

血行性腫瘍転移に関する実験的研究

—ラット腹水肝癌尾静脈内移植による—

長崎大学医学部産科婦人科学教室（主任 三谷 靖教授）

東北大学抗酸菌病研究所癌研究部（主任 佐藤春郎教授）

宮 副 亮 典

概要 実験的に腫瘍細胞を血行性に散布させ、血行性転移の機序を解明しようとする試みは Levin 及び Sittenfield¹⁾ 以来数多い。最近移植性腫瘍を用いて実験を行う場合、移植する腫瘍と移植される動物の両者について充分吟味された材料を用いることの重要性が強調されているが、60数系のラット腹水肝癌は形態学的性質をはじめとして、生物学的性質の調査が充分なされ、また Donryu-rat も遺伝的に比較的均一なことが知られている。共通母細胞に起源する一連の腹水肝癌を Donryu-rat の尾静脈内に注入移植し、各腫瘍系の全身諸臓器への転移形成能を比較して、血行性転移に関する基礎的知見を得た。（1）尾静脈内に注入された腫瘍細胞が肺に定着して増殖するか否かは、腫瘍の形態学的性質よりもむしろ細胞自身の有する virulence の強さが関連するものと考えられる。（2）肺下流の諸臓器への転移は、概して肺腫瘍増殖巣からの腫瘍細胞の遊離性及び肺血管通過性が容易と考えられる単離の腫瘍細胞の多い系に高い。（3）臓器別に転移頻度を比較すると、肺を除けばリンパ節（縫隔洞、後腹膜、腸間膜）、副腎、肝臓、卵巣に高く、胃、小腸、大脳に低い。睾丸には1例の転移も認められなかつた。（4）肺における腫瘍の初期増殖部位は、主として肺毛細管部或いは気管支や比較的大きな血管周囲の間質内に認められた。これ等の増殖部位と腫瘍細胞の性質との関連性を検討した。

緒 言

悪性腫瘍の転移形式の1つとして重視される血行性転移に関しては、古くよりいろいろな知見もあり、実験的な仕事もなされてきた^{1)~31)}。最近転移に関して系統的検索の例が多くなるにつれて、移植性腫瘍を用いて実験を行なう場合、最も基礎となる重要なことは、その移植性を腫瘍細胞と移植される動物の両者について充分吟味された材料を用いることの重要性が強調されている²⁰⁾。ラット腹水肝癌各系は同一過程で樹立された肝臓起源の腹水腫瘍で、共通母細胞の腫瘍相互の比較研究には好適な材料である。これまでに移植率、移植された動物の生存日数、腫瘍細胞の形態学的性質、染色体構成、各種薬剤に対する耐性、酵素パターン……等について調査され、各系にはそれぞれ特長があり、差異の存在することが明らかにされてきた³²⁾³³⁾³⁵⁾。この様な一連の腹水肝癌を血行性に散布させて、各系の全身諸臓器における転移形成能を比較観察し、更に腫瘍増殖の動態を追求して血行性転移に関する基礎的知見を得ることが本研究の目的である。

実験材料並びに方法

腫瘍系：亜系を含むラット腹水肝癌33系（佐々木研究所所保有）を用いた。これ等の腫瘍は腹水型で増殖する時は、個々に遊離した単離の自由細胞並びに2コ、3コ、4コ、5~10コ、数十コ、数百コの細胞結合より成る大小種々の肝癌島を形成する。この様な単離の自由細胞並びに大小種々の肝癌島の腹水中に占める頻度は第1表に示すように各腫瘍系に特長的である。こゝで便宜上、腹水中における腫瘍細胞の73%以上を自由細胞が占めるものを自由細胞型腫瘍系、33%以下のものを島型腫瘍系とした。

実験動物：実験動物中央研究所産の生後7週前後の Donryu-rat (♂, ♀, 体重 100~120 g) を用いた。

実験方法：腫瘍を移植して7日前後になると、腫瘍細胞は腹腔内で増殖して殆んど純培養状態になる。この時期に硝子パイペットを腹腔内に穿刺して腹水を採取し、生理食塩水で稀釀、更に腹水の凝固を防ぐために少量のヘパリンを加えて作つた腫瘍細胞懸濁液の一部を赤血球算定の方式に準じて実測し、0.5~1.0ml に1000万コ前後の腫瘍細胞を含む様に稀釀調製した。この腫瘍細胞1000万コ前後を含む懸濁液をエーテル麻酔下に動物の尾

第1表 腹水肝癌：自由細胞と島の頻度

腫瘍系	自由細胞 %	肝癌島					
		細胞2コの島 %	細胞3コの島 %	細胞4コの島 %	細胞5~10コの島 %	細胞11コ以上 の島 %	
自由細胞型腫瘍系	AH 66F	100	0	0	0	0	0
	AH 13C	100	0	0	0	0	0
	AH 13R	100	0	0	0	0	0
	AH 13M	100	0	0	0	0	0
	AH 62F	99	1	0	0	0	0
	AH 210A	97	1	1	0	1	0
	AH 414	97	2	1	0	0	0
	AH 39	96	3	1	0	0	0
	AH 41C	94	2	1	1	2	0
	AH 225A	93	6	1	0	0	0
	AH 21	90	8	1	0	1	0
	AH 423	82	5	3	3	5	2
	AH 109A	79	5	2	1	6	7
	AH 127	75	10	4	6	2	3
島型腫瘍系	AH 272	73	9	3	2	6	7
	AH 131A	33	22	10	9	20	6
	AH 63	30	26	12	8	17	7
	AH 41B	26	16	10	9	31	8
	AH 62	23	7	3	1	15	51
	AH 34	22	16	9	6	21	26
	AH 44	20	8	5	3	34	30
	AH 41A	20	11	8	8	36	17
	AH 311	16	16	7	4	20	37
	AH 84A	15	8	3	2	7	65
	AH 150A	14	11	4	2	18	51
	AH 310	13	14	5	2	13	53
	AH 61B	10	39	11	7	16	17
	AH 49	9	8	4	2	17	60
	AH 122B	9	6	3	2	10	70
	AH 322	6	6	4	2	12	70
	AH 107B	5	8	2	2	10	73
	AH 99	4	6	1	1	13	75
	AH 108A	1	0	0	1	9	89

移植後4日目検査、腹水中の腫瘍細胞を自由細胞と島を単位として500コ数えそこでの頻度を示す。各系4頭、平均値。

静脈内に注入移植した。腫瘍を移植した動物を次のⅡ群に分けて観察した。

I. 死亡するまで観察し、腫瘍死率及び生存日数を検討、動物は剖検して全身諸臓器への転移形成の状態を肉眼的並びに組織学的に精査した。2カ月を経ても腫瘍死せぬ動物は屠殺後同様剖検した。本群に用いた腫瘍系は第1表に示した33系からAH 66Fを除いた32系である。

II. 移植直後から経日的に動物を屠殺して、肺及び他の諸臓器における腫瘍細胞の増殖の動態を組織学的に追求した。本群に用いた腫瘍系はAH 66F, AH 414, AH 225A, AH 63, AH 44, AH 311, AH 322の7系である。組織は formalin 固定後、H-E染色を施した。

実験成績

実験第Ⅰ群

第2表 各系腫瘍を尾静脈内移植せる動物の腫瘍死率及び生存日数

腫瘍系	腫瘍死率(%)	50%生存日数(最短-最长)
自由細胞型腫瘍系	AH 13C	10/10 (100) 6 (6-7)
	AH 13R	10/10 (100) 11 (9-12)
	AH 13M	10/10 (100) 7 (5-8)
	AH 62F	1/10 (10) 18
	AH 210A	9/10 (90) 12 (10-25)
	AH 414	6/9 (67) 25 (21-28)
	AH 39	5/9 (56) 15 (14-20)
	AH 41C	9/9 (100) 13 (7-20)
	AH 225A	10/10 (100) 16 (12-19)
	AH 21	10/10 (100) 18 (17-20)
	AH 423	5/10 (50) 17 (16-24)
	AH 109A	10/10 (100) 15 (11-19)
	AH 127	2/7 (29) 21 (19-23)
	AH 272	10/10 (100) 16 (12-18)
島型腫瘍系	AH 131A	5/10 (50) 24 (22-24)
	AH 63	10/10 (100) 14 (12-16)
	AH 41B	10/10 (100) 11 (10-15)
	AH 62	6/8 (75) 15 (11-30)
	AH 34	9/9 (100) 16 (13-19)
	AH 44	9/9 (100) 13 (7-18)
	AH 41A	9/9 (100) 14 (13-17)
	AH 311	9/9 (100) 11 (8-18)
	AH 84A	10/10 (100) 13 (11-16)
	AH 150A	1/4 (25) 14
	AH 310	6/10 (60) 24 (17-37)
	AH 61B	9/9 (100) 13 (11-19)
	AH 49	4/4 (100) 12 (12-14)
	AH 122B	0/9 (0) —
	AH 322	5/9 (56) 19 (18-25)
	AH 107B	9/10 (90) 16 (11-19)
	AH 99	0/10 (0) —
	AH 108A	0/10 (0) —

1) 腫瘍死率及び生存日数

32系の腹水肝癌を動物の尾静脈内に移植した時の腫瘍死率及び生存日数を第2表に示した。本群に用いた動物は各系それぞれ10頭宛、合計320頭であるが、腫瘍細胞懸濁液注入の際、尾静脈外に漏れ皮下に結節を形成したものや、早期事故死した27頭を除外したため、有効数は293頭で、このうち218頭(74.4%)が肺やその他の諸臓器に転移を形成して死亡した。自由細胞型腫瘍系群の腫瘍死率(79.9%)は島型腫瘍系群(69.8%)に比べ高

いといえるが、個々の腫瘍系について検討すると、自由細胞型腫瘍の9系(AH 13C, AH 13R, AH 13M, AH 41C, AH 225A, AH 21, AH 109A, AH 272, AH 210A)及び島型腫瘍の10系(AH 63, AH 41B, AH 34, AH 44, AH 41A, AH 311, AH 84A, AH 61B, AH 49, AH 107B)は腫瘍死率90~100%で高い。低いものは自由細胞型腫瘍系ではAH 62F(10%), AH 127(29%), AH 423(50%), AH 39(56%), AH 414(67%)の5系、島型腫瘍系ではAH 122B(0%), AH 99(0%), AH 108A(0%), AH 150A(25%), AH 181A(50%), AH 322(56%), AH 310(60%)の7系で、殆んどが大きな島型の腫瘍細胞から成るAH 122B, AH 99, AH 108Aの3系には腫瘍死したものが1例もなかつたことは注目されるが、腫瘍系全般についてみると、各系の自由細胞並びに大小種々の島型腫瘍細胞の占める頻度と腫瘍死率は必ずしも平行しないことがわかる。

腫瘍死した動物の生存日数は最も延命したAH 310の1例(37日生存)を除き、すべて5日から30日までに死亡した。同一系内で最も短命なものと延命したものとの開きは5日以内のもの11系、6~10日のもの11系、11~15日のもの3系、16~20日のもの2系で、大部分が10日以内で大幅な変動を示さず、正常経過で死亡した。50%生存日数で最も短い系はAH 13Cの6日、最も長いのはAH 414の25日である概して腫瘍死率の低い系に、やゝ生存日数が長い傾向を認めた。

2) 諸臓器における転移形成

腫瘍死を遂げた動物の肺、肝、心、大脳、腎、脾、副腎、胃、小腸、子宮、卵巣、睾丸、リンパ節(縦隔洞、腸間膜、後腹膜)等の諸臓器への転移の有無を検索した結果が第3表(1), (2)である。腫瘍死数218例のうち、一部共喰いや、腐敗のため組織標本になし得なかつた22例を除く、196例について組織学的検索をおこなつた。腫瘍死した動物の全例の肺に腫瘍増殖を認めるることは勿論であるが、肺下流域の諸臓器へは、概して単離の腫瘍細胞の多い系に転移頻度が高い傾向を認めた。

肺臓：肉眼的に結節性または瀰漫性の高度の腫瘍増殖を示す。組織学的には血管・気管支周囲間質内での増殖、肺胞壁毛細管部での瀰漫性或いは結節性の増殖、肺胞内での増殖、比較的大きな血管・気管支内での閉塞性の増殖が認められる。腫瘍死後における検索では、腫瘍増殖が高度であるため、上記のよういろいろな部位での増殖がある程度混在して認められる。

第3表(1) 各系腫瘍を尾静脈内移植せる動物の諸臓器における転移形成頻度

腫瘍系	検鏡動物数	肺	肝	心	大脳	腎	脾	副腎	胃
自由細胞型腫瘍系	AH 13C	10	10	8	5	10	10	10	3
	AH 13R	10	10	6	1	10	9	10	1
	AH 13M	8	8	8	0	8	8	8	2
	AH 62F	1	1	0	0	0	0	1	0
	AH 210A	9	9	2	1	3	3	9	0
	AH 414	6	6	2	0	0	1	3	0
	AH 39	2	2	1	0	1	1	1	1
	AH 41C	8	8	6	0	3	0	8	0
	AH 225A	9	9	2	0	0	0	1	1
	AH 21	6	6	4	0	0	4	0	6
	AH 423	5	5	0	0	0	0	1	0
	AH 109A	8	8	7	6	0	5	0	6
	AH 127	2	2	0	0	0	1	1	0
	AH 272	9	9	3	0	0	0	9	0
島型腫瘍系	AH 131A	4	4	2	0	0	0	3	0
	AH 63	9	9	2	0	0	1	0	2
	AH 41B	8	8	2	0	0	1	1	7
	AH 62	6	6	0	0	0	0	0	0
	AH 34	9	9	2	0	0	0	3	0
	AH 44	9	9	3	0	0	0	6	0
	AH 41A	9	9	6	0	0	0	7	0
	AH 311	6	6	0	0	1	0	2	0
	AH 84A	10	10	0	0	0	0	6	0
	AH 150A	1	1	0	0	0	0	0	0
	AH 310	6	6	1	0	0	1	0	0
	AH 61B	9	9	0	0	0	1	0	1
	AH 49	4	4	0	0	0	0	0	0
	AH 322	5	5	2	0	0	0	0	0
	AH 107B	8	8	2	0	0	0	1	0
計 (%)		196 (100.0)	196 (43.4)	85 (19.9)	39 (4.1)	8 (24.5)	48 (17.3)	34 (57.1)	8 (4.1)

肝臓：全腫瘍系を総括すると、196例中85例43.4%に転移形成がみられ、肉眼的に大小種々の灰白色の腫瘍結節を形成するものもあるが、大部分は組織検索により、はじめて転移巣を確認し得た。AH13C, AH13R, AH13M, AH 210Aは汎く Glison 鞘及び中心静脈周囲に、AH13C, AH13Mは更に Sinusoid 内へも瀰漫性増殖が認められる。この他の系では腫瘍増殖も軽度で、肝実質内に結節を形成する例が多い。

大脳：実質及び脳室脈絡叢を検索した。全腫瘍系の転移頻度は196例中8例4.1%で極めて低い。転移を認めた8例はAH13Cの5例、AH13R, AH 210A, AH 311にそれぞれ1例で、前3系はすべて脈絡叢へ瀰漫性

に、AH 311の1例は脳実質血管周囲に孤立性の小結節として認められた。

心臓：全腫瘍系の転移頻度は196例中39例19.9%で稀なものではないが、転移を認めたものはすべて自由細胞型腫瘍系である。AH 414, AH13Rの数例には心筋線維を離断して高度の腫瘍増殖を示すものもみられたが、殆んどの例では心筋線維間質内で索状の増殖を示す。

腎臓：全腫瘍系の転移頻度は196例中48例24.5%で比較的高く、転移を認めた48例中44例91.7%が自由細胞型腫瘍系で、4例8.3%が島型腫瘍系である。大部分が細尿管間質部における浸潤性増殖で、糸球体毛細管には腫瘍細胞が栓塞している所見にはしばしば遭遇するが、明

第3表(2)

腫瘍系	検鏡動物数	小腸	子宮	卵巣	睾丸	リンパ節			
						縦隔洞	腸間膜	後腹膜	
自由細胞型腫瘍系	AH 13C	10	1	8	7	—	10	9	7
	AH 13R	10	6	4	9	—	10	10	10
	AH 13M	8	4	—	—	0	8	6	6
	AH 62F	1	0	0	0	—	1	1	1
	AH 210A	9	0	2	5	—	8	5	6
	AH 414	6	0	0	2	—	6	4	4
	AH 39	2	0	0	0	—	2	2	2
	AH 41C	8	0	—	—	0	8	6	8
	AH 225A	9	0	1	3	—	6	2	6
	AH 21	6	0	0	3	—	6	0	1
	AH 423	5	0	0	1	—	5	0	5
	AH 109A	8	0	4	6	—	8	6	8
	AH 127	2	0	—	—	0	2	0	2
	AH 272	9	0	0	5	—	9	2	1
島型腫瘍系	AH 131A	4	0	0	1	—	4	0	1
	AH 63	9	0	—	—	0	9	3	6
	AH 41B	8	0	—	—	0	8	2	3
	AH 62	6	0	0	0	—	5	2	2
	AH 34	9	0	—	—	0	9	3	3
	AH 44	9	0	—	—	0	8	3	2
	AH 41A	9	0	0	7	—	9	3	1
	AH 311	6	0	0	0	—	6	0	0
	AH 84A	10	0	0	0	—	9	1	1
	AH 150A	1	0	0	0	—	0	0	0
	AH 310	6	0	0	0	—	5	2	3
	AH 61B	9	0	0	2	—	7	1	4
	AH 49	4	0	0	0	—	2	0	0
	AH 322	5	0	—	—	0	3	0	1
	AH 107B	8	0	—	—	0	3	0	0
計(%)		196	11 (5.6)	19 (14.6)	51 (39.2)	0 (0.0)	176 (89.8)	73 (37.2)	94 (48.0)

らかに増殖を示すものは稀である。特異的な所見として Bowman 腔内に島状の腫瘍細胞が遊離性に増殖している例もあつた (AH63)。

脾臓: 捉癌動物の脾は転移の有無に関係なく肥大、黒色を帯び弾力性を失う。全腫瘍系の転移頻度は 196例中 34例 17.3% で、転移例中 33例は自由細胞型腫瘍系で、なかでも AH13C, AH13R, AH13M の 3 系に高率である。組織学的には脾臓細胞の増生と充血が著明で、正常の構造は失われ、赤色臓に比較的遊離の状態で腫瘍細胞を認める。

副腎: 全腫瘍系の転移頻度は 196例中 112例 57.1% で

肺、縦隔洞リンパ節に次いで高いことは注目される。島型腫瘍系でもかなり頻繁に転移を形成する。肉眼的には正常の 2 ~ 5 倍に肥大し、表面は顆粒状で出血性傾向が強い。臓質への転移は稀で、多くは皮質内で結節性または浸潤性に、時には Sinusoid 内にて索状の増殖を示す。

胃、小腸: 自由細胞型腫瘍の数系に転移を認めたに過ぎず、全腫瘍系の転移頻度は胃 196例中 8 例 4.1%, 小腸 11 例 5.6% で、睾丸並びに大脳に次いで転移を被り難い。腫瘍増殖は粘膜固有層に認められる。

子宮: 全腫瘍系についての頻度は 130 例中 19 例 14.6%

て、自由細胞型腫瘍系にのみみられ、粘膜固有層に腫瘍増殖を認める。

性腺：性腺への転移は著明な性差を認める。♀の動物を使用した20系、130例中51例39.2%に卵巣転移がみられるのに反し、睾丸へは♂の動物を使用した9系、66例中1例の転移形成も認められなかつた。転移卵巣の多くは出血性で、両側性に小豆ないし豌豆大に腫張し、腫瘍増殖は皮質の間質部或いは黄体内、時に髓質部に認められる。

リンパ節（縦隔洞、腸間膜、後腹膜）：縦隔洞リンパ節の全腫瘍系の転移頻度は196例中176例89.9%で、肺領域にあるため最も高頻度なのは当然として、後腹膜リンパ節94例48.0%，次いで腸間膜リンパ節73例37.2%と遠隔リンパ節にも比較的の頻度が高い。辺縫洞に腫瘍細胞の浸潤が始まつているものから、正常のリンパ節の構造は破壊され、腫瘍細胞で充満する高度のものまで腫瘍増殖の程度は種々である。

2カ月経過しても腫瘍死しなかつた75頭を屠殺後検索した結果、AH 131Aの1例に反応細胞の浸潤に取囲まれた限局性の小腫瘍結節を肺気管支・血管周囲間質内に認めた他は、腫瘍細胞の存在を疑わしめるものはなかつた。一般にこれ等の動物の肺胞壁は結合織の増生と反応細胞の浸潤のために肥厚性変化を呈する。

実験第Ⅱ群

腫瘍細胞を動物の尾静脈内に注入移植すると、肺及び他の諸臓器に血行性の転移が起ることは前述の通りである。そこで血流によつて運ばれた腫瘍細胞が、肺及び他の諸臓器のどの様な部位に定着して、どの様な経過で増殖するかを7系の腫瘍を用いて観察した。動物は経日的に各系3頭宛、合計231頭を屠殺後剖検、組織学的に精査した。以下7系の腫瘍増殖経過の概略を述べる。

AH66F：すべてが個々に遊離した腫瘍細胞から成る系である。移植直後：腫瘍細胞は肺胞壁毛細管内に1箇ずつ遊離の状態で栓塞するが、やゝ肺辺縫部に栓塞密度が高い。栓塞部の毛細血管は軽度に拡張、充血性変化を呈する。他の諸臓器には腫瘍細胞は認め難い。24時間後：肺毛細管内の腫瘍細胞は殆んど消失して、残存せるものの多くは核の染色性が悪く、細胞質の境界は不鮮明で、細胞は膨化して大型となり退行像を示す。肺胞壁は組織球、リンパ球、好中球等の反応細胞の浸潤と結合織の増生のため肥厚する。48時間後：肺胞壁の反応性変化は幾分軽減するが、腫瘍細胞の確認は殆んど困難となる。3日後：肺の血管・気管支周囲間質に有糸分裂を伴

う腫瘍細胞が散在性に発現してくる。特に間質結合織の組織間隙に好発する傾向を認めた。肺胞壁毛細管部には腫瘍細胞は認め難い。肝—Sinusoid内、脾—赤色髓、副腎—皮質束状帶のSinusoid内、小腸及び子宮—粘膜固有層、卵巣—黄体内にそれぞれ栓塞的に初期腫瘍増殖を認める。4日後：肺—血管・気管支周囲間質内の腫瘍細胞は旺盛な増殖を示すようになる（第1図）。腎—細尿管間質に浸潤性増殖が認められるが、糸球体毛細管内の腫瘍細胞の多くは変性過程にある。縦隔洞リンパ節—辺縫洞への浸潤。5～6日後：肺胞壁毛細管部にも瀰漫性に浸潤が及んでくる。心一心筋線維間質、肝—Glison鞘での増殖が認められる。7～8日後：腫瘍死前の末期で、肺の腫瘍増殖は著しく高度となり、肺胞内に貯溜した滲出液中に腫瘍細胞集団が浮遊性に、或いは比較的大きな血管ないし気管支内で閉塞性に増殖している像等も認められる。

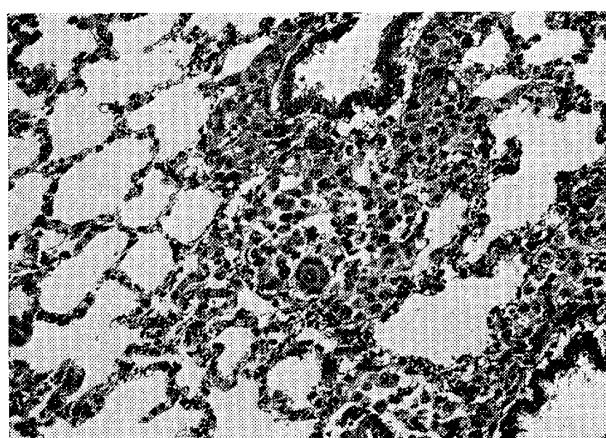
AH 225A：殆んどが単離の腫瘍細胞から成る系である。肺及び他の諸臓器における腫瘍増殖の部位は、ほぼAH66Fの場合と類似するが、移植直後の肺毛細管内の腫瘍細胞の栓塞密度が比較的高く、増殖経過が緩慢で動物は15～17日目頃死亡する。肺以外の諸臓器への転移形成の時期も遅延する。

AH63、AH44：中小の島型腫瘍細胞が比較的多い系である。移植直後：単離の腫瘍細胞は肺毛細管内、小さな島型の腫瘍細胞は末梢血管或いは末梢血管から毛細管への分岐部に、大きなものは小血管内に栓塞している。毛細管の充血、拡張は比較的強い。24時間後：肺組織の反応性変化は著しく、末梢血管や小血管に栓塞していた腫瘍細胞は殆んど消失してしまい、毛細管内に遊離の腫瘍細胞が散在しているのが認められる。48時間後：腫瘍細胞の確認は困難になる。3日後：腫瘍細胞の増殖が認められるようになるが、AH66F、AH 225Aの場合と部位を異にし、血管・気管支周囲間質でなく、肥厚した肺胞壁毛細管部に、散在性に腫瘍小結節を形成して出現してくる。4日以後：毛細管部の腫瘍結節は多発すると共に漸次増大し（第2図）、隣接する正常の肺胞壁を圧排しながら増殖を続けるが、肺胞内に脱落して増殖するものもみられる。次第に増殖が高度となり、10日経過する頃には血管・気管支周囲間質にも多少浸潤が及んでくる。他臓へは縦隔洞リンパ節—移植後5日目に辺縫洞、卵巣—6日目に黄体内、腎—7日目に細尿管間質に腫瘍細胞を認めるようになる。肝—6日目に実質内に結節を形成してくるが、これはSinusoid内に栓塞した腫瘍細胞か

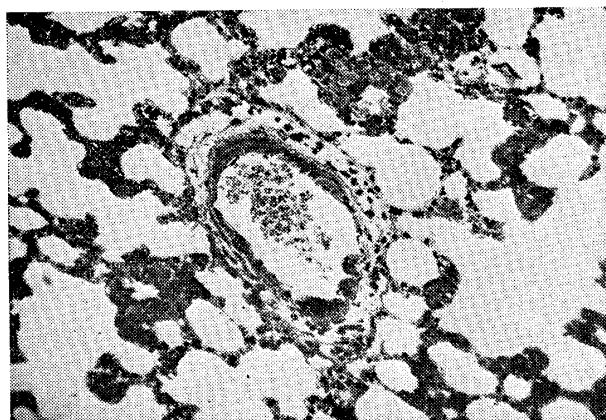
ら増殖するものと考えられ、Glison 鞘への浸潤傾向は少ないと。

AH 311, AH 322: 大きな島型腫瘍細胞が比較的多い系である。移植直後: 肺の小血管或いは比較的大きな血管に栓塞する腫瘍細胞が多い。毛細管の充血、拡張は高度で、所によつては助膜縁を底辺とし、肺門附近を頂点とした三角形の梗塞を形成する。比較的大きな血管に栓塞していた島型の腫瘍細胞は殆んど消失するが、時には血管腔に形成された血栓中に変性解離した腫瘍細胞を認めることもある。一部の毛細管は循環障害のため拡張破綻し、反応細胞や赤血球の遊出を伴なう肺胞内の滲出液中に腫瘍細胞を認めることがある。精査すると、拡張肥厚した毛細管内に解離した腫瘍細胞を認める。48時間後: 肺組織の反応性変化は幾分軽減するが、腫瘍細胞の確認は困難となる。3日以後: 毛細管部に小腫瘍結節が発現し、その後はAH 63, AH 44の場合とほぼ同様な

第1図 AH 66F; 尾静脈内移植後4日目。気管支周囲間質内における旺盛な腫瘍増殖。浸潤型。



第2図 AH 44; 尾静脈内移植後4日目。肺胞壁毛細管部における結節性の腫瘍増殖。結節型。



経過を辿つて増殖するが、周囲への浸潤傾向は少ない。小血管に栓塞した腫瘍細胞が血管壁を破壊しながら増殖する像も認め難い。縦隔洞リンパ節、副腎に転移を認めたに過ぎない。

AH 414: 殆んどが単離の腫瘍細胞から成る系で、移植後2日まではAH 225Aの場合とほぼ同様に経過するが、3~4日経過する頃に腫瘍細胞の増殖が肺毛細管部と血管・気管支周囲間質部にほぼ同時に認められる。間質では比較的小さな血管周囲に認めることが多く、その後の増殖は毛細管部より間質の方が優勢で、動物は23日目頃に腫瘍死する。

第4表 各系腫瘍を尾静脈内移植せる動物の肺における腫瘍増殖型

腫瘍系 増殖型	自由細胞型腫瘍系	島型腫瘍系
浸潤型	AH 66F, AH 13C, AH 13R, AH 13M, AH 62F, AH 39, AH 41C, AH 225A, AH 21, AH 423, AH 109A, AH 127	
結節型	AH 272	AH 62, AH 44, AH 63, AH 34, AH 311, AH 150A, AH 310, AH 322, AH 107B
混合型	AH 210A, AH 414	AH 131A, AH 41B, AH 44, AH 84A, AH 61B, AH 49

以上の結果より、肺のどのような部位に初期増殖が起つてくるかで、腫瘍増殖の型を次の様に分類出来る。第1に、主に血管・気管支周囲間質内に浸潤増殖する浸潤型。第2は肺胞壁毛細管部で結節性に増殖する結節型。第3は両者の増殖を同時に示す混合型である。高度の腫瘍増殖を示す末期像から、3型に分類することは、種々の増殖が多少とも組み合はざつて存在するので比較的困難であるが、一応上記の基準に従つて実験第1群の29系にAH 66Fを加えた30系の肺における増殖型を分類したのが第4表である。浸潤型増殖を示すものは自由細胞型腫瘍系で、結節型は島型の腫瘍であるが、島型・自由細胞型両腫瘍系のなかには混合型増殖を示すものもみられる。

考 案

動物の自然発生癌で転移を高率に起させることは困難なので²¹⁾、実験的に転移の状態を作るために、腫瘍細胞を動物の動脈や、心臓等に注入移植すると肺やその他

の部位に腫瘍増殖が起つてくる。この方法で、血行性転移の機序を解明しようとする試みは多いが¹⁾³⁾⁴⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾¹³⁾¹⁴⁾⁴⁾⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²⁶⁾、共通母細胞に起源する腫瘍相互の比較研究は少ない¹⁴⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。著者は多数の系統のラット腹水肝癌を用いて比較観察をおこなつた。腫瘍移植の成立に関する要因は大きく2つ、腫瘍細胞側の要因と、移植される動物側のそれに分けられるといわれ²⁰⁾、従つて腫瘍細胞側の要因を解明するためには、宿主側の影響をなるべく小さくすることが要求され、個体差の変動の小さい動物を用いることが望まれる。Donryu-rat は既に実験動物中央研究所において兄弟交配20代以上を経て量産された系統で、かなり遺伝的に均一なものであることが知られている³⁴⁾。この Donryu-rat の腹腔内に腹水肝癌の各系を移植すると、殆んど90%以上移植が成立して動物は腫瘍死する³⁵⁾。ほぼ同数の腫瘍細胞を尾静脈内に移植した場合、腫瘍細胞はまず肺の血管系に抑留されるので、動物は肺に高度の腫瘍増殖を伴ない腫瘍死するが、腫瘍系によつては転移を形成し難いものがみられる。腹水肝癌各系の腫瘍細胞の形態学的性質と肺転移形成能との間に関連があるかどうかを検討してみると、全例転移を認めないAH 122B, AH 99, AH 108Aの3系は大部分細胞数10⁵以上の大島型の腫瘍細胞から成るため、肺毛細管に栓塞するものより、小血管や比較的大きな血管に栓塞する腫瘍細胞の数が多いと考えられる。一般に比較的大きな血管に栓塞したものより、毛細血管や末梢血管に栓塞したものの方が生存並びに増殖が容易であるといわれるが⁷⁾¹⁰⁾²²⁾²³⁾、同じく大きな島型の腫瘍細胞から成るAH 107B, AH 49は高率に肺転移を形成して腫瘍死する。一方、AH 62F, AH 127は単離の腫瘍細胞が多い系で、殆んど毛細血管に栓塞すると思われるが、転移形成頻度は極めて低い。従つて、毛細血管に栓塞する腫瘍細胞数と肺転移形成頻度とは必ずしも平行関係にないといえる。吉田は腹水肝癌各系における観察事実から、各系の腫瘍細胞はそれぞれ自己個有の virulence を有すると述べ³²⁾、宿主を殺すまでの時間が短い程癌の virulence が高いと表現しているが、本実験にみられた結果からも、概して腫瘍死率の低い系に生存日数が長い傾向を認めた。腫瘍細胞が肺に定着して増殖するか否かの要因として、腫瘍の形態学的性質で規定される栓塞部位よりも腫瘍細胞自身の有する virulence の強さがまず関連するものと考えられる。

肺下流域の諸臓器への転移は、一般に肺腫瘍増殖巣からの二次転移であると考えられる。癌細胞の局所の浸潤性—一流血中への癌細胞の出現—転移形成が癌細胞相互の結合性の消失に基づいていることは McMutcheon²⁴⁾ や

Coman²⁵⁾ 等の示す所である。従つて腫瘍細胞相互の結合性の弱い単離の腫瘍細胞の多い系に肺下流域の諸臓器の転移頻度が高いことは納得出来る。腫瘍細胞が肺の血管網を通過する可能性も認められ⁸⁾¹¹⁾¹⁹⁾²⁶⁾³⁰⁾、著者の実験結果からも、AH 66F を移植した場合、肺と同時期に肺下流域の諸臓器においても腫瘍増殖を認めることから、即時肺を通過した腫瘍細胞の一部が臓器に到達して増殖することを示唆している。島型腫瘍細胞は肺腫瘍増殖巣からの解離の度合が低いということに、肺血管通過性が困難と予想され、従つて島型の腫瘍系は肺下流域の諸臓器に到達する腫瘍細胞が少ないと考えられる。

一方、29系の腹水肝癌の転移頻度を臓器相互間で比較検討すると著明な臓器差を認める。腫瘍系全般について概観すると、胃、小腸、大脳の転移頻度は低く、睾丸には1例の転移も認められなかつた。これに反し、肺は例外としてリンパ節、副腎、肝、卵巣の転移頻度は高く、単離の腫瘍細胞が多い系は勿論、島型の腫瘍細胞の多い系も比較的頻繁に転移を形成する。人の剖検例でも、血行性転移の好発する臓器と稀なものがみられ、この様な転移部位の特異性に関して、Walther²²⁾ 及び Ewing²⁷⁾ は臓器における血行動態の機械的関係が重要な要因であるとした。一般に特定の腫瘍が特定の臓器に、ある種の親和性を有することも知られている。これを Schmähl 及び Riesenber¹²⁾ は tumor cell affinity, Paget²⁸⁾ 及び Willis²⁹⁾ は fertile soil, Sugarbaker⁴⁾ は organ selectivity, Druckrey²⁹⁾ は metastasierung-muster, 佐藤³⁰⁾ は臓器許容性と呼んでいる。

肺における初期腫瘍増殖部位

肺に定着した腫瘍細胞の増殖経過を観察してみると、まず静脈内に注入された腫瘍細胞は肺の毛細血管、末梢血管、小血管に栓塞するが、48時間経過する頃までは、これら栓塞腫瘍細胞は変性したり、一部大循環に流入するために殆んど消失してしまう。流血中の腫瘍細胞の多くは死滅するといわれ²⁾⁹⁾¹³⁾¹⁶⁾、剖検上しばしば見出される栓塞腫瘍細胞は真の転移でないともいわれる³¹⁾²³⁾。その後、生き残った少数の腫瘍細胞が増殖するものと考えられるが¹⁶⁾、肺における腫瘍増殖の初期の部位としては、肺胞壁毛細管部で結節性に増殖するものと、比較的大きな血管や気管支周囲間質内に浸潤性に増殖するものとがみられた。前者を結節型、後者を浸潤型と呼んだが、なかには両者の増殖を同時に示すものがあり、これを混合型とした。浸潤型増殖の機序は、まず血管・気管支周囲間質内に腫瘍増殖が認められ、この時期に遅れて領域リンパ節及び肺胞壁毛細管部に増殖を認めるところから、川島¹⁵⁾ がマウス腹水肝癌で観察した所見から指

摘した様にリンパ節や毛細管部に腫瘍増殖が起り、これから逆行性に肺内リンパ腔を通じて間質に拡がつて来たとは考え難く、毛細血管に到達した腫瘍細胞は何らかの機会に毛細血管壁を通過して、血管外移動を行ない血管・気管支周囲間質に達して増殖したと考えれば納得がいく。腫瘍細胞がアメーバ様運動を営むことは古くより認められ³⁶⁾、組織培養の発達によつて知見の高められた分野で³⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾ラット腹水肝癌における観察事実⁴⁰⁾からも腫瘍細胞が自己の有する運動性で血管外運動を行つてもいいのではないかとの考えを抱かしめる。自由細胞型の腫瘍系は浸潤型増殖を示すものが多いということは、単離の腫瘍細胞の運動性が大きいことを示唆している。共通母細胞に起源する腫瘍でありながら、この様に転移の様相が異なるということは、各種癌系ひいては腫瘍細胞自身の有する生物学的特性の差異に基づくものであると考えられる。

結語

共通母細胞に起源し、形態学的性質をはじめとして種々生物学的に異なる性質を有する一連のラット腹水肝癌を用い、ほぼ同数の腫瘍細胞を Donryu-rat の尾静脈内に注入移植し、腫瘍死後動物を剖検、肉眼的並びに組織学的に全身諸臓器への転移形成の状態を比較観察した。一方、血行性転移に関する機序究明の一端として、腫瘍移植後、経日的に動物を屠殺して肺及びその他の諸臓器における腫瘍増殖の動態を追求して次の結果を得た。

1. 動物の腫瘍死率、即ち肺転移形成率と腹水肝癌各系の腫瘍細胞の形態学的性質との間に、特に関連性は見出されなかつた。肺に定着した腫瘍細胞が増殖するか否かは、腫瘍細胞自身の有する virulence の強さが、まず第一に関連する要因と考えられる。

2. 腫瘍死した動物の全例の肺に高度の腫瘍増殖を認めた。肺下流域の諸臓器における転移頻度は、概して単離の腫瘍細胞の多い系に高く、島型の腫瘍細胞の多い系に低い。このことは肺腫瘍増殖巣からの腫瘍細胞の遊離性とか肺血管通過性の難易に基づくものであろう。

3. 腫瘍系全般の諸臓器における転移頻度は肺 100%, 縦隔洞リンパ節 89.8%, 副腎 57.1%, 後腹膜リンパ節 48.0%, 肝臓 43.4%, 卵巣 39.2%, 腸間膜リンパ節 37.2%, 腎臓 24.5%, 心臓 19.9%, 脾臓 17.3%, 子宮 14.6%, 小腸 5.6%, 胃, 大脳 4.1%, 睾丸 0% の順であつた。

4. 肺における初期腫瘍増殖の部位によつて、主に血管・気管支周囲間質内に浸潤増殖する浸潤型、肺胞壁毛細管部で結節性に増殖する結節型、両者の増殖が同時にみられる混合型に分類し、各腫瘍系の腫瘍細胞の性質との関連において検討した。浸潤型増殖の機序は腫瘍細胞

の血管外移動によるものと推察される。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜つた恩師三谷教授並びに東北大学抗酸菌病研究所癌研究部佐藤春郎教授に深謝し、実験に際し終始御助言を頂いた佐々木研究所佐藤博博士、井坂英彦博士に感謝致します。本研究は日本学術振興会流動研究員として佐々木研究所にて行いました。研究の機会を与えられた佐々木研究所吉田富三所長に厚く御礼申し上げます。本論文の要旨は第23回、第24回癌学会総会にて発表しました。

文 献

- 1) Levin, I., Sittenfield, M.J.: J. Exper. Med., 14, 148, 1911. —2) Takahashi, M.: J. Path. Bact., 20, 1, 1915. —3) Kansaki, K.: Gann, 44, 445, 1953.
- 4) Sugarbaker, E.D.: Cancer, 5, 606, 1952. —5) De Long, R.P., Coman, D.R.: Cancer Res., 10, 513, 1950. —6) Schmähl, D.: Dtsch. med. Wschr., 86, 607, 1961. —7) Coman, D.R., et al.: Cancer Res., 11, 648, 1951. —8) Zeidmann, I., Buss, J.M.: Cancer Res., 12, 731, 1952. —9) Iwasaki, T.: J. Path. Bact., 20, 85, 1915. —10) Saphir, O.: Am J. Path., 23, 245, 1947. —11) Lawrence, E.A., et al.: J. Thorac. Surg., S. Louis, 26, 233, 1953.
- 12) Schmähl, D., Riesenbergs, T.: Z. Krebsforsch., 62, 456, 1958. —13) Warren, S., Gates, O.: Am. J. Cancer, 27, 485, 1936. —14) 滝田仁: 東北医誌, 65, 384, 1962. —15) 川島芳子: 福島医誌, 10, 433, 1960. —16) 宗像秀夫: 福島医誌, 11, 1281, 1961. —17) 鈴木磨郎他: 日癌会記事, XX II, 266, 1963. —18) Yamada, T.: Bullt. Tokyo Med. Dent. University, 9, 483, 1962. —19) 中村久也他: 最新医学, 20, 1012, 1965. —20) 佐藤春郎: 長崎医誌, 38, 460, 1963. —21) Duham, L.J., Sterwart, H.L.: J. Nat. Cancer Inst., 13, 1299, 1953. —22) Walther, H.E.: Krebsmetastasen, Basel, Benno Schwabe, 1948. —23) Willis, R.A.: The spread of tumors in the human body, London, 1952. —24) McMurchie, M., et al.: Cancer 1, 460, 1948. —25) Coman, D.R.: Cancer Res., 13, 397, 1953. —26) Prinzmetal, M., et al.: Am. J. Physiol., 152, 48, 1948. —27) Ewing, J.: Neoplastic disease, Philadelphia & London, Sounders Co., 1928. —28) Paget, S.: Lancet, 1, 571, 1889. —29) Druckrey, H., et al.: Z. Krebsforsch., 68, 28, 1959. —30) Sato, H.: Acta Path. Jap., 9, Suppl., 685, 1959. —31) Goldman, E.E.: Beitr. Klin. Chir., 18, 595, 1897. —32) 吉田富三: 東京医誌, 68, 717, 1960. —33) 佐藤春郎他: 最新医学, 20, 971, 1965. —34) 石館基: 日癌会記事, XX III 200, 1964. —35) 小田島成和: 長崎医誌, 38, 428, 1963. —36) Virchow, R.: Virchows Arch. f. path Anat., 28, 237, 1863. —37) Carrel, A., Burrows, M.T.: J. Exper. Med., 13, 571, 1911. —38) Cox, L.B., Cranage, M.L.: J. Path. & Bact., 45, 477, 1937. —39) Hanes, F.M., Lambert, R.R.: Virchows Arch. f. path. Anat., 209, 12, 1912. —40) Hiroto, I.: Cancer Res., 18, 1345, 1958.

(特別掲載 No. 2017 昭42・1・16受付)