

# 学術情報センター電子図書館サービス

日本産科婦人科学会雑誌 ACTA OBST GYNAEC JPN Vol. 34, No. 5, pp. 594—598, 1982 (昭57, 5月)

## 妊娠ラットを用いた yolk sac tumor の誘発実験

東京慈恵会医科大学産科婦人科学教室 (主任: 細川 勉教授)

伊藤 治英 関根 達征 田中 忠夫  
小室 順義 平形 善美 宮崎 敬子  
渡辺 博 細川 勉

### Experimental Induction of Yolk Sac Tumor in Rat

Haruhide ITO, Tatsumasa SEKINE, Tadao TANAKA, Nobuyoshi KOMURO,  
Yoshimi HIRAKATA, Keiko MIYAZAKI, Hiroshi WATANABE  
and Tsutomu HOSOKAWA

*Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University School of Medicine, Tokyo  
(Director: Prof. Tsutomu Hosokawa)*

**概要** 人に発生する yolk sac tumor は胚細胞由来の腫瘍とされているが、その発生に関して未だ不明な点が少ない。そこで従来より行なわれている方法と異なり、ラットの fetal membrane を直接発癌剤で処理することにより yolk sac tumor を誘発し、人の実験モデルを作製することを目的とした。

すなわち、妊娠10日目のラットを開腹し、子宮に切開を加えて fetal membrane を子宮壁外へ引き出し、これに DMBA を散布した。その後、腹壁から腫瘍を触知したラットについて腫瘍の剔出を行ない、病理組織学的に検索を行なった。

1) 処置後約8カ月間に実験ラット32例中22例(68.7%)に腫瘍形成が認められ、その内15例(68.2%)が teratoma, 残る7例(31.8%)が yolk sac tumor, またはこれによく類似した腫瘍と診断された。

2) 後者の肉眼的所見は、人の yolk sac tumor によく類似し、断面には出血、壊死部と充実性の部や海綿状の部が混在した。また、腫瘍は腹腔内に播種性に蔓延を示した。

3) また、その組織学的所見は、人の yolk sac tumor の典型的な組織像である endodermal sinus pattern を示し、蛍光抗体法(間接法)により AFP の局在が確認された。

**Synopsis** Unlike those experiments described in the previous several reports, a carcinogen was given to pregnant rats in our experiment to induce a tumor similar to yolk sac tumor which often occurs in human cases, aiming at contribution to establishment of an experimental model. Using Wister rat on the 10th day of gestation, after removal of the fetus, the yolk sac was extracted out of the uterus, and a carcinogen was administered to it. Induced tumor was examined morphologically.

By the 16th week after experiment, tumor was induced in 70% out of rats treated. The tumor volume was varied from a bean to a thumb tippize. Histologically, most of them were considered to be teratoma.

But in 30% of them, human pure-type yolk sac tumor or the tumor similar to it were observed. Reticular and endodermal sinus or polyvesicular vitelline patterns were also clearly observed. Presence of hyaline body by PAS-staining and AFP by fluorescent antibody method were confirmed.

**Key words:** Yolk sac tumor · Endodermal sinus tumor · Experimental induction · Fetal membrane · Germ cell

### 緒 言

人に発生する胚細胞性腫瘍 (germ cell tumor) には dysgerminoma, embryonal carcinoma, teratoma, さらには endodermal sinus tumor (yolk sac tumor) や choriocarcinoma などがあるが、未だその発生に関して不明な点が多くなり、有名な Teilum<sup>1)</sup>の仮説にしても、現在なお推測の域を完全に脱しているとは言い難い。しかし、近年、endodermal sinus tumor (yolk sac tumor) と胎生期胚細胞の胚外組織との類似性が指摘さ

るが、未だその発生に関して不明な点が多くなり、有名な Teilum<sup>1)</sup>の仮説にしても、現在なお推測の域を完全に脱しているとは言い難い。しかし、近年、endodermal sinus tumor (yolk sac tumor) と胎生期胚細胞の胚外組織との類似性が指摘さ

1982年 5月

伊藤他

595

れ、発生母地に関する報告がみられるようになってきた。

そこで、妊娠ラットの子宮に切開を加え、胎仔を摘出し、残存した fetal membrane を直接発癌剤で処理することにより、人の場合の yolk sac tumor に類似する腫瘍を抽出するため種々の検討を行ない、実験モデルの確立に寄与することを目的とした。

### 研究材料並びに方法

実験動物として妊娠10日目の Wister—今道系ラットを用いた。すなわち、成熟雌ラットの膈内に精子を認めた日を妊娠0日目とし、図1に示すごとく、妊娠10日目に開腹し、子宮に切開を加え、個々の胎仔を摘出、子宮内に胎盤を残したまま yolk sac を fetal membrane と共に子宮壁外へ引き出すように処理し、これに DMBA を散布、止血を完全に行なった後腹腔を閉じ、通常の飼育を行なった。処置後、腹壁より腫瘍を触知した時点で、直ちに開腹して腫瘍を摘出し、病理組織学的に検討すると共に、その一部については蛍光抗体法(間接法)により AFP の局在を検討した。

### 研究成績

#### 1) 実験腫瘍の誘発状況

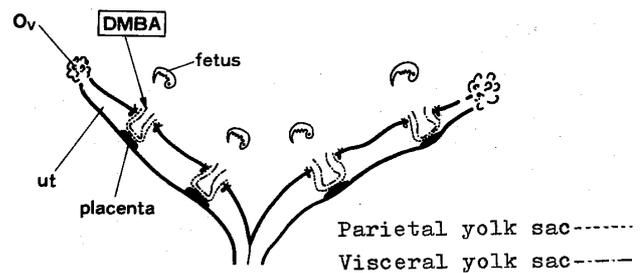
表1に示すごとく、実験開始後約8カ月間に実験に供した妊娠ラット32匹中22匹(68.7%)に種々の大きさの腫瘍形成が認められた。これらの誘発腫瘍は、組織学的に15例(68.2%)が teratoma で、残る7例(31.8%)は yolk sac tumor, または yolk sac tumor にきわめて類似する腫瘍であつた。

#### 2) 誘発腫瘍の病理学的成績

##### (i) 誘発腫瘍の肉眼所見

誘発した腫瘍の大きさは、小指頭大より鶏卵大

図1 Experimental method



まで大小様々であり、写真1, 2に示すごとく、腫瘍の表面は被膜に覆われており、平滑である。腫瘍の断面は、灰白色の粥状内容物を入れる嚢状構造がみられ、出血壊死部も散在し、一部には充実性部や海綿状部も混在し、人の yolk sac tumor に類似する所見が観察された。

また、腹腔内には播種性にこの腫瘍の蔓延する場合が多く認められた。

##### (ii) 誘発腫瘍の組織学的所見

誘発腫瘍の組織像は、写真3, 4に示すごとく、中胚葉起源として軟骨、横紋筋、また内、外胚葉起源の要素を含む teratoma が大半にみられた。

一方、約1/3の腫瘍には人の endodermal sinus tumor によく類似する組織所見が観察された。すなわち、写真5, 6, 7に示すごとく、Teillumの述べる extra-embryonic yolk sac の endodermal sinus pattern を示す所見や扁平な、または空胞を持つ細胞の配列より構成された reticular pattern, あるいは小嚢胞を形成する polyvesicular vitelline pattern, 更には写真8に示すとき小さな細胞の集団で構成される solid pattern を呈する部などが観察された。

また、写真9に示すごとく、PAS陽性の顆粒が細胞の内外に認められ、これらは hyaline globule

表1 The results of experimental induction

	Number of animals	Induced tumor	Time of diagnosis of tumor
Group with palpable tumor	22 (68.7%)	{ teratoma 15 (68.2%) yolk sac tumor 7 (31.8%)	1 ~ 2 Mo 6 ~ 8 Mo
Group without palpable tumor (no change.)	10 (31.3%)		1 ~ 8 Mo
Total	32		

# 学術情報センター電子図書館サービス

写真1 yolk sac tumor



写真4 teratoma における横紋筋成分

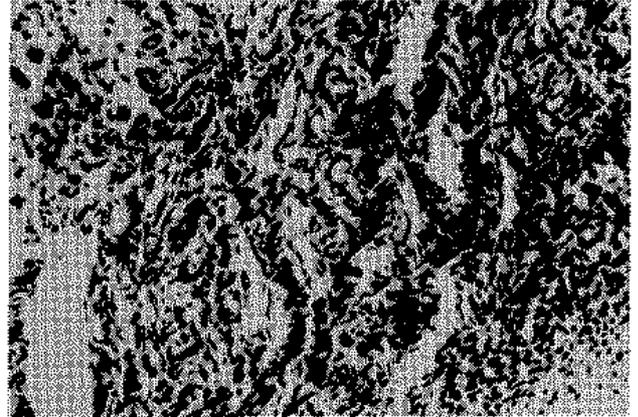


写真2 yolk sac tumor

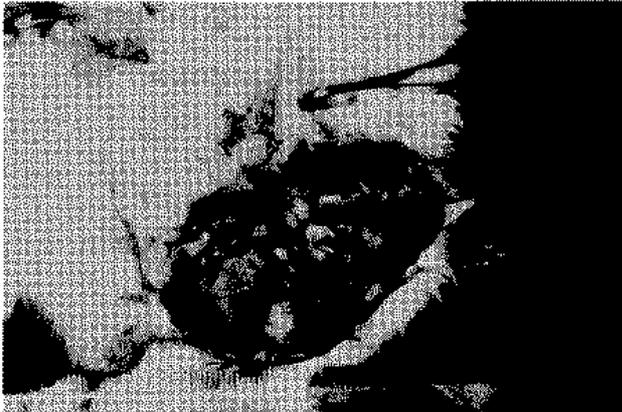


写真5 endodermal sinus pattern

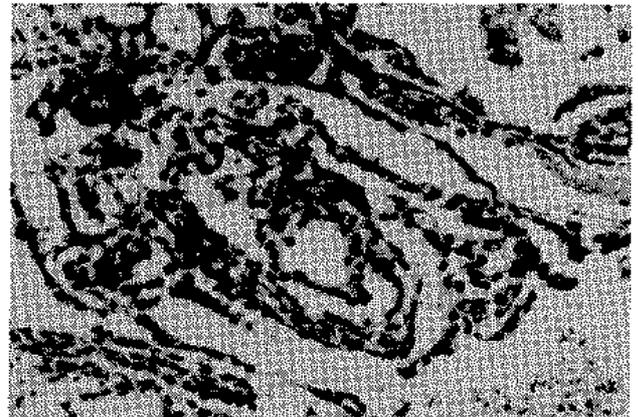


写真3 teratoma における軟骨成分

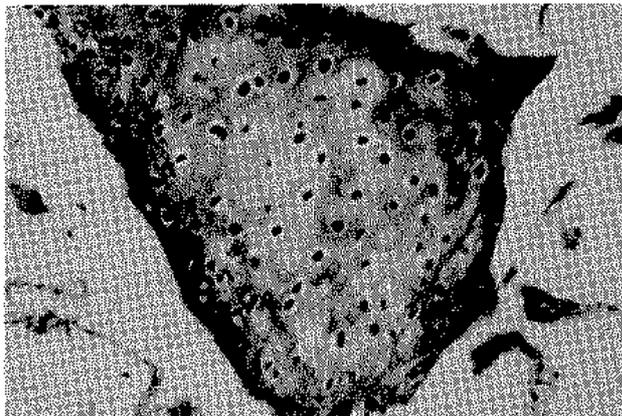
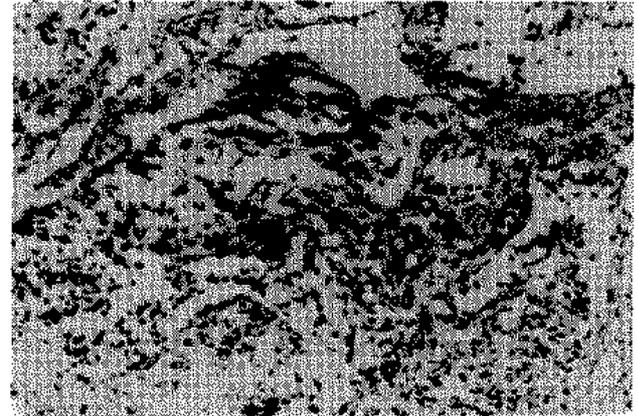


写真6 reticular pattern



に相当するものと認められた。

なお、蛍光抗体法（間接法）により腫瘍組織中のAFPの局在を検討したが、写真10に示すごとく、明らかにAFPが認められ、本腫瘍はAFPを産生するものと認められた。

## 考 察

人のyolk sac tumorのモデルとして動物に類似の腫瘍を誘発する試みは現在まで全くみられなかつた訳ではない。

すなわち、胎芽生殖隆起の精巣内移植による誘発実験<sup>6)7)</sup>や胎芽組織の異所的移植実験<sup>2)</sup>、さらに

写真7 polyvesicular vitelline pattern



写真8 solid pattern

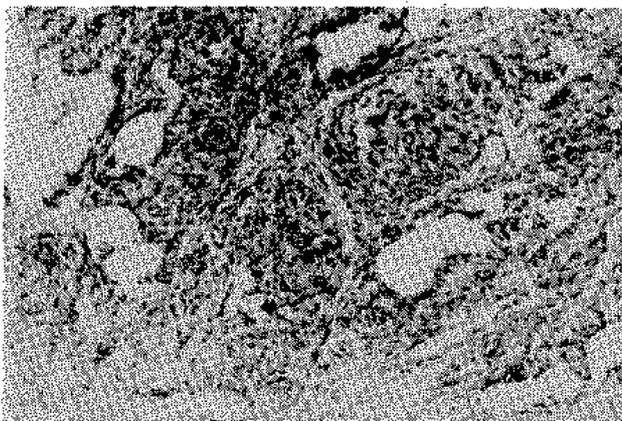
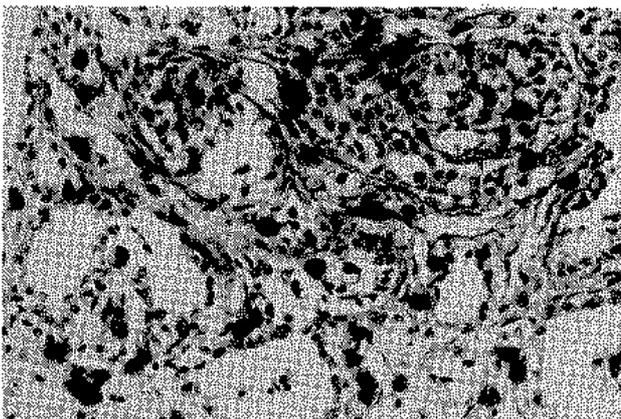


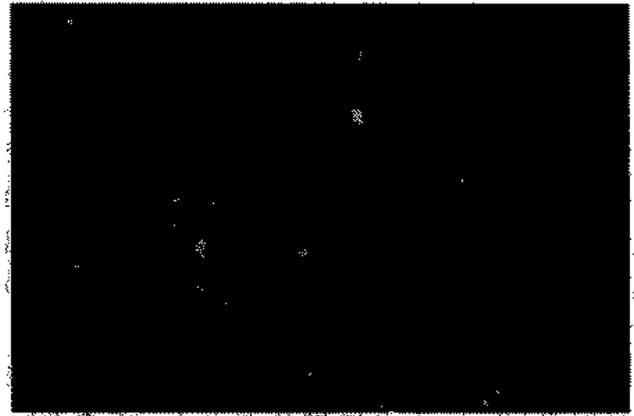
写真9 PAS 陽性顆粒



は本実験と同様な yolk sac を用いた誘発実験<sup>9)</sup>などが試みられてきたが、いずれも誘発された腫瘍は teratoma が大多数であり、時に yolk sac に相当する組織構築を有する腫瘍が発見されているに過ぎない。

こうした実験の中で、とくに Sobis and Vande-

写真10 蛍光抗体法（間接法）による AFP の局在



putte (1973)<sup>49)</sup>は murine sarcoma virus を妊娠ラットの胎仔摘出後の残存胎盤に投与して、また、坂下 (1976)<sup>178)</sup>も妊娠ラットの胎仔摘出後に fetal membrane を子宮外に引き出し、残存胎盤に murine sarcoma virus を注射して、積極的に yolk sac tumor の誘発を試みているのが注目される。

Sobis and Vandeputte の yolk sac tumor の誘発率は、Wister-albino 系ラットを用いた実験では、39匹中12匹 (30.7%) であるが、この12匹の中の10匹についてのみ組織学的に yolk sac tumor であることが確認されているので、厳密には39匹中10匹 (25.6%) の誘発率といえる。また、Wister-albino 系ラットを BN 系ラットと交配させた25匹からは1例も腫瘍の発生をみていない。

坂下の報告では、murine sarcoma virus を注射した60例中41例 (68.3%) に腫瘍の発生をみたと述べているが、これらの誘発腫瘍のすべてに yolk sac tumor の組織像がみられたのか否かについては明らかな記載がなく、人の乳児の睪丸腫瘍に最も多い型である yolk sac tumor と非常に類似した組織構造を含む腫瘍もみられたと述べているのにとどまり、yolk sac tumor の正確な誘発率は不詳である。

今回の著者の実験では、実験動物の約70%に腫瘍を誘発し、そのうち約70%は teratoma、残る約30%に yolk sac tumor を誘発し得たが、さらに有効に fetal membrane に発癌剤を作用させ、yolk sac tumor の誘発率の向上を心がけている。

# 学術情報センター電子図書館サービス

598

妊娠ラットを用いたyolk sac tumorの誘発実験

日産婦誌34巻5号

今回の著者の実験方法は、Sobis et al.,あるいは坂下のvirusを用いた実験に類似するものであり、virusの代わりに発癌剤の一種であるDMBAを用い、この作用によりfetal membraneよりteratomaおよびyolk sac tumorを誘発したものであるが、多潜在能を有するfetal membraneを胎盤からの血行を維持させたまま、腹腔内に引き出し、更にこれを発癌剤で処理したところに今回の実験の独創性と腫瘍誘発の利点がある。

ラットのyolk sacは人と異なり、妊娠末期まで胎盤のlabyrinthの表層に存在し、またfetal membraneを構成する一部として広く連続して存在しているので、胎仔摘出後にfetal membraneを発癌剤で処置すると同時に、yolk sacも処置されることになる。

ラットの場合、primordial germ cellは、このyolk sacから妊娠9日目あるいは10日目に仔の方に移行するとされているので、今回の実験を行なった妊娠10日目の状態では、なお、germ cellが、yolk sacに残存しており、これらの細胞からyolk sac tumorが誘発された可能性は、誘発された腫瘍の約70%がteratomaであることから否定出来ない。

また、誘発腫瘍の組織像では、teratomaはさておき、約30%の腫瘍ではendodermal sinus pattern, reticular pattern, polyvesicular vitelline pattern, さらにはsolid patternを呈し、著しく人のendodermal sinus tumor (yolk sac tumor)に類似する所見を呈しており、PAS陽性、非グリコーゲンの顆粒が細胞の内外に認められ、これらにはほぼ一致したAFPが蛍光抗体法で証明されて

いるので、これらの腫瘍はラットにおけるyolk sac tumorと見なしてさしつかえないものと思われる、人のyolk sac tumorのモデルとして適切なものと認められた。

本論文の要旨は第33回日本産科婦人科学会学術講演会、および第39回日本癌学会総会で発表した。

## 文 献

1. 坂下茂夫： $\alpha$ -フェトプロテイン産生yolk sac tumorの実験的研究。日泌尿会誌，67：579，1976。
2. Damjanov, I., Solter, D., Belicza, M. and Škreb, N.: Teratomas obtained through extrauterine growth of seven-day mouse embryos. J. Nat. Cancer Inst., 46: 471, 1971.
3. Sakashita, S.:  $\alpha$ -Fetoprotein synthesis in tissue culture of human testicular tumors and an experimental yolk sac tumor in the rat. Cancer Research, 36: 4232, 1976.
4. Sobis, H. and Vandeputte, M.: In utero tumor induction by murine sarcoma virus (Moloney) in the rat II, Histological and Ultrastructural characteristics. Int. J. Cancer, 11: 543, 1973.
5. Sobis, H. and Vandeputte, M.: Development of teratomas from displaced visceral yolk sac. Int. J. Cancer, 13: 444, 1974.
6. Solter, D., Škreb, N. and Damjanov, I.: Extra-uterine growth of mouse egg-cylinders results in malignant teratoma. Nature, 227: 503, 1970.
7. Stevens, L.C.: Experimental production of testicular teratomas in mice of strains 129, A/He, and their F<sub>1</sub> hybrids. J. Nat. Cancer Inst., 44: 923, 1970.
8. Teilum, G.: Special tumors of ovary and testis, 60. Munksgaard, Copenhagen, 1971.
9. Vandeputte, M. and Sobis, H.: In utero tumor induction by murine sarcoma virus (Moloney) in the rat. I. Biological characteristics. Int. J. Cancer, 11: 536, 1973.

(No. 5018 昭57・1・12受付)