense activity of the organism, which formed an important supplementary factor of carcinogenesis.

写真説明

写真1 MC 頻回塗布により惹起されたマウス皮膚癌

写真2 MC 皮下注射により誘発されたマウスの皮下肉腫

写真3 (ワンギーソン氏染色×50)

MC 塗布 6 週, 毛包腺の不規則な増生と表皮の増殖性変化

写真4 (PAS 染色×75)

間質線維成分中に PAS 陽性物質が顆粒状に出現

写真5 (ACPase 染色×100)

間質円形細胞に中等度の ACPase 酵素活性をみる

写真6 (トルイジンブルー染色×125)

真皮層内に肥満細胞のメタクロマジーを著明に認める。

写真7 (H-E 染色×75)

MC 塗布 8 週, 上皮細胞層が真皮内へ乳頭状に侵入

写真8 (ALPase 染色×125)

間質結合織の線維細胞並びに線維芽細胞に強度の ALPase 活性を認める。

写真9 (H-E 染色×25)

MC 塗布12週, 表皮の異常増殖並びに乳嘴腫形成

写真10 (H-E 染色×75)

MC 塗布15週, 角化を伴った扁平上皮癌の像を示す。

写真11 (PAS 染色×75)

腫瘍発育先進部周囲に多糖類のメタクロマジー出現

写真12 (鍍銀染色×150)

肝間質への白血球浸潤, ク星細胞の多形化, 腫大,

色素貪食能亢進像を示す。

写真13 (PAS 染色×150)

肝細胞に PAS 陽性顆粒多数出現

写真14 (ACPase 染色×125)

肝星細胞に ACPase 活性をみる。

写真15 (鍍銀染色×25)

脾のリンパ濾胞の肥大, 増殖

写真16 (ALPase 染色×50)

脾濾胞周囲の細網細胞に ALPase 活性をみる。

写真17 (ギムザ染色×150)

骨髓塗抹標本, リンパ系細胞, 遊離大食大型細胞の増加をみる。

写真18 セルローズアセテート膜による電気濾紙泳動図

写真19 (H-E 染色×150)

Cortisone 投与の肝, 肝細胞の変性並びにク星細胞の扁平縮小化

写真20 (皮下組織球貪食×75)

Parotin 投与の皮下組織伸展標本

写真21 (H-E 染色×50)

角質層の肥厚, 間質結合織の増生を認める。

写真22 (鍍銀染色×125)

Cortisone 大量投与の皮膚, 角質層の菲薄化, 間質線維成分の粗糙化等の退行性変化をみる。

写真23 (H-E 染色×150)

脾剔群にみられた上皮性腫瘍の悪性像

写真24 (H-E 染色×150)

20-MC 皮下肉腫, 細胞異型の強い線維肉腫の像を呈す。

