

N-Nitrosobutylurea による淋巴肉腫の 発生 および進展に関する研究

第 1 編

組織，細胞学的所見を中心として

岡山大学医学部平木内科教室（主任：平木潔教授）

丹 治 爲 世

〔昭和48年7月12日受稿〕

内 容 目 次

I 緒 言	5. 組織所見
II 実験材料および実験方法	6. 電子顕微鏡の観察
III 実験成績	7. 臨床組織培養
1. 淋巴肉腫の発生	8. 無細胞汚液接種
2. 末梢血液像の推移	IV 総括並びに考按
3. 剖検所見	V 結 論
4. 諸臓器のスタンプ像の推移	

I 緒 言

発癌の成因に関する研究は多数にのぼり，実験的研究や臨床的観察に基づいた種々の説が提唱されるに至っているが，その成因は現在なお不明と云わざるを得ない．その成因として最も重要視されているのはウィルス，遺伝的要素，内的並びに外的因子等であろう．外的因子の1つとして，古くから論じられている化学物質による発癌実験は山極，市川(1915)のタール実験癌に始まり，その後タールからの発癌性化学物質の分離成分，類似合成化合物，アゾ色素類の研究に引き継がれてきた．この歴史の中で一見生化学的に安定と考えられていた Dimethylnitrosamine が50 ppm 含有飼料で1年以内に殆んど100%のラットに肝癌を発生することを，1956年に Magee, P.N. and Barnes, J.M.¹⁾が発見して以来，ニトロソ化合物が非常に注目されるようになり，Druckrey, H. と彼の協同研究者達^{2) 3)}は精力的にこの関連化合物65種について発癌実験を行った．この中で

合成 Acyl-alkyl-nitrosamide の1つである N-Nitrosobutylurea (NBU) を BD ラットに週1回50 mg/kg を皮下注射し，160日目以後は無処置のまま観察したところ，実験を開始して169～273日(平均215日)の間に全例注射部位に皮下肉腫の発生を認め，その結果を1966年に報告²⁾している．その後外国での報告が見当たらないのに対して，本邦では最近小田嶋(1969)⁴⁾の報告以来，非常に強力な発癌物質として注目されてきた^{5) 6)}．

私はこの NBU による発癌性および発癌機序を検討する目的で，RF 系マウスに連日経口投与したところ，胸腺腫型淋巴肉腫を高率に発生させることに成功した．ついでその発生並びに進展における剖検所見，諸臓器のスタンプ像，組織像，末梢血液像および教室考案の臨床組織培養による変化等を観察し，またウィルスの関与をみるため電子顕微鏡の観察および無細胞汚液接種実験を行い，興味ある知見を得たので報告する．

II 実験材料および実験方法

1. 実験動物

Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory (Bar Harbor, Maine, U.S.A.) 由来の RF 系マウスで、1958年以来当教室で飼育した白血病発症系マウスである。マウスはすべて20～24℃前後の恒温純系マウス室にてオリエンタル固型飼料および水を自由に与えて飼育した生後約10週令のものをを用いた。

2. 投与材料および投与方法

泉化学研究所(神奈川県横浜市)で製造した NBU を連日少量の純アルコールで溶解後、0.025%水溶液として約3ヶ月間給水瓶で経口投与した(図1)。

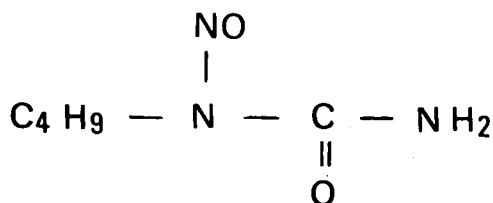


図1 N-Nitrosobutylurea の化学構造式

3. 末梢血液の検査方法

日本血液学会検定のメランジュール、ザリー氏血色素計およびパーカー・テュルク氏計算盤を用いた。検査法は尾端を切断せずに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採血し、赤血球数、白血球数、網状赤血球および血色素を測定、血液塗沫標本を作製しマイ・ギムザ染色を施した。血色素指数の計算は赤血球数 $1,000 \times 10^4/\text{mm}^3$ 、血色素100%の場合を1とした。

4. 剖検所見

剖検時諸臓器の肉眼的所見を記録し、各臓器重量を測定した。

5. スタンプ標本

経時的に屠殺後、可及的速やかに胸腺、脾、淋巴腺および骨髓(主として大腿骨骨髓)を摘出し、スタンプ標本を作製しマイ・ギムザ染色を行った。

6. 組織所見

経時的に屠殺剖検し、諸臓器を10%ホルマリンに固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し観察した。

7. 電子顕微鏡の所見

経時的に屠殺後、可及的速やかに胸腺、脾、肝および淋巴腺を摘出細切し、グルタルアルデハイドとオスミウム酸で二重固定し、エポン包埋後超薄切片として、醋酸ウラニールと水酸化鉛で電子染色を

行い、日立 HU II 型または JEM 7 型電子顕微鏡により観察した。

8. 臨床組織培養

経時的に屠殺し、胸腺、脾、淋巴腺および骨髓(主として大腿骨骨髓)を平木式臨床組織培養法¹⁹⁾に準じて組織培養を行い3時間、6時間、9時間、12時間、24時間後の増生様式、比較成長価を観察した。

9. 無細胞汚液接種実験

屠殺後胸腺腫を可及的速やかに摘出後、氷冷下の乳鉢内ですりつぶし、その20%リンゲル氏液浮遊液を3,000回転20分および10,000回転20分冷凍遠沈し、上清を Millipore Filter HAWA 01300 (孔径0.450 μ) で濾過した液0.2mlを生後24時間以内の同系新生児マウス背部皮下に接種した。

III 実験成績

1. 淋巴肉腫の発生(表1, 2)

0.025% NBU 水溶液の連日経口投与により約3ヶ月後立毛、食欲不振、体重減少、一部では眼球突出、胸廓の変形膨隆を示す胸腺腫型淋巴肉腫の発生を認めた。その発生率は表1に示す如く雌雄全体で52匹中46匹(88.6%)、雄30匹中28匹(93.3%)、雌22匹中18匹(81.8%)と高頻度の発生を認め、このうち肝脾腫合併例は雌雄全体で52匹中15匹(28.8%)、雄30匹中9匹(30%)、雌22匹中6匹(27.3%)であった。

表1 NBUによるリンパ肉腫の発生率

例数	胸腺腫	肝脾腫合併例
♂ 30	28 (93.3%)	9 (30.0%)
♀ 22	18 (81.8%)	6 (27.3%)
計 52	46 (88.6%)	15 (28.8%)

表2 腫瘍確認迄のNBU投与日数

	胸腺腫	肝脾腫合併例
♂	65～111日 (平均90日)	78～111日 (平均97日)
♀	66～105日 (平均96日)	66～88日 (平均84日)
♂♀全体	65～111日 (平均93日)	66～111日 (平均91日)

胸腺腫確認迄の NBU 投与日数は表2に示すごとく、雌雄全体で65～111日平均93日、雄65～111日

平均90日,雌66~105日平均96日であった。このうち肝脾腫合併例は66~111日平均91日,雄78~111日平均97日,雌66~88日平均84日で,肝脾腫合併例と非合併例,また両性間で腫瘍確認迄のNBU投与日数に有意の差は認められなかった。尚発症例では約4ヶ月後腫瘍死した。

2. 末梢血液像の推移(表3, 4)

表3は対照マウス雄3匹,雌3匹の末梢血液像の各平均値および計6匹の平均値の推移であるが,両性間に殆んど有意の差は認められなかった。従って計6匹の平均値の推移のみについて観察してみると,

赤血球数は $1,030 \sim 1,173 \times 10^4$ の間を変動し,平均値は1,085,血色素量は90~101%平均値は96%,血色素指数は0.82~0.98平均0.89,網状赤血球は19~31%平均26%であった。白血球数は10,376~12,117の間を変動し平均値は11,303であり,分類をみると好中球29~33%平均31%,淋巴球は65~69%平均67%,好酸球は0~1%,好塩基球は0%,単球は1~2%であり,幼若細胞は認めなかった。

次に淋巴肉腫発生マウスの末梢血液像の推移をみると,対照マウスの場合と同様両性間に有意の差は認められなかった。従って雄5匹,雌5匹計10匹の

表3 対照マウス末梢血液像の推移

実験開始後日数	0			15			30		
	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀
赤血球数(万)	1,150	985	1,068	1,130	1,005	1,068	1,105	1,000	1,053
血色素量(%)	103	92	98	101	96	99	99	94	97
血色素指数	0.86	0.93	0.92	0.89	0.91	0.93	0.90	0.94	0.92
網状赤血球(‰)	26	30	28	30	32	31	24	32	28
白血球数	11,200	12,117	11,659	11,014	11,261	11,133	10,584	10,167	10,376
好中球系									
桿核球(%)	11	13	12	10	11	11	12	9	7
分葉球(%)	19	20	20	21	22	22	21	22	22
小計	30	33	32	31	33	33	33	31	29
淋巴球系									
大淋巴球(%)	15	13	14	13	11	12	14	20	17
小淋巴球(%)	54	53	53	54	55	53	52	47	52
小計	69	66	67	67	66	65	66	67	69
好酸球(%)	0	0	0	0	0	0	1	1	0
好塩基球(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
単球(%)	1	1	1	2	1	2	1	1	1

表4 リンパ肉腫発生マウス末梢血液像の推移

実験開始後日数	0			15			30		
	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀
赤血球数(万)	1,100	1,050	1,075	1,150	1,200	1,175	1,250	1,300	1,275
血色素量(%)	105	98	102	104	100	102	104	100	102
血色素指数	0.95	0.93	0.95	0.91	0.83	0.87	0.83	0.77	0.80
網状赤血球(%)	25	30	28	24	25	25	16	12	14
白血球数	11,400	11,500	11,450	9,850	10,500	10,175	7,800	7,700	7,750
好中球系									
桿核球(%)	12	11	11	12	10	11	17	18	18
分葉球(%)	18	20	19	19	20	20	16	17	17
小計	30	31	30	31	30	31	33	35	35
淋巴球系									
大淋巴球(%)	18	13	15	16	15	15	15	17	16
小淋巴球(%)	51	55	54	53	55	55	52	47	49
小計	69	68	69	69	70	70	67	64	65
好酸球(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
好塩基球(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
単球(%)	1	1	1	0	0	0	0	1	0

平均値でみると、表4に示す如く赤血球系（赤血球数、血色素量、血色素指数、網状赤血球）ではNBU投与にもかかわらず、経時的に殆んど変化は認められなかった。一方白血球系についてみると、表4、図2に示す如くNBU投与1ヶ月目迄は白血球数は漸減、前発症期である2ヶ月目迄は軽度再増加し、その後は再び減少し発症期である3ヶ月では投与前の57%になった。好中球、大リンパ球、小リンパ球の絶対数でも同様の傾向が認められ、好酸球、好塩基球は0%で単球が0~1%の間を変動していた。またリンパ芽球の出現は末梢血液塗沫標本で認めなかった

が、肝脾腫合併例で時に1~2%の幼若なリンパ芽球様細胞を認めた。

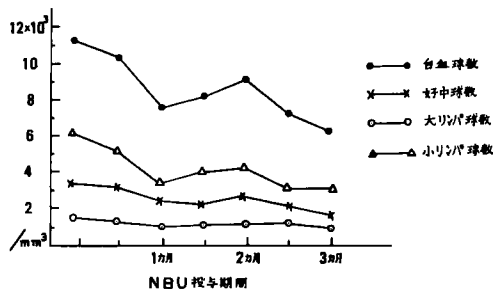


図2 白血球数及びその分類の推移

45			60			75			90		
♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀
1,050	1,010	1,030	1,245	1,100	1,173	1,100	1,115	1,127	1,045	1,100	1,073
100	102	101	98	93	96	90	94	92	90	90	90
0.95	1.01	0.98	0.79	0.85	0.82	0.83	0.81	0.82	0.86	0.82	0.84
26	27	27	25	28	27	15	22	19	18	22	20
11,283	11,367	11,325	10,150	13,084	12,117	10,967	10,550	10,759	12,584	10,917	11,751
10	13	12	10	8	9	11	8	10	8	8	8
21	22	22	21	22	22	22	19	21	18	26	22
31	35	34	31	30	31	33	27	31	26	34	30
15	14	14	27	25	26	18	20	23	25	24	25
53	50	51	41	44	42	48	51	43	52	41	44
68	64	65	68	69	68	66	71	66	77	65	69
0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

45			60			75			90		
♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀	♂	♀	♂♀
1,150	1,200	1,175	1,110	1,150	1,130	1,125	1,200	1,163	1,220	1,245	1,233
98	100	99	95	96	96	104	100	102	105	100	103
0.85	0.83	0.84	0.86	0.84	0.85	0.83	0.83	0.83	0.86	0.81	0.84
15	12	14	10	12	11	12	10	11	10	10	10
7,950	8,150	8,050	9,015	9,150	9,083	6,890	7,205	7,055	6,425	6,510	6,467
11	16	12	14	11	12	11	11	11	13	10	11
19	12	16	20	20	20	19	22	20	18	18	19
30	28	28	34	31	32	30	33	31	31	28	30
18	16	17	19	16	18	18	16	17	14	17	15
51	55	54	46	53	49	51	50	50	54	54	54
69	71	71	65	69	67	69	66	67	68	71	69
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1

3. 剖検所見 (表5, 6 写真1, 2)

NBU 経口投与約3ヶ月で, 胸腺が腫瘍状に著しく腫大する胸腺腫型淋巴肉腫の発生を認め, このうち肝, 脾の腫大を併う肝脾腫合併例と殆んど伴わない非合併例が認められた. 実験開始初期には諸臓器に肉眼的変化を認めず, 33日目のNo.65では胸腺はむしろ軽度縮小の傾向さえみられた. 45日目のNo.76では胸腺は50mgと軽度腫大するも, 肝・脾・淋巴腺の腫大は認めなかった. 65日目のNo.12は胸腺が650mgと著明に腫大, 肝・脾・淋巴腺の軽度腫大を認め死亡していたので, 翌66日目同時期に NBU 投与を開始したNo.13, No.14, No.15を採血後剖検精査した. No.13 No.15は肉眼的に変化を認めなかったが, No.14はNo.12と同様の所見を呈していた. 71日目のNo.55は胸腺の中等度腫大, 肝・脾・淋巴腺の軽度腫大, 78日目のNo.33は写真1に示す如く胸腺の高度腫大 (550mg), 肝・脾・淋巴腺の中等度腫大を認めた. 88日目のNo.34の胸腺腫は写真2に示す如く750mgと極度に腫大し, 胸腔は殆んど腫瘍で占められ, 圧排された肺, 気管・食道・心嚢への癒着および浸潤, 肝・脾・淋巴腺の軽度腫大が認められた.

100日目を過ぎると一般にやせ, 立毛が目立ち106日目のNo.9では550mgの胸腺腫, 肝・脾の中等度腫大を認めたが, 肉眼的には表5に示した如く, 肺・心・腎・胃腸・乳腺・脳脊髄等に腫瘍を認めず, 腹水等も認めなかった.

4. 諸臓器スタンプ像の推移

1) 胸腺スタンプ像 (表7, 図3, 写真3)

胸腺スタンプ標本による細胞百分率は表7, 図3に示す如く対照では小淋巴球が91%と大部分を占め, 大淋巴球は僅か8.6%, 淋巴芽球は0.4%に過ぎないが, その後の推移をみると小淋巴球は漸減し, 肉眼的に著変を認めぬ66日目のNo.13で既に25.6%と激減, 腫瘍を認める71日目のNo.55では12.2%, 88日目のNo.34では1.5%に減少した. 大淋巴球は前発症期である2ヶ月迄は漸増し, その後は再び漸増した. 一方淋巴芽球は小淋巴球とは対称的に漸増し, 66日目のNo.13では肉眼的に特に変化を認めないにもかかわらず35.2%と増加し, 腫瘍を認める71日目のNo.55では60.2%と激増, 進展期のNo.34では85.4%を占めた.

表5 NBU投与マウスの剖検所見

マウス番号	65	76	12	13	55	33	34	9
NBU投与日数	33	45	65	66	71	78	88	106
胸 腺	—	+	■	—	+	■	■	■
肝	—	—	+	—	+	+	+	+
脾	—	—	+	—	+	+	+	+
淋 巴 腺	—	—	+	—	+	+	+	+
肺	—	—	—	—	—	—	—	—
心	—	—	—	—	—	—	—	—
腎	—	—	—	—	—	—	—	—
胃 ・ 腸	—	—	—	—	—	—	—	—
乳 腺	—	—	—	—	—	—	—	—
脳, 脊 髄	—	—	—	—	—	—	—	—

(—)変化なし (+)軽度腫脹 (++)中等度腫脹 (■)高度腫脹

表6 各臓器の湿重量の推移 (単位mg)

マウス番号	対照	65	76	12	13	55	33	34	9
NBU投与日数	33	45	65	66	71	78	88	106	
胸 腺	30	30	50	650	30	200	550	750	550
肝	1,450	1,400	1,450	2,300	1,600	1,600	2,300	1,650	2,550
脾	180	150	160	250	150	250	450	200	350
淋 巴 腺	20	30	20	60	30	50	80	40	80

表7 NBU投与マウスの胸腺スタンプ像の推移 (単位%)

マウス番号	対照	79	65	76	13	55	34
投与日数	14	33	45	66	71	88	
淋巴芽球	0.4	1.0	3.9	10.8	35.2	60.2	85.4
大淋巴球	8.6	8.8	16.6	18.4	38.2	26.9	12.3
小淋巴球	91.0	90.2	79.3	70.5	25.6	12.2	1.5
分裂像	0	0	0.2	0.3	0.1	0.7	0.8

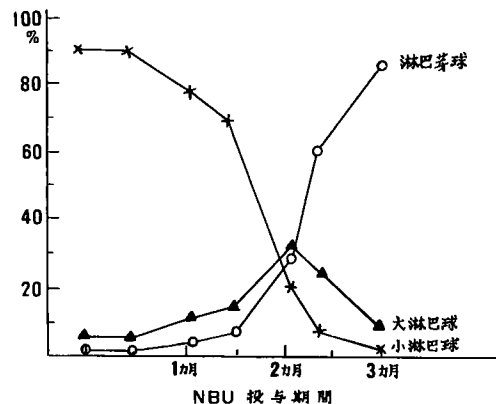


図3 胸腺スタンプ像の推移

2) 淋巴腺スタンプ像(表8, 写真4)

表8に示す如く胸腺同様小リン巴球は漸減し、組織学的にリン巴腺の正常構造がまだ保たれている71日目のNo.55では37.9%を占めていたが、正常構造の失なわれた88日目のNo.34では2.6%に激減した。大リン巴球は前発症期迄漸増し、発症期ないし進展期では再び減少した。一方リン巴芽球は漸増し、リン巴肉腫となった88日目のNo.34では88.2%と激増した。

3) 脾スタンプ像(表9, 写真5)

表9に示す如く、リン巴球系は漸増し、反対に始中球系は漸減した。リン巴球系の推移を詳細にみると、リン巴芽球は漸増しリン巴涸胞の腫大、増生が認められる71日目のNo.55では30.5%, 88日目のNo.34では36.2%に増加していた。大リン巴球もリン巴芽球と同様の傾向を示していた。一方小リン巴球は漸減し、71日目のNo.55では25.4%, 88日目のNo.34では18.7%と著明に減少した。

4) 骨髓スタンプ像(表10, 写真6)

表10に示す如く、リン巴球系は分類を含め著変なく、好中球系は漸減し、分類では分節核球の漸減を示していた。赤芽球は漸増し、胸腺腫の認められる71日目のNo.55では38.6%, 88日目のNo.34では41.8%と著明に増加していた。

5. 組織所見

1) 胸腺(写真7, 8)

NBU投与33日目のNo.65は皮質、髓質の境界も比較的明瞭でリン巴球の浸潤、増生は特に認められず、45日目のNo.76では皮質と髓質の境界がやや不明瞭となり、リン巴球系細胞の浸潤、増生を認めるようになり、66日目のNo.13, 14, 15ではNo.76同様胸腺の正常構造は保持されていたが、細胞浸潤は著明となっていた。71日目のNo.55は細胞浸潤が一段と著明となり、皮質および髓質の境界は非常に不明瞭となったリン巴肉腫像で、いわゆる Starry sky 像を呈していた。88日目のNo.34, 92日目のNo.16の胸腺はリン巴芽球を主とした腫瘍性増殖で全く無構造となり、中心に組織球を持つ Starry sky の像を認めた。106日目のNo.9は更に進行し、一部変性壊死に陥っていた。

2) 淋巴腺(写真9)

33日目のNo.65, 45日目のNo.76は著変なく、

表8 NBU投与マウスのリン巴腺スタンプ像の推移(単位%)

マウス番号		対照	79	65	76	13	55	34
投 与 日 数			14	33	45	66	71	88
淋 巴 球 系	淋巴芽球	2.8	4.1	4.6	4.8	14.4	27.7	88.2
	大淋巴球	9.4	12.3	15.2	21.3	33.5	34.2	9.0
	小淋巴球	87.8	83.6	80.2	73.9	51.8	37.9	2.6
	分 裂 像	0	0	0.2	0.3	1.0	0.7	0.8

表9 NBU投与マウスの脾スタンプ像の推移(単位%)

マウス番号		対照	79	65	76	13	55	34
投与日数			14	33	45	66	71	88
淋 巴 球 系	淋巴芽球	2.8	3.0	4.2	10.8	19.3	30.5	36.2
	大淋巴球	9.4	10.8	12.7	15.0	22.0	34.9	40.3
	小淋巴球	66.2	65.5	63.8	58.6	45.4	25.4	18.7
	小　　計	78.4	79.3	80.7	84.4	86.7	90.8	95.2
好 中 球 系	骨髓芽球	0	0	0	0	0	0	0
	前骨髓球	0.2	0	0	0	0	0	0
	骨　髓　球	0.3	0.4	0.3	0.3	0.2	0	0
	後骨髓球	1.4	1.5	1.2	1.0	0.3	0.1	0
	桿　核　球	2.6	3.0	2.1	2.1	0.8	0.2	0.1
	分節核球	6.7	5.6	4.7	4.5	5.1	2.8	1.8
	小　　計	11.2	10.5	8.3	7.9	6.4	3.1	1.9
好　　酸　球	0	0	0	0	0	0	0	
好　　塩　基　球	0	0	0	0	0	0	0	
単　　球	0.4	0.5	0.3	0.3	0	0.1	0	
赤　　芽　球		9.2	9.1	10.1	6.8	6.3	5.5	2.2
細　網　細　胞		0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
巨　　核　球		0.3	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3
形　質　細　胞		0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3

60日目のNo.13, 14, 15は正常構造は保持されており、皮質小節の軽度腫大を認めた。71日目のNo.55は皮質小節の腫大増生、髓質へのリン巴系細胞の浸潤を認め、88日目のNo.34になるとリン巴芽球の腫瘍性増殖で正常構造は破壊され、92日目のNo.16も同様の所見を呈したリン巴肉腫像であった。

3) 脾(写真10)

33日目のNo.65, 45日目のNo.76は著変なく、66日目のNo.13, 14, 15はリン巴球増生によるリン巴涸胞の腫大を認めた。71日目のNo.55, 81日目のNo.34では皮質、髓骨の血管拡張、特に梁動脈の拡張を認め、リン巴涸胞の腫大も著明となってきた。92日目のNo.16はこれらの所見と共に静脈洞および一部の被膜には形質細胞、好中球、巨核球等の細胞浸潤も認めた。106日目のNo.9になると主としてリン巴芽球よりなるリン巴肉腫

像で、巨核球の散在も認めた。

4) 肝 (写真11)

2ヶ月までは特に異常を認めず、71日目のNo55は中心静脈に著変なくグリソン氏鞘(「グ」鞘)への淋巴球浸潤および「グ」鞘周囲肝細胞核の軽度大小不同を認めるようになった。88日目のNo34になると肝は中等変腫大し、中心静脈および「グ」鞘周囲への細胞浸潤は著明となり、肝細胞核の大小不同も進んでいた。

106日目のNo9になると「グ」鞘を中心に淋巴芽球を中心に淋巴球系細胞浸潤を肝小葉内にび漫性に認めた。

5) 骨 髄

2ヶ月迄著変なく、71日目のNo55は血管の拡張、赤芽球の増生を認め、88日目のNo34、92日目のNo16になるとこの変化は一層著明となったが、骨髓の正常構造は保たれ淋巴系細胞浸潤に特に認めなかった。

6) 肺

71日目のNo55は間質の肥厚、出血、細気管支周囲への淋巴系細胞浸潤を認め、88日目のNo34では更に浸潤は著明となり、一部の組織では正常構造がまったく破壊されていた。

7) 胃 腸

No55, No34で粘膜下層および一部筋層の血管周囲に軽度の細胞浸潤を認めた。

8) 心

88日目のNo34で心外膜に淋巴系細胞浸潤を認めたが、筋層への浸潤は認めなかった。

9) 卵巣, 子宮, 睪丸

特に変化を認めなかった。

10) 腎

71日目のNo55で皮質内の出血、血管周囲および尿管内への腫瘍細胞浸潤を認めた。

6. 電子顕微鏡的観察 (写真12)

NBU 発癌においてもウィルスが関与していることを電顕的検策によって証明するため、経時的にマウスを屠殺し胸腺、脾、淋巴腺を精力的に観察した。しかし、残念ながらウィルス粒子は証明されなかった。胸腺、脾、淋巴腺で観察される細胞は主に淋巴芽球、淋巴球で、その間に散在する細胞細網、脾では巨核球、形質細胞を散在性に認めた。

淋巴肉腫で大部分を占める淋巴芽球の細胞輪郭は比較的円滑で、核は大きくほぼ胞体中央に位置し円滑であったが、時に深い切れ込みを認めた。核膜は

表10 NBU投与マウスの骨髓スタンブ像の推移(単位%)

マウス番号		対照	79	65	76	13	55	34
投 与 日 数			14	33	45	66	71	88
淋 巴 球 系	淋巴芽球	0	1.2	3.0	2.3	2.1	1.8	1.2
	大淋巴球	2.8	5.3	4.1	5.0	4.8	4.2	3.0
	小淋巴球	8.7	7.2	8.4	7.8	8.0	8.1	8.4
	小 計	11.5	13.7	15.5	15.1	14.9	14.1	12.6
好 中 球 系	骨髓芽球	2.0	2.2	2.0	2.2	2.0	1.8	1.8
	前骨髓球	4.3	4.3	4.0	3.8	3.1	3.0	3.3
	骨 髓 球	4.5	4.6	4.1	4.0	3.9	3.2	3.2
	後骨髓球	7.5	5.8	9.8	8.3	5.5	4.4	5.4
	桿 核 球	10.9	11.1	12.0	11.9	11.0	10.7	10.9
	分節核球	34.4	34.3	24.4	18.9	20.3	20.0	16.8
	小 計	63.6	62.3	56.3	49.1	45.8	43.1	41.4
好 酸 球		1.3	1.5	1.2	1.0	1.0	1.1	1.0
好 塩 基 球		0	0	0	0	0	0	0
単 球		1.5	1.0	2.0	1.8	2.1	1.0	1.0
赤 芽 球		20.5	20.2	23.0	30.6	33.9	38.6	41.8
細 網 細 胞		0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2
巨 核 球		0.5	0.5	1.2	1.4	1.6	1.5	1.6
形 質 細 胞		0.7	0.5	0.5	0.7	0.5	0.4	0.4

二重膜構造で著変なく、核小体は境界膜を有することなく通常1ヶ存在し、電子密度の極めて高い細顆粒の集合よりなっていた。核質は染色質と核基質からなるが、染色質は60~80Åのクロマチン顆粒として認められほぼ均等に分布していたが、核周辺では結節状に凝集する傾向を示した。一方胞体は狭小で濃厚なりボゾーム分布を示し、小器官の発達は極めて悪かった。

7. 臨床組織培養

1) 増生様式の推移 (図4, 写真13, 14)

平木式臨床組織培養による増生様式の推移をみると、1ヶ月迄は対照とほぼ同一であったが45日目のNo.76では胸腺および淋巴腺が軽度低形成の傾向を認めた。66日目のNo.13になると、剖検所見で特記すべき異常を認めないにもかかわらず胸腺および淋巴腺で低形成、脾でも軽度低形成の傾向を認めたが、骨髓は正常様式であった。胸腺腫の認められる71日目のNo.54の胸腺および淋巴腺は更に低形成が著明となり、脾も軽度低形成を示したが骨髓は依然として正常様式であった。111日目のNo.49の胸腺および淋巴腺は高度低形成、脾も軽度低形成を認めたが、骨髓は依然として正常増生様式のままで白血病性増生様式は常に示さなかった。

組 織	対 照	32日 No.70	45日 No.76	66日 No.13	71日 No.54	111日 No.49
胸 腺 淋 巴 腺						
脾						
骨 髄						

図4 NBU投与マウスの増生様式の推移

2) 比較成長価(図5)

増殖面積は培養3, 6, 9, 12時間および24時間後, 紙面に拡大して模写後プランメーターで計算した。各臓器の比較成長価は対照マウスを100%とした場合, 各時間ではほぼ同様の傾向を示したので, 12時間後の成績について述べる。図5に示す如く胸腺は1ヶ月迄は対照と殆んど変わらず, その後激減し66日目No.13では35.4%となり, 71日目41.8%, 111日目52.4%と軽度回復した。淋巴腺は1ヶ月後56%となり, その後殆んど変らなかった。脾は1ヶ月後より漸減し, 前発症期の71日目75.4%発症期および進展期の111日目49.1%を示していた。これら淋巴系組織に対し, 骨髓は対照と略同一であった。

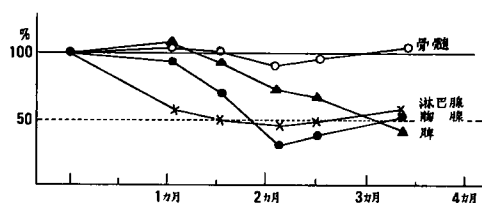


図5 NBU投与マウスの比較成長価

8. 無細胞汚液接種

胸腺の淋巴肉腫腫瘍組織の無細胞汚液を接種された同系新生児マウスで, 感染死および共食等をまねがれ6ヶ月以上生存した32匹を1年から1年半の間観察し, 末梢血液像および死亡時の剖検により腫瘍の発生を精力的に調べたが, 白血病, 赤血病および腫瘍の発生等の異常所見は認められなかった。

IV 総括並びに考按

1. 発生率および腫瘍の種類

生後約10週令のRF系マウスに0.025% NBU水溶液を連日経口投与し, 約3ヶ月後胸腺腫型淋巴肉腫の発生を高率に認めた。その発生率は両性間で有意の差なく平均88.6%であり, 肝脾腫合併例は平均28.8%であった。潜伏期も両性間で有意の差なく平均93日であり, 肝脾腫合併例は平均91日であった。

化学物質による癌(広義の)の発生率およびその種類は, 化学物質の種類, 投与方法, 投与量, 投与する動物の種あるいは系により, また投与時期の年齢等によって異なっている。1939年 Mider and Morton^{15), 16)}が発癌性炭化水素である20-Methylcholanthrene (MC)によりDBA系マウスに白血病を発生させて以来, 各種のマウスについて多くの研究がなされてきた。私が本実験で使用したRF系マウスについてはFurth¹⁷⁾により34%に白血病の発生を報告しているが, 教室でもMCその他の化学物質による系統的研究があり平木・入野¹⁸⁾, 須崎^{19), 20)}等は生後約1ヶ月マウスの背部皮膚にMCを週2回の割合で塗布し84%に白血病発生, 康²¹⁾, 平木・入野¹⁸⁾等は0.8% MC経口投与で62.5%の白血病を発生させることに成功したが, 更に非発癌性のクロトン油を併用し, 潜伏期の短縮および発生率の上昇(70.5%に上昇)を認めた。また平木・入野¹⁸⁾, 国定²²⁾等は新生児マウスにMC1mg1回皮下注射のみで50%に白血病を発生させ, 注射部位に一致して42.9%に線維肉腫が発生したが, 同一処置で3, 4-Benzpyrene (BP) 1mg投与でも75%に白血病の発生を認めた。

次に本実験に使用したNBUによる発生率をみると, マウスでは横路等^{7), 27)}は生後10~12週令のC57BL/Ka系に1日1mg連日経口投与し, 98.5%に胸腺型淋巴性白血病が発生し, 生後4~5週令のICR/JCL系に1日2~5mg投与では89.6%に白血病発生を認めた。松平等²⁴⁾は生後約1ヶ月の8系統のマウスに0.04% NBU水溶液を60日間経口投与し, AKR/Ms系で100%, C3HF/He系94.7%, C57BL/6J系94.7%, SWISS/Ms系100%, SL/Ky系100%, A/Jax系93.7%, SL/Ms系100%, BALB/C系31.8%とBALB/Cを除き殆んど全例に白血病発生をみ, 大多数は胸腺型淋巴性白血病であった。私の使用したRF系マウスによる報告は他に見当たらないが, 生後約10週令の同系マウスに0.025% NBU水溶液(横路等と同じ1日1mgに相当)連日経口投与により88.6%の高率に胸腺型淋巴肉腫の発生をみたが, 他の系に高率な発生が報告されている白血病は認められず同じマウスでも系統差により白血病発生効果が異なってくるものと考えられる。

ラットではDruckrey等^{2), 3)}がBD系に週1回50mg/kgを皮下注射し, 平均215日後全例に皮下肉腫の発生を, 小田嶋^{4), 5), 28)}は雌のドンリュウにA, BおよびC群に各々0.04, 0.02, 0.01%のNBU水溶液を連日経口投与しA群(14/14), B群(21/21), C群

(21/21)の全例に腫瘍を認め、NBUを高濃度に与えると早期に白血病死し、低濃度にすると白血病発生頻度は低下するが、他の臓器に腫瘍が生じると述べている。横路等^{7) 27)}は5~10週令のAC1系ラットに1日5mg投与し、89%にマウスの病型と違って肝脾の腫大するRauscherあるいはFriend病類似の赤白血病、雌のW/FU系ラットでは白血病発生はなく、平均125日後乳癌を全例に認めている。小林等³⁵⁾、福西等³⁶⁾もマウスに認められなかった乳癌の発生を高率に認めている。

マウスおよびラット以外のNBU発癌実験の報告は見当たらないが、教室の入野は未発表であるが猫に1日30mg連日経口投与し1年間観察したが、白血病および腫瘍の発生は認めていない。投与時期、投与方法、投与量も勿論問題となるが、投与される動物の種が発癌性に非常に影響していると考えられる。

さてNBUはこれらの成績で示された如く、マウスおよびラットに関しては今迄よく使用されているMC、BPに比して決して遜色のない強力な発癌剤であり、淋巴肉腫および白血病の発生についても動物の種、系、投与時期、投与方法、投与量等を選択すれば殆んど100%に発症せしめ、発癌の機序、ウィルスの関与、発癌と免疫、抗白血病薬の効果判定スクリーニング等広汎な研究に役立つ優れた発癌剤であると考えられる。

2. 発生並びに進展

1) 剖検所見

1ヶ月半頃より胸腺の軽度腫大、2ヶ月頃では中等度腫大、3ヶ月前後になると胸腔を殆んど占める胸腺腫の発生を認めた。しかし、肝脾腫合併例を除き、肉眼的に他の器官に腫瘍発生および腹水等を認めなかった。

2) スタンプ像

胸腺、淋巴腺では小淋巴球が漸減し、大淋巴球は2~2ヶ月半頃迄は漸増、その後再び減少していたが、淋巴芽球は2ヶ月半頃より激増した。脾では大淋巴球が漸増、淋巴芽球も2~2ヶ月半頃より増加がみられた。これら淋巴系組織の淋巴芽球が増加するのに対して、骨髓では淋巴芽球の増加は認められなかった。

3) 組織所見

1ヶ月半で胸腺は皮質、髓質の境界がやや不明瞭となり、2ヶ月で更に不明瞭となり、淋巴腺の皮質小節および脾小節の腫大も認めた。2ヶ月半で胸腺への淋巴球系細胞浸潤は著しく、淋巴腺および脾で

もこの傾向を認め、肝で「グ」鞘への細胞浸潤、骨髓で赤芽球の増生、血管拡張を認めた。3ヶ月に入ると胸腺および淋巴腺は正常構造の破壊された淋巴肉腫像を呈し、肝脾腫合併例では脾の淋巴肉腫像、肝小葉内への瀰漫性細胞浸潤を認めたが、骨髓には特に浸潤を認めなかった。

4) 末梢血液像

赤血球系に著変がないのに対して、白血球数は漸減し2ヶ月頃軽度再上昇後、3ヶ月では再び減少し投与前の57%になった。好中球、大淋巴球および小淋巴球の絶対数でも同様の傾向を示し、また淋巴芽球の出現もなく白血病の発生は認められなかった。しかし、肝脾腫合併例で時に1~2%の淋巴芽球様細胞を認めた。

5) 臨床組織培養

1ヶ月半で胸腺および淋巴腺の軽度低形成の傾向、2ヶ月で低形成、2ヶ月半から3ヶ月になると低形成の増強と共に脾も低形成を示し、その後の観察でも白血病性増生様式は常に認めなかった。一方骨髓も常に正常様式のままであり、白血病性でなかったと考えられる。比較成長価は淋巴系組織が減少し3ヶ月後半減していたのに対して、骨髓は対照とほぼ同じであった。

前項で述べたことと重複するため簡単にふれるが横路等はC57BL/Ka系マウスで胸腺型淋巴性白血病、ICR/JCL系マウスでも同様の白血病を認め、その多くの末梢血液中に異常細胞が出現し、組織では本論文で指摘したと同様の胸腺の淋巴肉腫、淋巴系組織の持続性低形成をあげている。しかし、骨髓においても低形成を認めている点は本実験の成績と異なっていた。腫瘍性変化の前の低形成に関しては他の化学発癌および人白血病において認められている。前に述べた様に、教室ではRF系マウスにMCを投与し淋巴性白血病および骨髓性白血病を発生させ、臨床組織培養で前白血病期の低形成、白血病期の過形成を報告している。人白血病では1944年 Marchal, 1949年 Mallarme, Hamilton-Paterson, 1953年 Block 等が前白血病期に再生不良性貧血状態を呈した症例を報告している。本邦では昭和15年天野³⁷⁾が再生不良性貧血と白血病との関係を論じて以来多くの報告があるが、教室でも昭和36年喜多嶋等³⁸⁾は再生不良性貧血を思わせる如き前白血病状態を把握し得た単球形白血病および骨髓性白血病の2症例を、最近高橋³⁹⁾喜多嶋⁴⁰⁾は更に5症例を報告している。この腫瘍性(白血病性)変化の前に低形成が

認められる所見は第2編で述べる免疫能の変化と共に腫瘍細胞の発生および増殖に密接に関係している事が推定せられる。

3. ウィルスの関与

1) 電子顕微鏡的観察

発癌(本実験ではリン巴肉腫)にウィルスが関与していることを電顕的に証明するため、経時的に胸腺、リン巴腺および脾を観察したがウィルス粒子は認められなかった。

2) 無細胞汙液接種

リン巴肉腫の無細胞汙液を接種した同系新生児マウスを1年から1年半観察し、末梢血液および剖検により異常所見の発生を調べてみたが、白血病、赤血病および腫瘍発生等は認められなかった。

化学物質による発癌においてもウィルスが関与しているのではないかという考えは古くからあり、化学発癌の無細胞汙液による移植実験は Salaman (1959), Graffi (1960), Miller (1961) 等によってなされたが、いずれも成功しなかった。入野等²⁸⁾ (1963) は MC で RF 系マウスに発生させた白血病の無細胞汙液接種実験に成功したが、その後 Kino-shita²⁹⁾ は N-Nitroquinoline-N-Oxide で, Toth³⁰⁾ は DMBA で SWISS 系マウスに誘発させた白血病の無細胞汙液の移植による白血病の発生を報告している。更に近年に至り Huebner 一派の同様の報告等があり、化学発癌においてもウィルス活性化説を支持する知見が増えている。本実験でもこの仮説に基づいて研究を進めたが、ウィルスの関与を積極的に支持する知見は得られなかった。しかし、NBU 発癌でも今村³¹⁾ は C57BL/Ka 系マウスに発生した胸腺リン巴腫の無細胞汙液を W/Fu 系ラットの胸腺内に接種し、胸腺リン巴腫および細網細胞性白血病の発生を、また小玉^{32) 33)} は WKA/MK 系ラットに発生した白血病臓器組織に比較的多数の C 型ウィルス粒子を認めている。これらの報告からすれば、本実験においてもウィルスの関与が十分考えられるが、今回使用した RF 系マウスにおいてはウィルス粒子が極め

て少数であったため、電顕的に証明し得なかったか、或はウィルス粒子としての形態をとらないマスクされた形乃至 Provirus の形で存在したのかも知れない。無細胞汙液接種により腫瘍の発生が認められなかった点についても同様な理由によるものと考えられる。

V 結 論

1. 生後約10週令の RF 系マウスに0.025% NBU 水溶液を連日経口投与し、平均93日後胸腺腫の発生を88.6%の高率に認めた。両性間で潜伏期および発生率に有意の差はみられなかった。

尚発症例では NBU 投与約4ヶ月後腫瘍死した。

2. 胸腺は2ヶ月になると中等度腫大、3ヶ月前後になると巨大な腫瘍を形成し、スタンプ像はリン巴系組織で小リン巴球が漸減、リン巴芽球が2ヶ月半頃より激増するのに対して、骨髓ではリン巴芽球の増加は認めなかった。胸腺の組織像は1ヶ月半頃よりリン巴系細胞浸潤のため皮質、髄質の境界が次第に不明瞭となり、3ヶ月ではリン巴肉腫となり、肝脾腫合併例では肝小葉内への瀰漫性細胞浸潤、脾のリン巴肉腫像を認めたが、骨髓には特に浸潤を認めなかった。

3. 末梢血液像および臨床組織培養の経時的観察で白血球数の減少、リン巴系組織の低形成増生様式を認めたが、白血病性所見は得られなかった。骨髓も最後迄白血病性所見は見られなかった。

4. 発癌におけるウィルスの関与を証明するため電顕的観察および無細胞汙液接種実験を行ったが、ウィルスの関与を積極的に支持する所見は得られなかった。

本論文を終わるに臨み、ご指導・ご校閲を賜った恩師平木潔教授、入野昭三講師、瀬崎達雄講師並びに組織標本に関してご教示戴いた元本学病理学教室木本助教授に深謝致します。

(尚本論文の要旨は第32回日本血液学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Magee, P.N. and Barnes, J.M. : The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. Brit. J. Cancer, 11 : 114~122, 1956.
- 2) Druckrey, H., Preussmann, R., I ankonie, S., So. B.T., Schmidt, C.H. und Bücheler, J. : Zur Erzeugung subkutaner Sarkome von Hydrazodicarbonsäure-bis-(methyl-nitrosamid), N-Nitr-

- oso-N-n-butyl-harnstoff, N-Methyl-N-Nitroso-nitroguanidin und N-Nitrosoimidazolidon. Z. Krebsforsch., **68** : 87~102, 1966.
- 3) Druckrey, H., Preussmann, R., Ivankonic, S. und Schmähle, D. : Organotrope carcinogene Wirkung bei 65 Verschiedener N-Nitroso-Verbindungen an BD Ratten. Z. Krebsforsch., **69** : 103~201, 1967.
 - 4) Odashima, S. : Development of leukemia in Rats by oral admimistration of N-Nitrosobutylurea in the drinking water. Gann, **60** : 237, 1969.
 - 5) Odashima, S. and Wang, F. Ch. : Establishment of four lines of transplantable rat leukemia induced by N-Nitrosobutylurea in Douryu Rats. Gann, **61** : 597~600, 1970.
 - 6) Odashima, S. : Leukemogenesis of N-Nitrosobutylurea in the rat. I. Effect of various concentratious in the drinking water to female Donryu Rats. Gann, **61** : 245~253, 1970.
 - 7) Yokoro, K., Imamura, N., Takizawa, S., Nishihara, H. and Nishihara, E. : Leukemogenic and mammary tumorigenic effects of N-Nitrosobutylurea in mice and rats. Gann, **61** : 287~289, 1970.
 - 8) Takizawa, S. and Yamasaki, T. : Role of ovarian hormones in mammary tumorigenesis by a continuous oral administration of N-Nitrosobutylurea in Wister/Euoth Rats. Gann, **62** : 485~493, 1971.
 - 9) Takizawa, S. and Nishihara, H. : Induction of tumors in the brain, kidney and other extra-mammary gland organs by a continuous oral admimstration of N-Nitrosobutylurea in Wistar /Furth Rats. Gann, **62** : 495~503, 1971.
 - 10) Hosokawa, M., Gotohda, E. and Kobayashi, H. : Leukemia and mammary tumor in rats admimistered N-Nitrosobutylurea. Gann, **62** : 557~559, 1971.
 - 11) 小田嶋成和 : N-Butyl-N-Nitrosourea によるラット白血病の発生. 医学のあゆみ, **76** : 675~676, 1971.
 - 12) Kodama, T., Hosokawa, M., Gotohda, E., Sendo, F. and Kobayashi, H. : Virus particles in rat leukemias induced by N-Nitrosobutylurea. Gann, **63** : 261~263, 1972.
 - 13) Hiraki, K. : Studies on diagnosis of leukemia by tissue culture. Acta Med. Okayama, **12** : 84~91, 1958.
 - 14) Lignac, G.O.F. : Blastomartige Erkrankung der wissen Maus durch chronische Benzolvergiftung und ihre Beziehung zur Leukämie. Krankheitsforsch., **6** : 97~130, 1928.
 - 15) Mider, G.B. and Morton, J.J. : The effect of methylcholanthrene on the latend period of lymphomatosis in dilute brown mice. Am. J. Cancer, **37** : 355~363, 1939.
 - 16) Morton, J.J. and Mider, G.B. : The production of lymphomatosis in mice of known genetic constitution. Science, **87** : 327~328, 1939.
 - 17) Furth, J. and Barnes, W.A. : Differences between malignant blood cells from induced and spontanooous leukemias of mice. Cancer Res., **1** : 17~22, 1941.
 - 18) Hiraki, K. and Irino, S. : Mechanism of chemical leukemogenesis. Acta Haem. Jap., **28** : 860~871, 1965.
 - 19) Susaki, M. : Studies on the leukemogenesis by 20-Methylcholanthrene skin painting in RF Mice. 1. Development of lymphocytic leukemia. Acta. med. Okayama, **78** : 597~614, 1966.
 - 20) ——— : Studies on the leukemogenesis by 20-Methylcholanthrene skin painting in RF Mice. II. Development of myelogenous leukemia. Acta. med. Okayama, **78** : 615~632, 1966.
 - 21) Ko, I. : Studies on leukemogenesis in RF Mice by oral administration of 20-methylcholanthrene. I. Induction of leukemia by oral administration of 20-Methylcholanthrene. Acta. med. Okayama, **76** : 75~90, 1964.
 - 22) ——— : Studies on leukemogenesis in RF Mice by oral administration of 20-Methylcho-

- lanthrene. II. Co-leukemogenic action of croton oil in the induction of leukemia by oral administration of 20-Methylcholanthrene. *Acta. med. Okayama*, **76**: 91~103, 1964.
- 23) Kunisada, M.: Experimental studies on the leukemogenesis in mice. I. Studies on leukemogenesis in newborn mice by 20-Methylcholanthrene. *Acta. med. Okayama*, **77**: 1147~1167, 1965.
- 24) 入野昭三, 三好勇夫, 国定岑生, 永森佛一郎: 発癌性化学物質の新生児ハツカネズミ 1 回注射による白血病の誘発. I. 20-Methylcholanthrene による各種ハツカネズミ白血病の誘発と dose response. *医学と生物学*, **71**: 309~314, 1965.
- 25) 入野昭三, 永森佛一郎, 鈴木信也, 太田善介: 発癌性化学物質の新生児ハツカネズミ 1 回注射による白血病の誘発. II. 3, 4-Benzpyrene 誘発 RF 系ハツカネズミ白血病における dose response ならびにウィルス粒子の電子顕微鏡による証明. *医学と生物学*, **71**: 315~319, 1965.
- 26) 小田嶋成和, 山崎節子, 王輝章: N-Nitrosobutylurea による白ネズミ白血病の発生及びそれに由来する 3 系の移植系について. *日本癌学会総会記事 (第28回)*, **59**, 1969.
- 27) 横路謙次郎, 今村展隆, 山崎孝男, 川瀬晃: マウス及びラットにおける N-Nitrosobutylurea の白血病誘発について. *日本癌学会総会記事 (第28回)*, **60**, 1969.
- 28) Irino, S., Ota, Z., Sezaki, T., Suzuki, M. and Hiraki, K.: 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.
- 29) Kinoshita, R. and Tanaka, T.: Lymphoma in ICR mice treated with 4-Nitroquinoline N-Oxide (4-NQO). *Viruses, Nucleic acids and cancer*, pp. 571~574, Williams and Wilkins, Baltimore, 1963.
- 30) Toth, B.: Development of malignant lymphomas by cellfree filtrates prepared from a chemically induced mouse lymphoma. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **112**: 873~875, 1963.
- 31) 今村展隆, 中野美満子, 河村謙, 横路謙次郎: N-Nitrosobutylurea 誘発白血病の発生機序に関する研究 *日本癌学会総会記事 (第30回)*, **8**, 1971.
- 32) 小玉孝郎, 細川真澄男, 後藤田栄貴, 仙道富士郎, 小林博: N-Nitrosobutylurea 誘発ラット白血病の C 型粒子, *日本癌学会総会記事 (第30回)*, **46**, 1971.
- 33) ———: Virus particles in rat leukemias induced by N-Nitrosobutylurea. *Gann*, **63**: 261~264, 1972.
- 34) 松平康枝, 志佐端, 西塚泰章: マウス N-Nitrosobutylurea 白血病の系統差, 病理並びに染色体異常. *日本癌学会総会記事 (第30回)*, **8**, 1971.
- 35) 小林博, 細川真澄男, 後藤田栄貴, 小玉孝郎: N-Butyl-N-Nitrosobutylurea 連続経口投与による Wistar king Aptekman 系ラットの乳癌発生. *日本癌学会総会記事 (第29回)*, **54**, 1970.
- 36) 福西亮, 寺師慎一, 牟田光一郎, 浜田康彦, 浜田邦彦, 新坂真一, 佐藤正人, 森弘明: N-Nitrosobutylurea 頻回投与によるラット腫瘍発生. *日本癌学会総会記事 (第29回)*, **55**, 1970.
- 37) 天野重安: 再生不良性貧血の骨髓病変に就いて. *血液学討議会報告*, **7**: 332, 永井書店, 東京. 1954.
- 38) 喜多島康一, 品川晃二, 島崎孝一, 林信広: 前白血病状態を把握した 2 症例—とくにその骨髓組織培養所見の推移について. *内科*, **8**: 1173~1180, 1961.
- 39) 高橋功, 長尾忠美, 石崎稚信, 木下日出男, 島田明人, 喜多島康一: 再生不良性貧血様前白血病状態に関する臨床的研究. *臨床血液*, **12**: 61~67, 1971.
- 40) 喜多島康一: 再生不良性貧血様前白血病状態. *臨床血液*, **13**: 298~305, 1972.

**Studies on the induction and development of Lymphosarcoma
by N-Nitrosobutylurea in RF Mice.**

I. Histological and cytological observations

By

Tameyo TANZI

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

In order to study the carcinogenicity and its mechanism of N-Nitrosobutylurea (NBU), 10 week old RF mice was administered with 0.025% NBU water solution as drinking water every day.

1. Thymoma was induced after an average latency of 93 days and average rate of the tumor induction was 88.6%. Both sexes were equally susceptible.

2. Histologically thymoma was lymphosarcoma and other lymphatic organs also showed lymphosarcoma. However leukemic signs were not found in the peripheral blood and by clinical tissue culture.

3. Leukemia virus was not found in the electron microscopic observation and cell free transmission of leukemia was unsuccessful.

丹治論文附図



写真1. 高度に腫大した胸腺腫, 中等度に腫大した肝, 脾



写真2. 胸腔内を殆んど占める胸腺腫

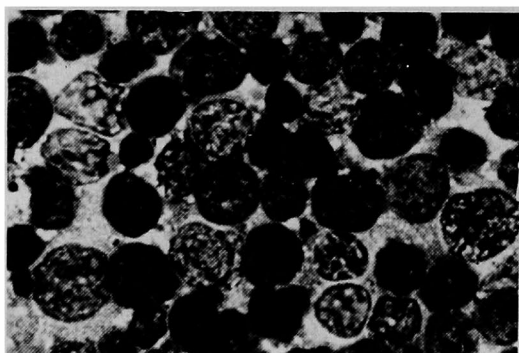


写真3. 胸腺スタンプ像×1,000

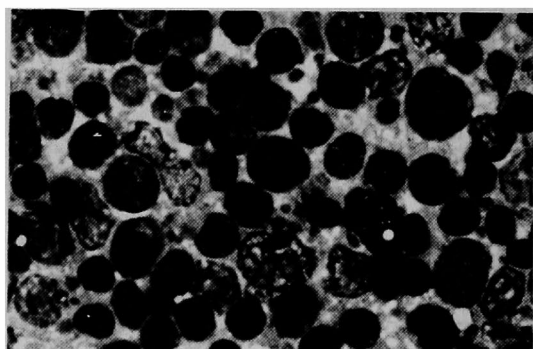


写真4. 淋巴腺スタンプ像×1,000

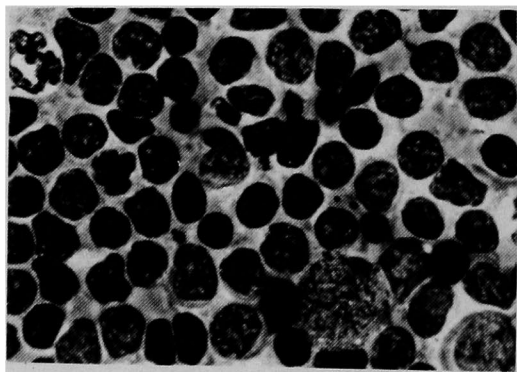


写真5. 脾スタンプ像×1,000

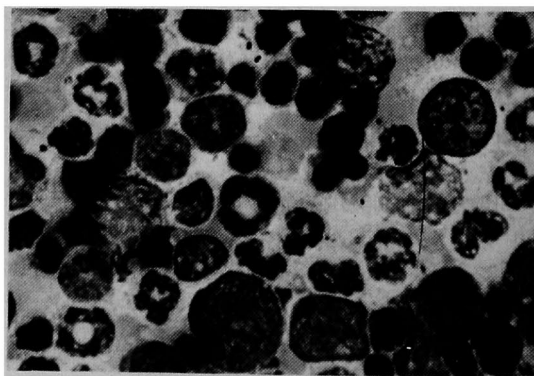


写真6. 骨髓スタンプ像×1,000

丹治論文附図

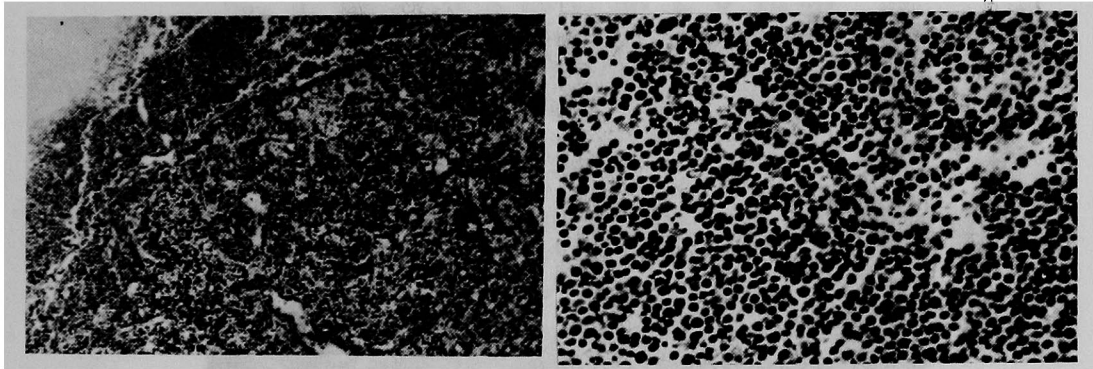


写真7. 胸腺淋巴肉腫組織像×100

写真8. 胸腺淋巴肉腫組織像×400

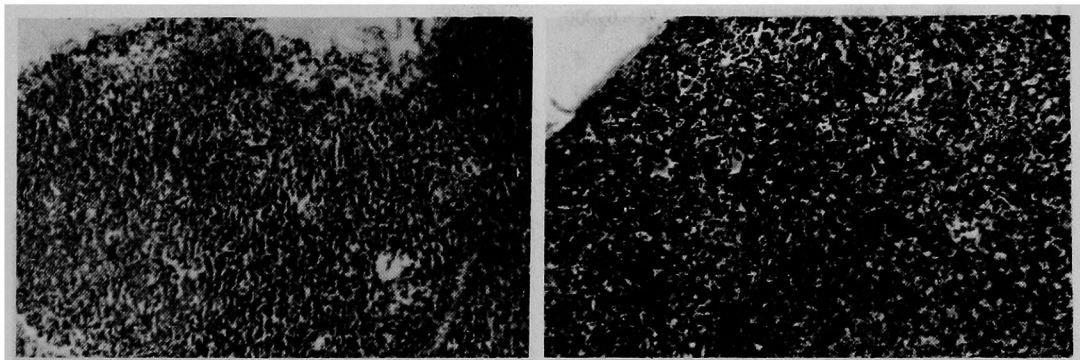


写真9. 淋巴腺淋巴肉腫組織像×100

写真10. 脾淋巴肉腫組織像×100



写真11. 肝への腫瘍細胞浸潤×100

丹治論文附図

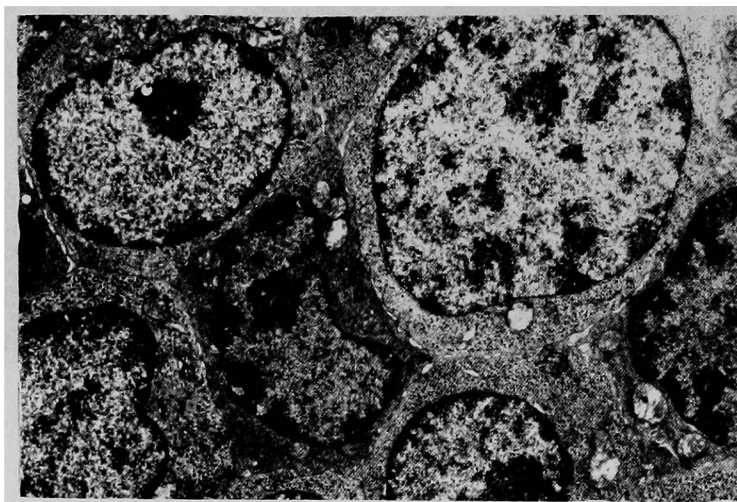
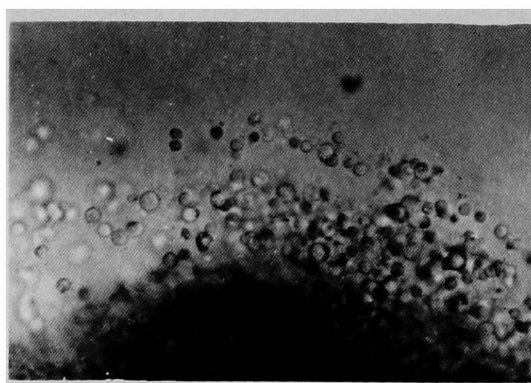
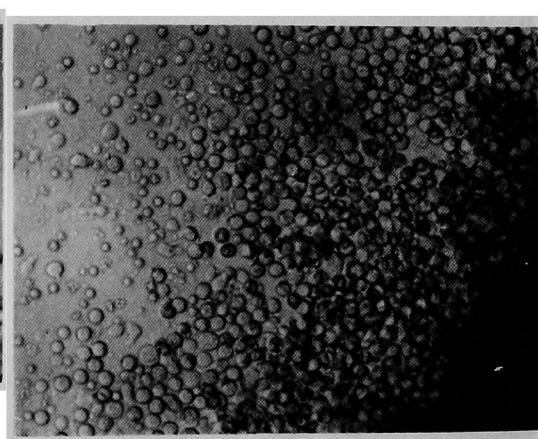


写真12. 胸腺淋巴肉腫電顕像×6,000

写真13. 低形成増生様式を示す胸腺の
臨床組織培養像写真14. 正常増生様式を示す骨髄の
臨床組織培養像