

ウレタン腹腔内注入による実験的 マウス肺腫瘍の形態学的研究

〔第3篇〕電子顕微鏡的研究

京都大学結核研究所外科療法部（主任 教授 長石忠三）

大 道 重 夫

目 次

緒 言
第1章 実験材料並びに方法
第2章 マウスの健常気管支肺胞系の被覆細胞
第3章 腫瘍細胞の微細構造
第4章 考 按
結 言
全 篇 綜 括
参 考 文 献

緒 言

著者は、ウレタンの腹腔内注入による実験的マウス肺腫瘍について形態学的に検討し、ひいてはその組織発生についても考案を進めたいと考え、第1篇に於いて、その肉眼的所見並びに腫瘍結節の発生頻度について検討した。更に、第2篇に於いては本腫瘍を組織学的に観察し、腫瘍結節の発生部位について検討すると共に、その組織発生に関しても検討を加えた。

第2篇に於いて述べたように、本腫瘍の大多数は肺胞領域に発生し、発生母地を肺胞に求むべきことは多くの研究者や著者らの研究結果から明らかである。しかしながら、従来のような光学顕微鏡的観察方法によつては、肺胞を構成する細胞や個々の腫瘍細胞の微細構造を解明することは殆んど不可能である。従つて、著者は、マウスの健常な気管支肺胞系の被覆細胞と本腫瘍細胞とを電子顕微鏡的に比較対照しながら検討することにより、本腫瘍の発生母地を推測しようと考えた。

第1章 実験材料並びに方法

実験動物及び薬剤投与方法は第1篇と同様である。即ち、体重20g内外の成熟 dd 系マウスに、10%ウレタン水溶液を0.01cc/g、ウレタン量にして1mg/gを1回量として、週1回、連続4回腹腔内に注入した。そして、ウレタンの最終回注入後10週乃至20週後のマウス肺に形成された直径1mm以上の腫瘍結節を摘出し、電子顕微鏡的観察に供した。

固定液としては、1/50M 磷酸緩衝液で pH 7.4 に調整し、更に蔗糖によつて等張とした1%オスミウム酸溶液を用い、氷室内で1時間固定を行なつた。その後、試料を流水中にて水洗し、型の如く各種濃度のエタノール系列で脱水した後、メタアクリレート・モノマー中に包埋した。

超薄切片作製には、日立製作所 UM-2 型及び UM-3 型のミクロトームを用い、得られた超薄切片を日立製作所 HS-6 型電子顕微鏡を用いて観察した。

尚、別に、健常なマウス肺組織及び腫瘍結節の周辺部の健常肺組織についても同様の方法で観察し、比較検討した。

第2章 マウスの健常気管支肺胞系の被覆細胞

A 気管支系の被覆細胞

健常な気管支上皮は第1図のように、線毛細胞、杯細胞及び基底細胞の3種の細胞によつて構成されているが、それらの細胞の数の上での比率は部位によつて若干異なっている。

線毛細胞 (Ciliated cell) は、最も多く見出される上皮細胞であり、細胞の遊離縁には細胞質の細長い突起である小絨毛と、この細胞に特

有の細長い線毛とが多数に存在している。線毛の内部には、中枢部に2対、周辺部に9対の線維が含まれている。そして、線毛の外側の被膜は細胞膜に移行し、線維は基底小体に移行している。

杯細胞 (Goblet cell) は、細胞の電子密度が高く、その中に大小種々の分泌顆粒が多数みられる上皮性細胞である。

基底細胞 (Basal cell) は、基底膜に接して存在する、小形でオルガネラに乏しい細胞である。気管支腔に頭を出していることはない。

B 肺胞系の被覆細胞

健常な肺胞壁は第2図のように、肺胞上皮細胞及び肺胞壁細胞の2種類の上皮性細胞によつて連続的に覆われている。

肺胞上皮細胞 (Alveolar epithelial cell) は、核の存在している部分だけが厚く、その両翼は急に薄くなつて広くのびている細胞であつて、肺胞壁の殆んど大部分を覆っている。

肺胞壁細胞 (Alveolar wall cell) は、比較的細胞質に富んだ大型の細胞で、屢々表面に多数の小絨毛を有している。そして、細胞質内に好オスミウム小体と呼ばれる電子密度の高い封入体を有していることが特徴的である。

この細胞の由来に関しては、従来、上皮性か間質性かで議論が多かつたが、最近当研究室の石河は、個体発生学的並びに比較形態学的研究から、この細胞が上皮性のものであるとの結論に達した。彼の研究によれば、胎生期に於ける肺胞上皮細胞と肺胞壁細胞とはよく似た形を示しており、又、両棲類のような下等な脊椎動物に於いても、両者が似通つた形を呈している。このような所見から、彼は肺胞上皮細胞と肺胞壁細胞とは共に上皮性起源の細胞であつて、幼若な個体や下等な脊椎動物に於いては互いに似通つているが、成熟した高等な脊椎動物に於いては両者が分化して存在するのであるという結論に達したのである。

尚、肺胞壁には、これらの被覆細胞の他に、毛細血管の内皮細胞、毛細血管内の血球、間質細胞及び間質の線維等があり、又肺胞腔内には遊離性の細胞、即ち、いわゆる塵埃細胞が認め

られる。

第3章 腫瘍細胞の微細構造

A 腫瘍細胞の一般的微細構造

腫瘍細胞は、第3図のように腺様に配列しており、それが間質に接する面には基底膜を認めることが出来る。細胞の大きさに著るしい不同は認められない。

腫瘍細胞の一般的な微細構造は以下の通りである。

細胞の形はおおむね立方形で、その長径の平均値は8~10 μ である。この値は一般の健常気管支肺胞系上皮細胞のその範囲内にあり、悪性腫瘍細胞の値ほど大きくはない。

核は円形乃至楕円形で、悪性腫瘍細胞の核に屢々みられるような、周縁の不規則な凹凸や核膜の陥入等は稀である。核質も均等に分布している。核の大きさは平均直径4~6 μ であり、核細胞比は1/2~3/5で健常な上皮細胞と大差はない。

核小体は一般に小型であつて、悪性腫瘍細胞にみられるような nucleolonema の構造が明確なものは殆んど認められない。

又、細胞質内には、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ複合体等が認められる。

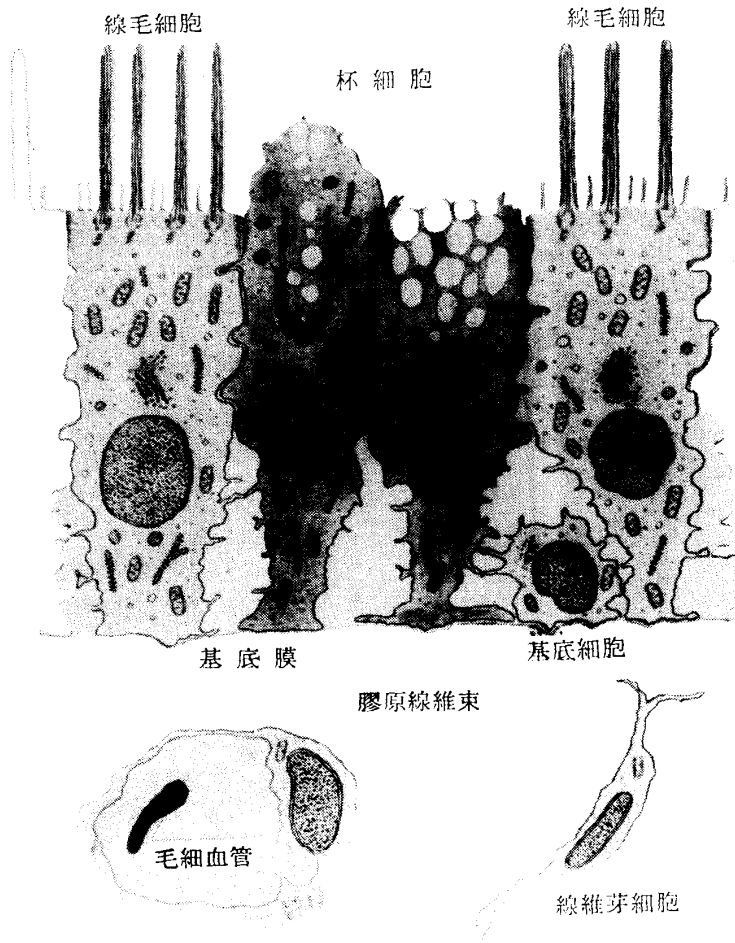
ミトコンドリアは、円形乃至楕円形のものが多く、桿状のものは稀である。基質は一般に電子密度が高く、そのために櫛は不明瞭になつて一見均質にみえるほどである。しかし、膨化、空胞形成などの変性像は殆んど認められない。細胞によつては、ミトコンドリアの分布が著るしく多い細胞と比較的乏しい細胞とがあるが、このことについては後述する。

小胞体は殆んどが粗面小胞体であつて、滑面小胞体は比較的少ない。

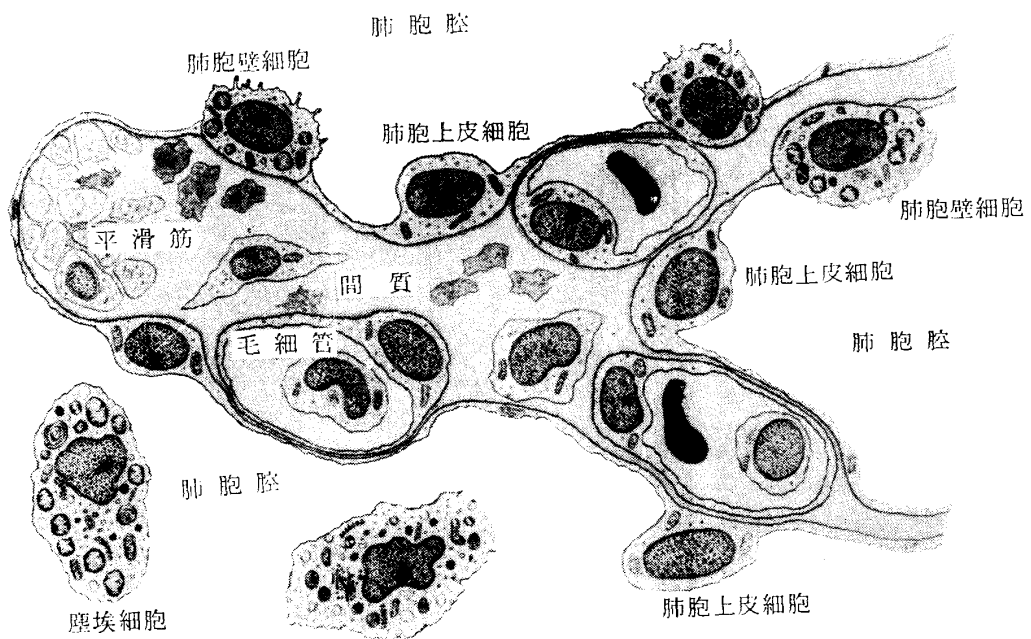
その他に、一部の細胞の細胞質内には、健常な気管支肺胞系の上皮細胞にはみられない特異な構造がみられるが、これについても後述する。

B 腫瘍細胞の諸型

個々の腫瘍細胞は、夫々の微細構造から大凡次の3つの型に分けることが出来る。即ち、線



第 1 図 気管支の被覆細胞 (模式図)



第 2 図 肺胞の被覆細胞 (模式図)

毛を有する細胞，線毛を欠如している細胞及び細胞質内に好オスミウム小体を有する細胞の3つに大別することが出来る。

第1の型である線毛を有する細胞は，第4図のように，気管支上皮の線毛細胞に非常によく似ており，遊離縁に多数の線毛及び小絨毛が認められる。

第2の型である線毛を欠如している細胞は，これら3種の細胞の中で最も数多く認められるものである。この型の細胞は，第5図のように，細胞質や核の性状に於いては第1の型の細胞と大して異なっていないが，遊離縁に線毛を欠如しており，一見，終末細気管枝附近にみられる立方上皮細胞に似ている。

この型の細胞のなかには，第6図の左方の細胞のように，ミトコンドリアが極めて多数みられるものと，同じ第6図の右方の細胞のように，ミトコンドリアが比較的少ないものとが認められる。前者のなかには，ミトコンドリアがあたかも細胞質内に充満しているかの如き観を呈するものすらある。

又，この型の細胞の細胞質内には，前述した一般構造物の他に，第7図に示したように，数個乃至10個余りの一群のミトコンドリアを囲んで小胞体が同心円の層状に配列している構造が屢々見出される。このような構造は，現在までのところ健常な気管支肺胞系の上皮細胞には見出されておらず，その生成過程や意義については尚不明で，今後の検討にまたねばならない。

更に又，ある細胞に於いては，第6図の左方の細胞内や第8図の中央下方にみられるように，細胞質内に紡錘形の空胞が形成され，その中心部に細胞質が軸状に残っている像が認められる。この管状構造は明らかな限界膜を欠如しており，やがてその空胞の部分が拡大して細胞質の大半を占めるようになることもある。このような空胞の形成は一種の変性現象であると考えられるが，その詳細は今後の研究にまたねばならない。

第3の型である好オスミウム小体を有する細胞は，第8図のように，我々のいわゆる肺胞壁細胞によく似た細胞であつて，細胞質内に好オ

スミウム小体が認められる。石河は好オスミウム小体を，I，II-a，II-bの3種に分類しているが，それに従えばこの型の細胞内にはII-a型のものが多い。即ち，明瞭な限界膜は認められなくて，オスミウム好性の強い板状物が層状にしかも平行な配列をとっているものである。

以上3種の腫瘍細胞の他に，腫瘍組織に接している間質内には屢々第9図に示すように，プラズマ細胞によく似た細胞が多数認められる。これらの細胞は，細胞質内に小胞体が充満した特異な構造を有しているが，その由来や意義についてはまだ不明である。

第4章 考 按

第2篇に於いて述べたように，ウレタンによるマウス肺腫瘍の発生母地について組織学的に検討すると，その大部分は明らかに気管支とは関係のない末梢肺胞領域から発生したもののようと思われる。しかしながら，電子顕微鏡的にみると前述したように少なくとも3つの型の腫瘍細胞が区別され，しかも，それらのなかには肺胞領域の上皮細胞とは著るしく異なつた形の細胞さえ見出されるのである。

以下それらの3種の腫瘍細胞について若干の考察を試みることにする。

第1型，即ち，線毛を有する細胞は，線毛を有すること自体かなり分化度の高いことを示しており，又，気管支上皮との関連性を暗示している。

第2型，即ち，線毛を欠如している細胞は，形態の上からは終末細気管枝附近にみられる立方上皮細胞に似ている。しかしながら，このような形の上皮細胞は，胎仔肺の肺胞領域に於いても，又，いわゆる腺様化生を招来せしめた肺胞領域に於いても見出される。従つて，気管支肺胞系の何れの部位の上皮細胞に関連しているかは容易に定め難い。

第3型，即ち，好オスミウム小体を有する細胞については，従来好オスミウム小体はいわゆる肺胞壁細胞にのみ特異的にみられ，それ以外の細胞には認められないと考えられていた。従つて，この型の腫瘍細胞は肺胞領域にみられる肺胞壁細胞と何等かの関連性を有していると考

えて差支えなからう。

以上のような観点からすれば、ウレタンによるマウス肺腫瘍の中には、気管支肺胞系の各部位の上皮細胞が混在していることになる。それでは、組織学的には肺胞領域から発生すると考えられる腫瘍組織の中にこのように多種類の細胞が見出されることを、我々は如何に解すればよいであろうか。

気管支上皮細胞 といひ、肺胞上皮細胞 といひ、分化したものにあつては互いにその形が著るしく異なつてゐるが、何れも発生学的には元来同一の系統に属するものである。従つて、肺胞領域の上皮組織内に非常に不安定な細胞が生じた場合に、その細胞は発育増殖過程に於いて気管支系の上皮細胞に類似した形態をとることも当然予想される。ウレタン肺腫瘍にみられる現象も、このような機構によつて招来されるのではなからうか。

それとは別に、ひとの肺癌を電子顕微鏡的に観察しても、同一の腫瘍組織の中に、肺胞領域の上皮細胞に似た細胞と気管支領域の上皮細胞に似た細胞とが混在する所見に接することがある。このような現象も、ウレタン肺腫瘍の場合と同様な機構で招来されたものと思ふ。

要するに、著者は、ウレタンの投与によつて肺胞領域に不安定な状態の上皮性細胞が生じ、その細胞が種々に分化した形態をとりつつ増殖することによつて腫瘍結節が成立するものと考えている。但し、腫瘍の母細胞ともいふべきこのような不安定な状態の上皮細胞の確認は今後の研究にまたねばならない。

結 言

著者は、ウレタンの腹腔内注入によつて発生せしめたマウスの肺腫瘍について電子顕微鏡的に検討し、以下の結論を得た。

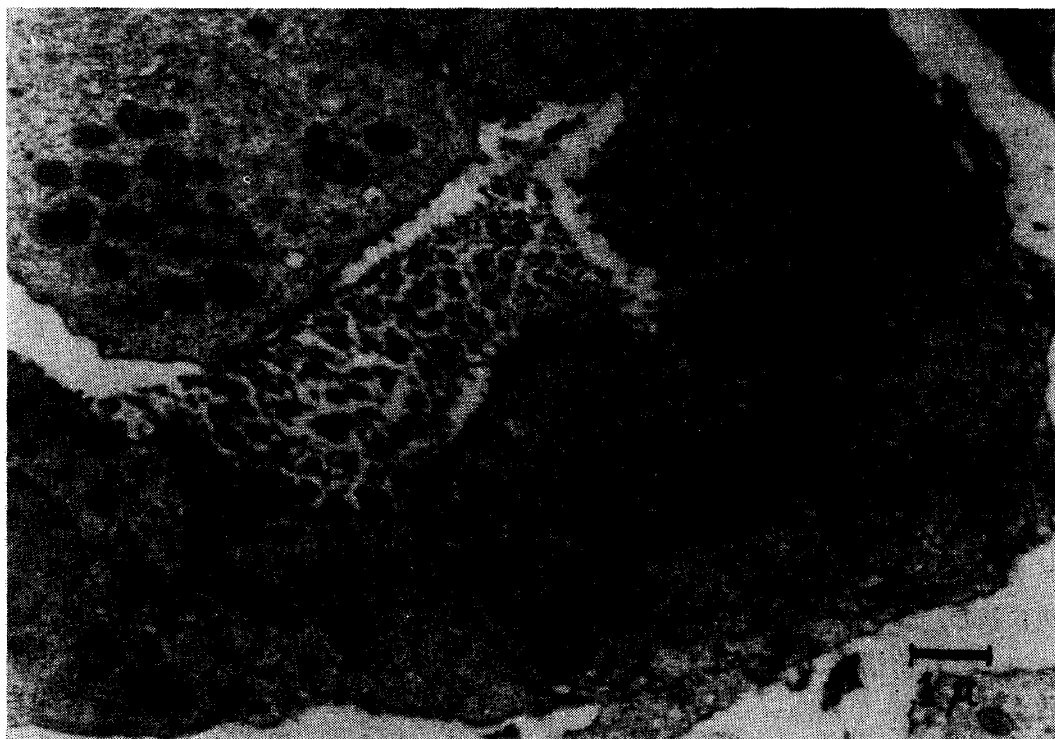
(1) 腫瘍細胞は腺様の配列をしており、個々の細胞には悪性腫瘍細胞にみられるような性状は認められない。

(2) 腫瘍細胞はおおむね立方状で、大凡3つの型の細胞が認められる。即ち、第1型：線毛を有する細胞、第2型：線毛を欠如している細胞及び第3型：好オスミウム小体を有する細胞の3つである。

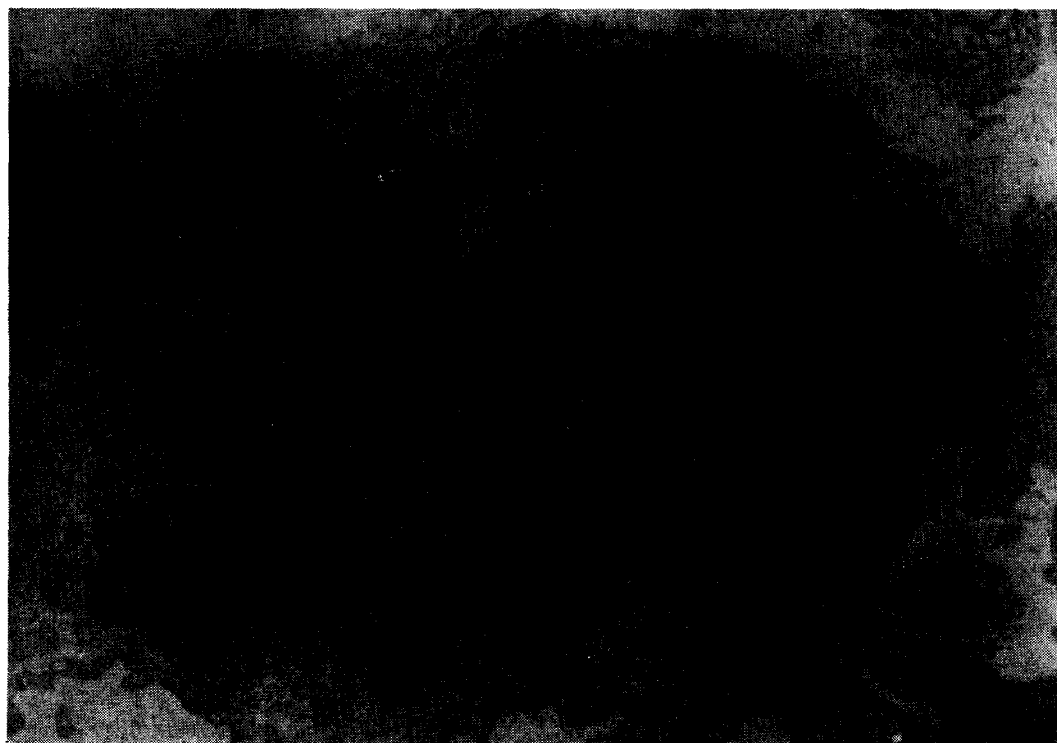
(3) 本腫瘍は組織学的には肺胞領域より発生すると考えられるものが多いにも拘わらず、電子顕微鏡的には、肺胞領域の上皮細胞に似た細胞の他に、気管支領域の上皮細胞の特徴を持つ



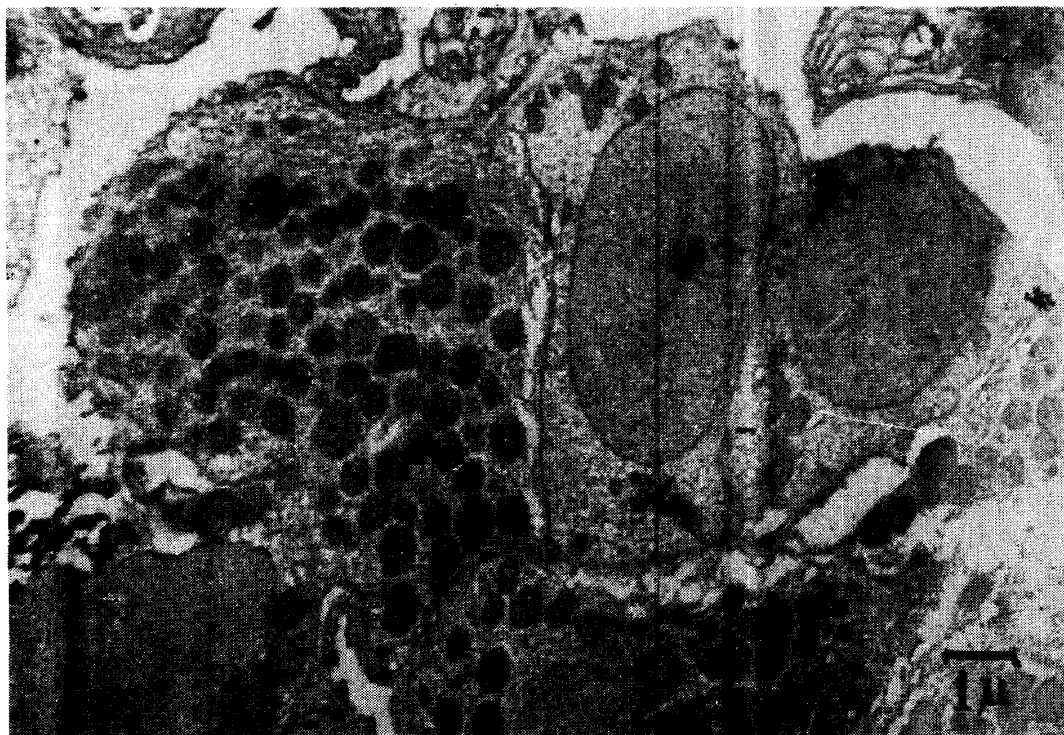
第3図 腺様に配列した腫瘍細胞



第 4 図 腺毛を有する腫瘍細胞



第 5 図 腺毛を欠如している腫瘍細胞



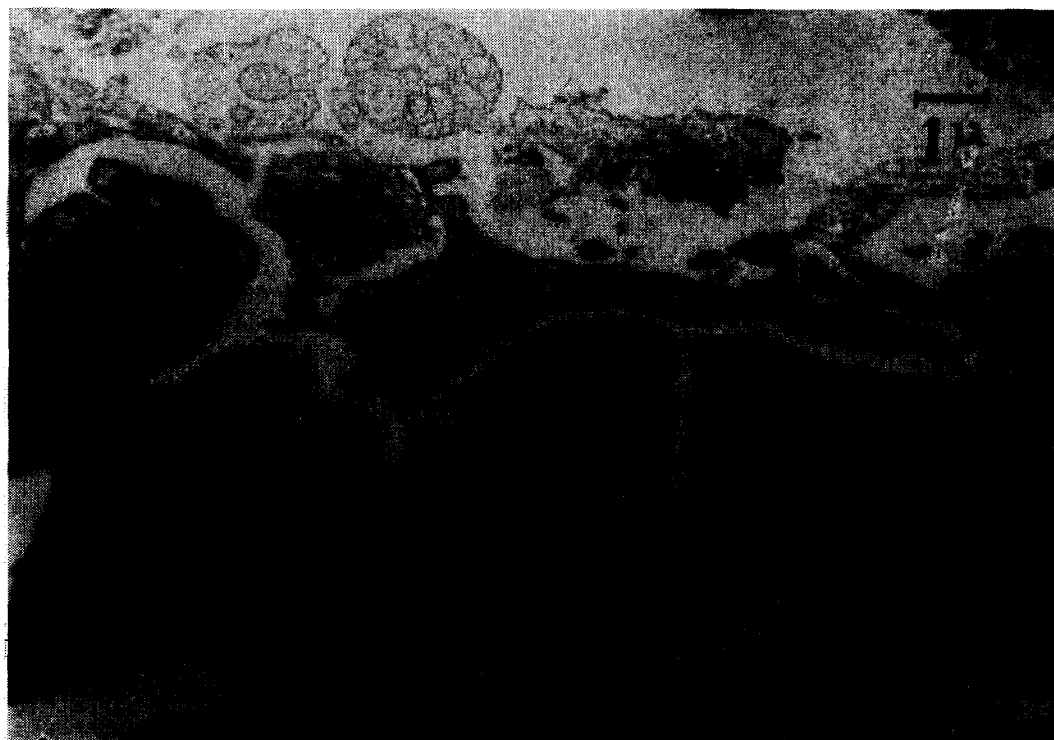
第 6 図 ミトコンドリアの多い細胞（左）と少ない細胞（右）。
尚、左方の細胞内に特異な管状構造がみられる。



第 7 図 健常細胞にみられぬ特異な構造。10個余りの一群のミトコンドリア
を囲んで小胞体が同心円の層状に配列している



第 8 図 好オスミウム小体を有する腫瘍細胞. 尚, 下方の細胞内 (図の中央下方) に特異な管状構造がみられる



第 9 図 腫瘍組織周辺部の間質内にみられるプラズマ細胞に似た細胞

た細胞も混在している。

(4) 本腫瘍はウレタン投与によつて肺胞領域に生じた不安定な状態の上皮性細胞から発生するものと考えられるが、その母細胞の確認は今後の研究にまたねばならない。

全 篇 総 括

著者は、体重 20g 内外の成熟 dd 系マウスの腹腔内に、10%ウレタン水溶液を 1 回量 1.01cc/g、ウレタン量にして 1mm/g とし、週 1 回、連続 4 回注入して肺腫瘍を発生せしめ、それについて肉眼的、組織学的並びに電子顕微鏡的に検討して以下の結論を得た。

(1) 腫瘍発生数はウレタンの最終回注入後第 5 週目より急に増加するが、第 7 週目以後の増加は雌に於いて著るしい。

(2) 肺葉別にみて、特別に好発する肺葉は認められない。

(3) 雄雌別にみると、常に雄より雌に多発し、その比率は 1.3 乃至 2.0、平均 1.7 である。

(4) 本腫瘍は良性の腺腫であつて、少量の線維性間質を基底として腫瘍細胞が腺様乃至乳嘴様に配列している。

(5) 組織学的にみると、腫瘍結節は気管支とは直接関係を有しないものが殆んどである。

(6) 電子顕微鏡的にみても、腫瘍細胞は腺様に配列しており、個々の細胞には悪性腫瘍細胞の諸特徴は認められない。

(7) 個々の腫瘍細胞はおおむね立方状で、その微細構造から大凡 3 つの型の細胞、即ち、第 1 型：線毛を有する細胞、第 2 型：線毛を欠如している細胞及び第 3 型：好オスミウ小体を有する細胞が区別される。

(8) 本腫瘍は、ウレタン投与によつて不安定な状態になつた肺胞領域の上皮性細胞に由来すると考えられるが、その母細胞の確認は今後の検討にまたねばならない。

文 献

1) Andervont, H. B., & Shimkin, M. B.: Biologic testing of carcinogens: II. Pulmonary-tumor-induction technique. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1: 225 (1940).

2) 浅利周美夫：ウレタン経口投与による廿日鼠肺腫瘍の組織発生に関する研究。昭和国际医学雑誌，17：58 (1957)。

3) Asari, Sumio: Lung tumor in mice. Experimental pulmonary tumor induced by urethane. *Acta Path. Jap.*, 8: 27 (1958).

4) Cowen, P. N.: Some studies on the action of urethane on mice. *Brit. J. Cancer*, 1: 316 (1947).

5) 大道重夫，他：マウスの実験的肺腺腫の形態学的研究。第 1 回肺癌研究会。(1960)。

6) Grady, H. G., & Stewart, H. L.: Histogenesis of induced pulmonary tumors in Strain A mice. *Am. J. Cancer*, 34: 169 (1938).

7) Gady, H. G., & Stewart, H. L.: Histogenesis of induced pulmonary tumors in Strain A mice. *Am. J. Path.*, 16: 417 (1940).

8) Guyer, M. F. & Claus, P. E.: Tumors of the lung in rats following injections of urethane (Ethyl carbamate). *Cancer Research*, 7: 342 (1947).

9) Haaland, M.: Spontaneous tumors in mice. Imperial Cancer Research Fund (Great Britain), Fourth Scientific Report, (1911).

10) Henshaw, P. S., & Meyer, H. L.: Minimal number of anesthetic treatment with urethane required to induce pulmonary tumors. *J. Nat. Cancer Inst.*, 4: 523 (1944).

11) Henshaw, P. S. & Meyer, H. L.: Further studies on urethane-induced pulmonary tumors. *J. Nat. Cancer Inst.*, 5: 415 (1945).

12) Horn, H. A., and others: Pulmonary adenomatosis in mice. *J. Nat. Cancer Inst.*, 12: 1297 (1952).

13) Horning, E. S.: Studies on the induction of lung cancer in mice. *Brit. J. Cancer*, 4: 235 (1950).

14) Iball, J.: The relative potency of carcinogenic compounds. *Am. J. Cancer*, 35: 188 (1939).

15) 石河重利：肺胞壁の被覆組織並びに所謂塵埃細胞に関する電子顕微鏡的研究。京大結核紀要，7：増Ⅲ：191 (1959)。

16) 石河重利，他：気管支肺胞系上皮組織の微細構造の系統発生学的研究。第 12 回日本気管食道科学会総会，(1960)。

- 17) Jaffé, W. G.: Carcinogenic action of ethyl urethane on rats. *Cancer Research*, 7 : 107 (1947).
- 18) Jobling, J. W.: Spontaneous tumors of the mouse. *Monographs, Rockefeller Inst. M. Research*, 1 : 81 (1910).
- 19) Larsen, C. D.: Pulmonary tumor induction with alkylated urethane. *J. Nat. Cancer Inst.* 9 : 35 (1948).
- 20) Livingood, L. E.: Tumors in the mouse. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 7 : 177 (1896).
- 21) Malmgren, R. A., & Saxén, E. A.: Studies of the carcinogenic effect of urthane on transplanted lung tissue in strain A mice. *J. Nat. Cancer Inst.*, 12 : 411 (1952).
- 22) Mostofi, F. K., & Larsen, C. D.: Cytogenesis of pulmonary tumors induced by urethane (abstract). *Cancer Research*, 9 : 544 (1949).
- 23) Mostofi, F. K., & Larsen, C. D.: Pulmonary lesions induced in Winter rats by urethane. *Am. J. Path.*, 25 : 807 (1949).
- 24) Mostofi, F. K., & Larsen, C. D.: The histopathogenesis of pulmonary tumors induced in Strain A mice by urethane. *J. Nat. Cancer Inst.*, 11 : 1187 (1951).
- 25) Murphy, J. B., & Sturm, E.: Primary lung tumors in mice following the cutaneous application of coal tar. *J. Exper. Med.*, 42 : 693 (1925).
- 26) Murray, J. A.: Spontaneous cancer in the mouse: histology, metastasis, transplantability and the relations of malignant new growths to spontaneously affected animals. *Imperial Cancer Research Fund (Great Britain), Third Scientific Report*, (1908).
- 27) 長石忠三, 他: 気管支肺胞系の構造. 第12回日本胸部外科学会総会特別講演, (1959).
- 28) Nettleship, A., & Henshaw, P. S.: The induction of pulmonary tumors in mice with ethylcarbamate (urethane). *J. Cancer Inst.*, 4 : 309 (1943).
- 29) 諸方正世, 他: ハツカネズミの自然発生及び人工発生肺癌の組織学的考察. *癌*, 46 : 361 (1955).
- 30) 岡田慶夫, 他: 気管支肺胞系の被覆組織の電子顕微鏡的所見と, 気道壁からする物質の吸収. 前篇, *肺*, 5 : 213; 後篇, *肺*, 5 : 276 (1958).
- 31) 岡田慶夫, 他: 切除肺並びに肺癌の電子顕微鏡的研究. 第60回日本外科学会総会, (1960).
- 32) 岡田慶夫, 他: 切除肺癌の電子顕微鏡的観察. 第1回肺癌研究会, (1960).
- 33) Orr, J. W.: The induction of pulmonary adenomata in mice by urethane. *Brit. J. Cancer*, 1 : 311 (1947).
- 34) Orr, J. W.: The histology and histogenesis of pulmonary adenomata of mice. *Brit. J. Cancer* 1 : 316 (1947).
- 35) 大塚弘一: 閉塞性無気肺症の形態学的研究. *京大結研紀要*, 8 : 増II : 374 (1959).
- 36) Rogers, S.: Age of the host and other factors affecting the production with urethane of pulmonary adenomas in mice. *J. Exper. Med.*, 93 : 427 (1951).
- 37) 沢田勤也: 電子顕微鏡による肺癌細胞の病理形態学的研究. *日胸外会誌*, 6 : 1083 (1958).
- 38) Shimkin, M. B.: Induced pulmonary tumors in mice. I. Susceptibility of seven strains of mice to the action of intravenously injected methylcholanthrene. *Arch. Path.*, 29 : 229 (1940).
- 39) Shimkin, M. B.: Induced pulmonary tumors in mice. II. Reaction of lungs of strain A mice to carcinogenic hydrocarbons. *Arch. Path.*, 29 : 239 (1940).
- 40) Shimkin, M. B.: Biologic testing of carcinogens. I. Subcutaneous injection technique. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1 : 211 (1940).
- 41) Shimkin, M. B.: Pulmonary tumors in experimental animals. *Advances in Cancer Research*, 3 : 223 (1955).
- 42) Sinclair, J. G.: Delayed action of urethane producing diverse tumors in mice. *Texas Rep. Biol. & Med.*, 7 : 456 (1949).
- 43) Slye, M., Holmes, H. F., & Wells, H. G.: The primary spontaneous tumors of the lungs in mice. Studies on the incidence and inheritability of spontaneous tumors in mice. *J. M. Research*, 33 : 417 (1914)
- 44) Stewart, H. L.: Pulmonary tumors in mice. in *Homburger-Fisrhemans The Physiopathology of Cancer*, 2nd ed., New York, Paul B. Hoeber Inc., (1959).
- 45) Strong, L. C.: The establishment of the

- "A" strain inbred mice. *J. Hered.*, 27 : 21 (1936).
- 46) Tyzzer, E. E. : A series of twenty spontaneous tumors in mice, with the accompanying pathological changes and the results of the inoculation of certain of these tumors into normal mice. *J. M. Research*, 17 : 155 (1907).
- 47) Tyzzer, E. E. : A series of spontaneous tumors in mice with observation on the influence of heredity on the frequency of their occurrence. *J. M. Research*, 21 : 479 (1909).
- 48) 薄田七郎 : 悪性腫瘍細胞の電子顕微鏡的研究。日病会誌. 45 : 322 (1956).
- 49) Wells, H. G., Slye, M., & Holmes, H. F. : The occurrence and pathology of spontaneous carcinoma of the lung in mice. *Cancer Research*, 1 : 259 (1941).
- 50) Yasuda, Hiromoto : Electron microscopic cyto-histo-pathology (IV). *Acta Path. Jap.*, 8 : 189 (1958).
- 51) Klärner, P. & Giesecking, R. : Zur Ultrastruktur des Lungentumors der Maus. *Z. Krebsforsch.*, 64 : 7 (1960).
- 52) Schulz, H. : Die Submikroskopische Anatomie und Pathologie der Lunge. Berlin, Springer-Verlag (1959).