

マウス胎児脳組織の脳内同種移植

京都大学医学部外科学教室第1講座（指導：荒木千里教授）

渡 辺 徹

〔原稿受付 昭和38年9月10日〕

INTRACEREBRAL HOMOTRANSPLANTATION OF BRAIN TISSUE OF MOUSE EMBRYO

by

TOHRU WATANABE

From the 1st Surgical Division, Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. CHISATO ARAKI)

Transplantability of brain tissue of mouse-embryos into the homologous hosts was investigated in this series of experiment.

In order to scrutinize the transplantation method, the following preliminary experiment was performed. Under sterile condition the bodies of 12-day-old mouse-embryos were freed of head, minced, and transplanted into the brains of newborn infants 0 to 24 hours of age. The results were as follows :

1) Marked cranial enlargement of the hosts was first noted at approximately 10 post-operative day, and the transplanted mass was proved to have grown to an extent of almost 1/4 of the intracranial cavity at 30th post-operative day upon postmortem examination. Histological examination revealed that the transplantation tumor was composed of well organized and differentiated tissues of endo-, meso-, and ecto-dermal origin. I could confirm the liver tissue in all cases, which had scarcely been transplanted with success by other authors.

2) The progressive changes usually terminated after approximately one month of transplantation and no further cranial enlargement was observed thereafter. The regressive changes then took place with disappearance of transplanted tissues in some cases. The greater part of the persisting tissues showed severe regressive changes in 6 months after implantation.

Being encouraged by the fact that grown nervous structures were found in the transplantation tumor, I proceeded to the next step of the experiment, for the purpose of studying biological reaction and fate of the transplanted brain tissues.

With sterile technique, brains of mouse-embryos were isolated, minced, and transplanted into the brains of hosts, the age being between 12 hours and 8 days, and the following facts were observed :

1) Good results were obtained when the brains isolated from 11- to 13-day embryos were transplanted into the brains of infant hosts aging 12 hours to 2 days. The transplanted embryonic brains grew in more than 70% of the overall cases. The transplant which was obtained from 11-day embryos demonstrated the best result showing 100%

positive take in 4 groups of 6.

2) In general, a good number of the hosts died before weaning on account of rapid and vigorous growth of the transplant. The grown transplant was usually found to occupy almost 1/4 to 1/3 of the intracranial cavity after a month of transplantation. After this period, however, no more growth of the transplant was observed without any exception, and it remained as it had been, or began to take a regressive course.

3) Histological examination revealed that the transplanted brain tissues grew in nearly normal morphology except for disorderly arrangement of cellular components. Nerve cells, nerve fibers, glial cells, and glial fibers, were found to be developed and well differentiated as seen in normal adults. Many of the transplantation tumors demonstrated signs of regression, such as gliosis, perivascular accumulation of round cells, and deposition of calcium, in 3 months. With the lapse of time those regressive changes usually became more and more prominent. In some cases, however, the transplantation tumor showed little or no evidence of regression in 6 to 9 months after transplantation. Two mice were sacrificed at 366th post-operative day and the transplantation tumor was found to have persisted well in each case.

緒 言

胎児組織の中で脳組織は移植性にとほしいものとみなされ、脳内に同種移植された胎児脳組織がどのような運命をとるかについて今日迄2, 3の報告があるに過ぎない。Clark²⁾は家兎胎児脳組織片を成熟家兎の大脳内に同種移植してそれが生着し、更に成長分化してゆくことを報告し、Glee³⁾も彼を追試して同じ結果を得ている。其他の報告³⁾¹⁸⁾も類似の結果を示しているが、いづれも観察期間は短く、長期間生着し続ける被移植胎児脳組織に関する報告は殆んどみあたらない。

本実験では、先づ頸部以下の胎児体組織を同種新生児マウスの大脳内に移植することによつて、移植方法の適合性について検討を加え(実験I)、次にその結果にもとづいて、マウス胎児脳組織のみを取出して脳内同種移植を試み、次の諸点について検討した(実験II)。

- (1) マウス胎児脳組織を確実に生着せしめる方法。
- (2) 生着したマウス胎児脳組織の生物学的態度と運命。

実験 I マウス胎児体組織の脳内同種移植

実験方法

京都大学純系動物飼育室の dd 系と C₃H 系マウスを使用した。胎令は母獣産腔の証明された日の翌日のものを1日として計算した。任意に交配して得られた妊娠12日目のマウスを頸椎脱臼によつて屠殺し、胎児をとり出し、その頸部以下の胎児体組織を直径 0.5mm 以

下の小片に細切した。この半流動性の細切組織泥液 0.005ml ~ 0.01ml を外径 0.2mm の注射針を通して、生後24時間以内の同種新生児マウスの頭頂葉内で頭皮下 2mm の所に注入した。以上の操作はすべて無菌的に行つた。このような操作を受けた宿主数は総計39匹であつた。この内29匹は移植後30日迄に斃死又は屠殺し、残りの10匹は移植後200日迄に順次屠殺した(60日後3匹、75日後1匹、90日後4匹、200日後2匹)。屠殺した宿主、及び斃死したものの中で、死後変化の高度でない宿主の全脳を10%中性フォルマリンに固定し、パラフィン包埋の後、ヘマトキシリン-エオジン染色(以 H. E. 染色と略記した)を行つた。一部のものにバツプの格子線維鍍銀を行つた。

実験結果

新生児マウスの頭部は軟かく、注射針を任意の場所に刺入することが可能であつた。細切組織泥液 0.005ml ~ 0.01ml を注入すると、一時的に頭部は膨大したが、数時間後には消失し、このような移植操作によつて直接斃死したとみなされる例はなかつた。しかし本実験の成否の第1歩は、このような侵襲を加えられた幼若なマウスをその親マウスが離乳期(生後25日乃至30日)迄授乳し育てうるかどうかにあつた。移植後数日の内に1匹残らず親マウスに喰い尽されてしまう場合も少くなく、dd系に比べてC₃H系では特にそうであつた。

移植後10日迄は宿主の頭部に肉眼的に明確な変化を認めなかつた。これ以後になると、生着した組織は急速に成長増大し、このため頭部は著るしく膨隆した。

宿主の大半の身体発育は不良で、離乳迄に斃死したものが多かった。しかし移植後1ヵ月を生き続けたものでは、それ以上に頭部は膨隆しなかつた。

組織学的検索

(1) 移植後17日から30日迄の標本

肉眼的所見 宿主マウス29匹の全例に胎児体組織が生着し、頭蓋内容の約1/4大を占める腫瘤を形成した。移植は注入によつて行つてゐる為、確実に一定の部位に生着しているとは限らず、脳実質内に局限せるものと、脳表より膨隆して成長し、一方には宿主脳、他方には頭蓋骨を圧排したものがあつた。この腫瘤の断面は不規則な形状と雑多の色調を示した。即ち、帯白色の所、帯黄色の所、囊腫性の所、充実性の所、軟かい所、軟骨様の硬さの所、等が混り合つて、全体として境界の比較的鮮明な腫瘤を形成していた(図1, 図2)。

顕微鏡的所見 三胚葉起原の各種の組織を認めた。(図3, 図1, 図5)。

外胚葉起原: 皮膚及びその附属器, 神経組織。

中胚葉起原: 骨, 軟骨, 横紋筋, 脂肪組織, 骨髄, 各種の間葉性組織。

内胚葉起原: 消化管組織, 肝組織, 副腎皮質様組織。

以上の他明確には起原を決定出来ない種々の組織の生着を認めた。この生着した組織はいづれもそれらが正常の環境にあつて進む方向に成長し分化していた。例えば皮膚組織については移植時即ち胎令12日の皮膚は間葉性組織にうらうちされた単細胞の層であるが、検査時の生着したものは、正常成熟皮膚にみられる多層扁平上皮, 毛嚢, 毛髪, 皮脂腺, 皮下結合織よりなつてゐる如くである。そしてこのように成長しつつある種々の組織が混然とまざり、畸形腫様の組織像を呈した。その宿主脳との境界は結合織によつて明瞭に境されていた(図6)。

(2) 移植後60日から200日迄の標本

肉眼的所見 宿主10匹中生着を認めたものは7匹であつた(60日後3匹, 75日後1匹, 90日後2匹, 200日後1匹)。生着した組織は30日迄のものに比較すると萎縮し、大小の囊腫形成が目立つた(図7, 図10)。

顕微鏡的所見 移植後60日では生着組織はなお正常の組織像を保持し、結合織, 胃組織, 骨, 軟骨組織等が認められた。しかしいづれも程度の差はあるが退行変性を伴つており、75日及び90日後の標本ではそれが一層著明になつた(図8, 図9)。肝組織はいづれの例でも認めなかつた。200日後のものでは一部分に生着

存続せる組織を認めたが、組織の大部分は高度の退行変性を示し、もとの組織が不明であつた(図11)。

考 察

Willis¹⁷⁾ は胎児体或いはその一部を同種移植すると、被移植組織は次の3つの運命のいずれかをとると述べている。①急速且つ完全に吸収される。②数日乃至数週間だけ生着した後吸収される。③成長し分化した各種の組織が一塊となつて長期間生着する。

このような被移植組織の運命を左右するものは動物の種類, 胎令(胎児の成長程度), 移植場所, 宿主の健康状態, 移植方法等であるといわれる。

Ebeling¹⁸⁾ は1914年マウス癌を瘳り潰し、その生理的食塩水浮遊液約0.01mlを成熟マウスの脳内に注入移植すると宿主の82%に生着し、皮下移植の生着率7.3%に比べて脳組織が移植場所としてはるかに好適である事実を明らかにした。Browning¹⁹⁾ は各種のマウス胎児組織片を同種成熟マウスの眼球内に移植して、2, 3の例外を除き胎令13日のものでは、宿主の90%以上に生着すると報告した。これらの実験を考慮して私は、被移植組織に対する抵抗力が未だ微弱であるとみなされる新生児マウスの大脳内に胎令12日の胎児体細切組織泥液の移植を試み、各種の体構成組織をよく生着させる事が出来た。

Willis¹⁸⁾ はラツテ胎児を全体として成熟ラツテの大脳内に移植すると、胎児体の種々の組織が生着し、いづれも正常の方向に成長して、それらの組織の混合よりなる畸形腫様の大きな腫瘤を形成したことを報告しているが、肝組織だけは殆んど生着しなかつたという。彼の実験では胎児肝組織は宿主6匹中1匹のみに生着しただけで、これも移植14日後に痕跡的にとどまつてゐるものに過ぎなかつた。Crouse²⁰⁾ や Browning¹⁹⁾ の実験も肝組織は非常に生着しにくい組織の一つであることを示している。従つて、本実験でも移植後60日以上経たものでは肝組織は消失してしまつていたが、30日迄のものでは例外なく生着し、成長分化しているのを認めた事は特筆すべきであろう。

以上要するに、実験Iによつて胎児神経組織も生着しうること、更に本移植方法が肝組織の生着率からみて非常に好適なものとみなしうることがわかつた。

実験II マウス胎児脳組織の脳内同種移植

実験方法

使用したマウスは京都大学純系動物飼育室のdd系とC₃H系及び京都大学病理学教室のWebster-Swiss系

マウス（表にはWSと略記した）の3系統である。dd系とC₃H系はその系統内で任意に交配し、Webster-Swiss系は兄妹間で交配した。移植はこのようにして得られた胎児と仔マウスの間に行つた。胎児は胎令9日か16日迄のもの、宿主としては主として生後2日迄のものを、少数例で生後3日から8日迄のものを、表1と表3に示したように組合せた。移植手技は実験Iと同一にした。該当する妊娠マウスを頸椎脳臼で屠殺した後、胎児をとり出し、その脳組織を直径0.5mm以下の小片に細切した。この半流動性の胎児脳細切組織泥液0.05ml~0.01mlを宿主の頭頂葉内に注入した。

宿主は移植後14日から順次屠殺した。宿主の最長観察期間は366日であつた。移植後1ヵ月迄の脳標本に以下の固定、包埋、染色のいずれかを行つた。

- (1) 10%中性フォルマリン固定。
 - (i) パラフィン包埋
H. E. 染色, バツプの格子線維鍍銀
 - (ii) 凍結切片 (20 μ)
ビルシヨウスキー神経原線維染色

- (2) 70%アルコール固定。
セロイジン包埋, ニツスル染色
- (3) ブローム・アンモン・フォルマリン固定。

凍結切片(30 μ)、ペンフィールドのグリア鍍銀移植1ヵ月以後のもの及び斃死したもので死後変化の高度でないものには、10%中性フォルマリン固定の後、H. E. 染色を行つた。死後変化の高度なものはすべて捨てた。

実験結果

固定された脳の割面に肉眼的に明確に直径2mm以上の腫瘤を認め、且つ顕微鏡的にそれが神経細胞とグリア細胞より成るものを生着とみなした。

生着した標本について、時日の経過に伴う宿主の変化は、実験Iの場合とほとんど同じであつた。即ち移植の10日目頃から宿主の頭部が膨隆し始め、25日目頃には被移植脳組織は宿主頭蓋内容の約1/4から1/3を占める腫瘤となつたが、離乳後まもなく(移植の約1ヵ月後)この頭部の膨隆の進行は停止した。離乳した宿主の大多数は正常な健康状態にはなく、生着した脳組織の成長が強い宿主では、嗅覚、視覚が高度に障害されているとみなされる例も多かつた。そのために自然死を来しやすく、それらを長期間生育することは容易ではなかつた。しかし長期間観察し得た例のいずれでも、頭部の膨隆は移植約1ヵ月後の状態のままであつた。

脳組織胎令並びに宿主年令が生着率に及ぼす影響を検討するために表1と表3に示すような組合せを行つた。生着率は胎令11日のものを生後3日迄の宿主に移植した場合が最も良く、つづいて12日と13日のものが良好であつた。就中胎令11日の脳組織の生着態度は注目に値した。6群中4群に100%生着をみ、且つ生着組織の増殖(容積の増大)は非常に旺盛であつた。宿主の頭部の膨隆も著明で、その80%は移植1ヵ月以内に斃死した。生着脳組織は移植時の約200倍に達するものもあつた。

胎令9日では殆んど生着せず、15日では27匹中19匹に被移植脳組織の生存を認めたがいずれも直径2mm以下の腫瘤にとどまつた。16日では痕跡すらとどめなかつた。

宿主の生後日数と生着性との関係については、生後3日迄の宿主は被移植組織に対して、ほぼ同じ態度をとるように考えられた。更に胎令11日の脳組織は生後

表 1

| 系統 | 脳組織胎令(日) | 宿主年令(日) | 生着宿主数 / 被移植宿主数 | 生着率 |
|------------------|----------|---------|----------------|--------------|
| dd | 9 | 1 | 1/8 | 1/13, 7.7% |
| dd | 9 | 2 | 0/5 | |
| dd | 10 | 1 | 3/7 | 7/13, 53.8% |
| C ₃ H | 10 | 1~2 | 4/6 | |
| WS | 11 | 12時間 | ◎ 3/3× | 28/31, 90.3% |
| dd | 11 | 1 | 5/5 | |
| dd | 11 | 1 | 3/3 | |
| dd | 11 | 1 | 3/5× | |
| C ₃ H | 11 | 1~2 | 5/6 | |
| C ₃ H | 11 | 1~3 | 9/9 | |
| dd | 12 | 1 | ◎ 5/5× | 15/19, 78.9% |
| dd | 12 | 1 | 3/5 | |
| C ₃ H | 12 | 1 | 3/4× | |
| WS | 12 | 1 | 4/5 | |
| WS | 13 | 1 | ◎ 2/2 | 8/11, 72.7% |
| WS | 13 | 2 | ◎ 2/2× | |
| dd | 13 | 1 | 4/7 | |
| WS | 14 | 1 | 3/5 | 5/13, 38.4% |
| C ₃ H | 14 | 1~2 | 2/5 | |
| WS | 14 | 5 | 0/3 | |
| WS | 15 | 1 | 0/4 | 0% |
| dd | 15 | 1 | 0/8 | |
| dd | 15 | 2 | 0/7 | |
| dd | 15 | 3 | 0/8 | |
| C ₃ H | 16 | 1 | 0/3 | 0% |
| dd | 16 | 1 | 0/8 | |

×印以外は移植後1ヵ月迄に、×印は移植後1ヵ月から3ヵ月迄に屠殺又は斃死した。

◎印：この群の残りは長期間観察を行つた(表2)。

表 2

| 系 統 | 脳組織胎令 (日) | 宿主年令 (日) | 観察期間 (月) | 生着宿主数 / 被移植宿主数 |
|-----|-----------|----------|----------|----------------|
| WS | 11 | 12時間 | 6 | 2/2 |
| dd | 12 | 1 | 6 | 2/3 |
| WS | 13 | 1 | 9 | 1/2 |
| | | | 1年 | 1/2 |
| WS | 13 | 2 | 6 | 1/2 |
| | | | 8 | 0/1 |

表 3

| 系 統 | 脳組織胎令 (日) | 宿主年令 (日) | 生着宿主数 / 被移植宿主数 | 生着率 |
|------------------|-----------|----------|----------------|--------------|
| dd | 11 | 8 | 5/7 | 10/15, 66.7% |
| dd | 11 | 8 | 5/8 | |
| WS | 11 | 1 皮下移植 | 0/9 | 0 % |
| C ₃ H | 14 | 1~2 皮下移植 | 0/5 | |
| C ₃ H | 16 | 1 皮下移植 | 0/3 | |
| dd | 13小脳 | 1 | 0/8 | 0 % |

8日の宿主に対しても良好な生着性を示した(表3)。

胎令11日, 14日, 16日の脳組織を生後2日迄の仔マウス皮下に同種移植したが, 全例で生着せず, 又胎令13日の小脳組織のみを生後1日の宿主大脳内に移植したが, これも全例に生着しなかつた(表3)。

移植後6ヵ月以上観察した宿主については表2に一括した。

組織学的検索

(1) 移植胎児の脳, 胎令12日

胎児は頂尾長約8mm, その脳組織はかなりよく発育分化している。神経管は全般にわたって閉鎖し, 終脳間脳, 中脳, 上脳, 髄脳の5部の区劃が判然としている。神経管壁は密に配列した多層の未分化な神経上皮からなる(図14)。

(2) 生着脳組織

(i) 移植後20日から30日迄の標本, 58匹

肉眼的所見 生着した脳組織は宿主のそれに比べやや帯白色, 軟であり, 両者の境界は鮮明であつた。全体として宿主脳を圧排しながら成長増大した実質性の腫瘤を形成していた。生着脳組織内には出血部位や異常な色調をとるところはなかつた。腫瘤の大きさは平均直径5mm大で, 大きいものでは7mmに達した。生着した部位は実験Iと同じく脳実質内に局限せるものと, 脳表より膨隆して成長したものがあつた(図12, 図13)。

顕微鏡的所見 生着した脳組織に最も特徴的な所見はその細胞配列と密度が不規則という点であつた(図

17)。標本によつては一部に一定の方向性を持つ細胞配列をみるところもあつたがこのようなのは例外的であつた。従つて一定の細胞配列と密度を示す宿主脳皮質とは容易に区別する事が出来た。生着した組織は主として神経細胞とグリア細胞から構成された。個々の神経細胞は正常の形態と神経突起を有し, ビルショウスキー染色でも正常の神経原線維を認めた。グリア細胞もペンフィールド染色によれば正常の形態を示した(図18, 図19, 図20)。

パツプの格子線維鍍銀で生着脳組織を小葉に区劃するように走る結合織性の要素を認めた例もあつたが, これは同時に生着した間葉成分で宿主脳との境界には特に発育した格子線維や結合織は認めなかつた。生着脳組織の内部或いは宿主脳との境界には, 円形細胞浸潤壊死, 出血等の組織反応所見はなく, 又生着脳組織を構成する諸要素が周囲の宿主脳内に積極的に浸潤しているところもなかつた。両者の境界は比較的明瞭であつた(図15, 図16)。

このように生着した脳組織の神経細胞もグリア細胞も充分に分化した形態をとり, 同じ年令の正常マウス脳組織にみられるものと同じであつた。小脳組織と判断される組織並びに成長分化の遅れたとみなされる細胞集団は認めなかつた。

脳組織に混つて他の種々の組織が混入生着した例も少くなく, この場合混入した組織は生着脳組織の中だけに一塊をなして限局して発育していたが, 横紋筋細胞のみは生着脳組織内に散在し, 更にそれを越えて宿主脳組織内にまで浸潤するような態度で侵入している部分が時に認められた(図21, 図22)。

(ii) 移植3ヵ月後の標本, 11匹

肉眼的所見 9匹は1ヵ月迄のものと同じ大きさ, 形態, 性状を示した(図23)。2匹では生着脳組織内に囊腫性の部分が散在し萎縮傾向が著明であつた。

顕微鏡的所見 個々の細胞及びその配列については1ヵ月迄のものとはほぼ同じであつたが, 生着脳組織には所々, 石灰沈着, 血管周囲円形細胞浸潤, Gliosis(主としてAstrocyteの増殖), 等を認めた。しかし壊死組織や未分化細胞集団は認めなかつた(図24)。

(iii) 移植後6ヵ月から9ヵ月迄の標本, 6匹

肉眼的所見 移植1ヵ月後と同じ状態を保持しつづけるものと, 囊腫性変性を伴い著しく萎縮したものがあつた(図25, 図27)。

顕微鏡的所見 肉眼的に萎縮の著明な例では組織学的にも石灰沈着, 血管周囲円形細胞浸潤, 神経細胞の

染色性の変化, 等が認められこれらの退行変性像は移植3ヵ月後のものより一層高度であつた。しかし肉眼的に萎縮傾向の軽度な例ではこれら退行変性像を少ししか認めず, 生着脳組織は不規則な細胞配列と密度の点を除けば, 宿主脳皮質と同じ所見であつた(図26, 図28, 図29, 図30)。

(iv) 移植366日目の標本, 2匹

肉眼的所見 1例は平均直径約4mm(図31), 他の1例に約1mmの腫瘤を認めたが, 移植9ヵ月目のものと特に異なる所はなかつた。

顕微鏡的所見 移植6ヵ月から9ヵ月迄に検討した標本の内, 萎縮の軽度なものと特に異なる所はなく, 細胞要素の多くが宿主脳組織と同一の形態と染色性を有していた。しかし場所によつては高度の退行変性を伴う部分もあつた。1例では生着脳組織内に比較的大きい血管がよく発達していたが, それらの周囲には円形細胞浸潤は少ししか認めなかつた(図32)。

考 察

本実験に示されたように, 非常に高率に胎児脳組織を生着させ, 且つ366日にわたる長期間の生着に成功した同種移植実験の報告はない。この成功の要因として次の4点を挙げる事が出来る。①一定の未熟度の胎児脳組織を使用したこと。②大脳内移植。③幼若な宿主に移植したこと。④比較的近親関係にある宿主と胎児間で移植を行つたこと。

Willis¹⁷⁾はラツテ胎児の各種の組織又は器管を成熟ラツテの大脳内に移植したところ, 体長1.5cmから2.0cmの胎児の組織が他の体長の胎児よりも特によく生着し成長分化した。其他の報告^{14) 18) 19)}も胎児組織が生着し易いのは一定の成熟段階のものに限られ, その範囲を越えて未熟すぎても又成熟し過ぎてもその生着性は著るしく低下することを示している。Willis¹⁸⁾は更に1ヶの胎児体を細切せずにそのまま全体として移植した場合に, 生着している胎児体を構成する種々の組織の発育に優劣があることから, 同一胎児のすべての組織が同じ程度の生着性を有しない事実を指摘した。Browning¹⁾は各種のマウス胎児組織片を別々に眼球内に同種移植してこの問題を検討した。彼によれば最も良く発育し, 且つ宿主の100%に生着しえたのは, 皮膚, 顎下腺, 脾, 回腸の各組織では胎令16日のもの, 肺や胃組織では13日のものであつた。大脳組織は胎令13日の方が16日のものよりはるかに良く生着したが, 宿主の100%に生着した群はなかつた。それで緒言に述べた第1の目的を達成するためには先づ, 本実

験方法のもとでは胎令何日の脳組織が最良の生着成績を示すかを知る必要があつた。従つてこのBrowningの実験結果を参考にして表1に示したような組合せで移植を行い, 胎令11日から13日迄のマウス脳組織がよく生着し, 特に胎令11日のものは100%に生着する群があることがわかつた。

Ebeling⁶⁾が1914年をはじめマウス癌の脳内同種移植に成功して以来, 脳組織はそこに移植された組織の成長に好適な環境があるとみなされ, 悪性腫瘍や胎児組織の脳内移植実験は数多く報告されてきた。その特徴的な所見は, 脳以外の移植部位にみられる線維芽細胞性乃至白血球性反応が出現しないか, 或いは軽微である点である³⁾。本実験例でも生着脳組織の成長が最も旺盛な時期—移植の1ヵ月迄—のものには宿主脳との境界や生着脳組織内に, 壊死組織, 線維芽細胞増殖, 円形細胞浸潤等は全く認められなかつた。これらの反応性変化は, 被移植組織の退行変性に対する宿主のResponseであると考えられるので¹¹⁾, その欠除は幼若宿主の脳組織が元来かかる反応を起し難いことを示しているものに他ならない。

一般に宿主組織が被移植組織に対して示す抵抗性は宿主が幼若であればある程微弱である。この問題は主として異種移植実験で追求され, 移植の困難な組織を幼若な宿主に移植してはじめて生着しえたという報告はこの事実に着目したものである。Patti等¹⁴⁾によればmouse sarcoma 180をラツテ新生児の腹腔内に異種移植すると, 生後12時間から48時間迄のラツテ新生児に移植した場合に全例に強い腫瘍の増殖があり, 宿主は7日から13日目に斃死したが, 生後3日の宿主の場合には腫瘍死するものとそうでないものとがあつたという。同種移植実験ではCrouse⁴⁾やLoefer¹²⁾等の報告がある。Crouseはラツテ胎児胃組織の脳内同種移植で宿主が生後7日の場合87.5%に生着したが, 90日になると33.3%に低下したと述べ, Loefer等はラツテ線維肉腫の皮下同種移植で, 生後1日~13日の宿主で56.5%生着したものが, 14日乃至26日では29.4%にとどまつたと報告している。いずれの報告も被移植組織に対する抵抗性は同種移植の場合にも宿主の年令と共に増大する事を認めてはいるが, 生後7日迄の幼若な宿主については充分には検討していない。彼等の報告では最高の生着率が90%以下であること, 本実験では生後1日から2日迄の宿主に100%の生着率を示す群があつた事, 最も生着性に富む胎令11日の脳組織を生後8日の宿主に移植するとその生着成績がやや低下した事

から、同種移植に於ても生後1日乃至2日の宿主では生後7日前後のものより良好な生着率を期待してよいものと考えられる。

純系動物間で行われる同種移植では、遺伝学的により隔つた個体間でなされる移植の場合に比較して、宿主の反応が少く、被移植組織もはるかに長期間生着し、更に厳密な兄妹交配によつて維持された純系動物間の同種移植は自家移植と区別出来ないほどよく生着することがあるといわれる¹⁹⁾。本実験で使用したマウスの中でC₃H系は純系マウスであるが、兄妹交配によつて維持されたものではない。dd系とWebster-Swiss系は雑系マウスで、後者のみは兄妹交配により数世代維持したものをを用いた。即ちdd系を除いて比較的近親関係にあるマウスを使用したとはいえ、この実験の意味する同種移植は自家移植にはほど遠いのである。しかしそれにも拘らず366日という長期間生着例をみた事は特筆されてよいであろう。

Clark²⁾は幼少家兎の脳内に胎児家兎の脳皮質組織片を移植したところ、移植された後もそのNeuroblastは更に成長分化し成熟神経細胞になると共にそれ等が組織化する(organize)傾向を示したと報告した。このように生着し成長分化した脳組織は、眼球内に同種移植されたものであるが、Browning¹⁾の実験では、移植後30日前後に最大の発育を示すがまもなく停止し其後2ヶ月間は安定して生着しつづけている。又May¹³⁾はマウス新生児脳組織をラットの前眼房内に異種移植して少くとも6ヶ月間は生着しつづけたと報告している。一般に眼球(前眼房)内や脳内の移植は皮下や他の部位の移植よりも成績がよい。更に脳と眼球とを比較すると脳の方が一層まさるともいわれる。Eichwald⁷⁾は脳内に移植された腫瘍が前眼房内に於けるより良好な成長を示し、宿主を斃すが前眼房内に移植されると度々腫瘍の退行がおこると述べている。既に述べたように同種移植は使用動物の純度を高めることによつて自家移植とほぼ同じ成績にまで達することが出来る。実験Iでは胎児体の殆んど組織が6ヶ月以内に変性しているにも拘らず、実験IIの脳組織のあるものは366日の長きにわたり生着しつづけて、組織変化も3ヶ月後のものとの間に大差がみられなかつた事と、この期間がマウスの半生以上に相当する事から、もし自家移植に近い条件で脳内同種移植が行われるならば、脳組織の終生生着も可能になるかもしれない。

実験結果に示したように胎令11日の被移植脳組織の

成長は非常に旺盛であつた。しかしこれは組織学的にはあくまで正常細胞により構成され、周囲の宿主脳に対し積極的に浸潤性のところはどこにもなかつた。Dameron⁵⁾の実験でも、家兎胎児の内分泌組織が前眼房内に移植されて、移植時の300倍から1000倍にもなつたが、なお正常の組織像であり、Toolan¹⁵⁾も予めコチゾン投与加レ線照射を受けた宿主では、被移植正常組織が異常に強く増殖する(proliferate)ことを指摘しつつ、これが組織の悪性(malignancy)とは別の現象であると述べている。本実験例で幼若な横紋筋細胞が宿主脳内に浸潤するような態度で侵入している所見があり、全く同一の事をWillis¹⁸⁾も指摘しているが、この原因については今後の検討に待たねばならない。

Greene¹⁰⁾は前眼房内に同種移植された家兎胎児の皮膚組織が正常よりはるかに早い速度で分化し成長したと報告しているが、本実験の生着脳組織も正常のそれとは何等かの点で異つた態度で発育することは充分考えられる。しかし移植1ヵ月を過ぎた宿主脳ではその後それ以上に膨隆することはなく又それ以後は生着脳組織も組織学的に諸退行変性像を伴つてくるようになり、これらは時日の経過と共に漸次著明となる。即ち強い成長力を有した生着脳組織も移植後1ヵ月頃には発育を停止すると考えられるのである。そしてこの1ヵ月という時期は正常の脳組織が形態学的にほぼ成熟する時期にも一致する点から、移植された脳組織が自律性を有しているのは、その組織化と分化を完了する時期迄で成熟を完了した組織はその状態に停止しているか、又は漸次退行して行くのであろう。ただ一時的にせよ生着した胎児脳組織が非常に旺盛に成長して行くことは、この状態にある未熟脳組織に何等かの操作、例えば発癌的操作を加えれば、成熟脳組織に対して同様の操作を行うよりも容易に、永久的な自律性を獲得せしめうるのではないかと予想させるのである。

総括並びに結論

(I) 胎令12日のマウス胎児体頸部以下の組織を細切し、生後24時間以内の新生児マウスの脳内に同種移植して移植組織の生着状態を検討した。

(1) 宿主の頭部は移植の約10日後より膨隆し始めた。生着組織は約1ヵ月後には頭蓋内容の約1/4大を占める腫瘍となつた。この腫瘍は成長分化した各種の組織の混合からなり、その中に神経組織を確認することが出来た。移植後1ヵ月迄の標本全例に肝組織の生着を認めた。

(2) 生着組織の成長は移植後1ヵ月でほぼ停止し、漸次退行変性が著明となり、6ヵ月後には殆んどの生着組織は高度の退行変性を示した。

(II) マウス胎児脳組織のみを取出して細切し、仔マウスの大脳内に同種移植して、生着した組織の生物学的態度と運命を検討した。

(1) 胎令11日から13日迄の脳組織を生後12時間から2日迄の仔マウスの大脳内に移植すると、宿主の70%以上に生着し且つ成長した。就中胎令11日のものは最も良好な成績を示し、6群中4群で100%に生着した。

(2) 生着脳組織の発育は非常に旺盛で、そのために離乳期迄に死亡する宿主も少くなかった。移植後30日迄に生着脳組織は宿主頭蓋内容の約1/4から1/3大を占める腫瘤となつた。しかしどのような場合にも被移植脳組織の発育は移植後約1ヵ月で停止し、この後は時日の経過と共に退行するか、又は成長を停止した状態のままで生着しつづけるだけであつた。

(3) 生着した脳組織は組織学的に細胞配列が無秩序である事を除けば、正常とかわらなかつた。即ち正常の神経細胞、神経線維、グリア細胞、グリア線維より構成された。移植後3ヵ月を過ぎると多くのもので、Gliosis、血管周囲円形細胞浸潤、石灰沈着、等の退行変性像が現われた。移植後6ヵ月から9ヵ月を経たものでは、このような退行変性像が一層著明になつたものと、それらを少ししか伴わず安定して生着しつづけるものがあつた。移植の366日後に検討した2匹の標本では共に脳組織の生着を確認しえた。

本実験の要旨は第2回(昭和37年)日本先天異常学会に於て発表した。

本研究は文部省総合研究「先天異常の発現を左右する条件」の分担課題として助成金を受けた。

稿を終るにあたり、御指導と御教示を賜つた恩師荒木千里教授、また本研究の遂行に暖かき御鞭撻と御指導を戴いた景山直樹講師、に深甚の謝意を捧げます。又マウスの飼育にあたり御教示と御援助を賜つた解剖学教室第Ⅲ講座西村秀雄教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) Browning, H. C. : Homologous and heterologous growth of transplants of various tissues during the course of development. *Cancer*, 2, 646, 1949.
- 2) Clark, W. E. LeGros : Neuronal differentiation in implanted foetal cortical tissue. *J. Neurol. Psychiat.*, 3, 263, 1940.
- 3) Crouse, G. S. : Differentiation of intracerebral implants of rudiments from rat and mouse embryos in young rats. *Anat. Rec.*, 126, 369, 1956.
- 4) Crouse, G. S. : The effect of variation in the age of the donor on homologous grafts into the brain of the rat. *Anat. Rec.*, 133, 215, 1959.
- 5) Dameron, J. T. : Homologous transplantation of fetal endocrine tissue to adult nonrelated host. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, N. Y., 73, 343, 1950.
- 6) Ebeling, E. : Experimentelle Gehirntumoren bei Mäusen. *Z. Krebsforsch.*, 14, 151, 1914.
- 7) Eichwald, E. J., et al. : Immunity to tumor transplanted in the brain of heterologous host. *Amer. J. Path.*, 28, 557, 1952.
- 8) Fawcett, D. W., et al. : The development of mouse ova in the anterior chamber of the eye and in the abdominal cavity. *Amer. J. Anat.*, 81, 413, 1947.
- 9) Glees, P. : The differentiation of the brain and other tissues in an implanted portion of an embryo head. *J. Anat. (Lond.)*, 75, 239, 1941.
- 10) Greene, H. S. N. : The heterologous transplantation of embryonic mammalian tissues. *Cancer Research*, 3, 809, 1943.
- 11) Harris, M. : The role of humoral antagonism in heteroplastic transplantation in mammals. *J. Exp. Zool.*, 93, 131, 1943.
- 12) Loefer, J. B. and Gilles, N. G. : Incidence of a transplanted rat fibrosarcoma relative to age of the host. *Cancer*, 4, 1259, 1951.
- 13) May, R. M. : La greffe dans l'oeil de rat blanc adulte du tissu cérébral de rat nouveau-né. *Arch. Anat. Micro. Par.*, 26, 433, 1930.
- 14) Patti, J., and Moore, A. E. : Heterologous growth of sarcoma 180 with progression to death of hosts. *Cancer Research*, 10, 674, 1950.
- 15) Toolan, H. W. : The potentialities of normal cells implanted in cortisonized and/or X-irradiated host. *Cancer Research*, 17, 248, 1957.
- 16) Waterman, A. J. : The differentiation of entire young rabbit embryo in omental grafts. *Amer. J. Anat.*, 54, 347, 1934.
- 17) Willis, R. A. : Experiments on the intracerebral implantation of embryo tissues in rats. *Proc. Roy. Soc. Lond. (B)*, 117, 400, 1935.
- 18) Willis, R. A. : The growth of young embryos transplanted whole into the brain in rats. *J. Path. Bact.*, 76, 337, 1958.
- 19) Woodruff, M. A. F. : The transplantation of tissues and organs. Charles C Thomas Pub., Springfield, Illinois, 1960.



図1 移植1ヵ月後の宿主脳(上)と正常対照脳(下). 前額断面



図2 移植1ヵ月後の宿主脳. 前額断面

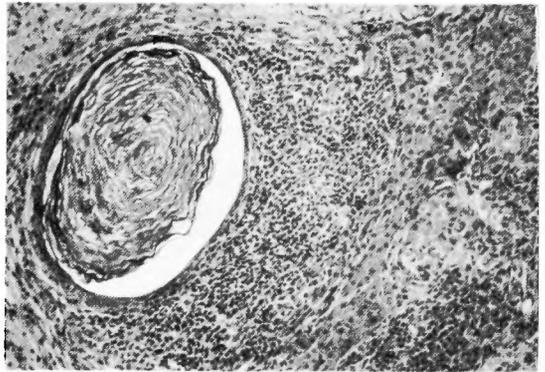


図3 移植1ヵ月後の皮膚組織と肝組織.
H. E. 染色 ×100

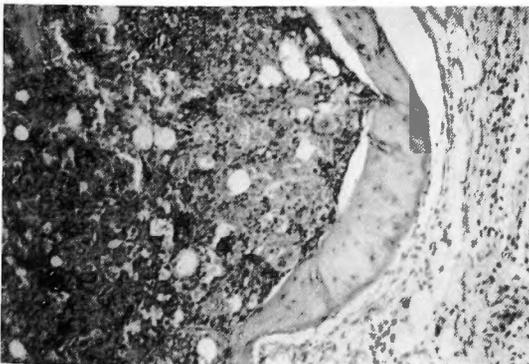


図4 移植1ヵ月後の骨髄組織と骨組織.
H. E. 染色 ×100

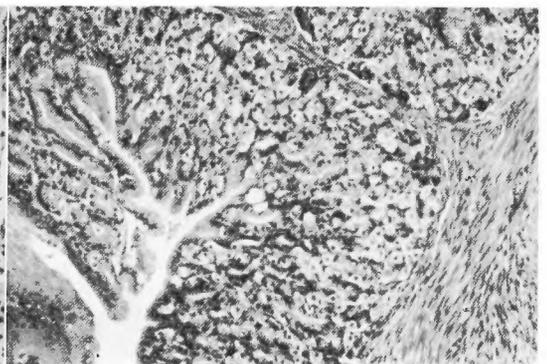


図5 移植1ヵ月後の胃組織.
H. E. 染色 ×100

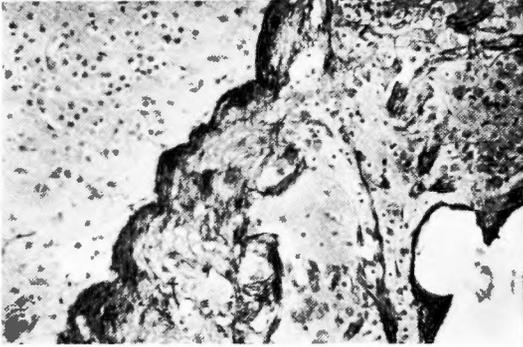


図6 移植1ヵ月後の宿主脳(左半)と生着組織(右半). 境界は鮮明である.
 パツプの格子線維鍍銀 ×100

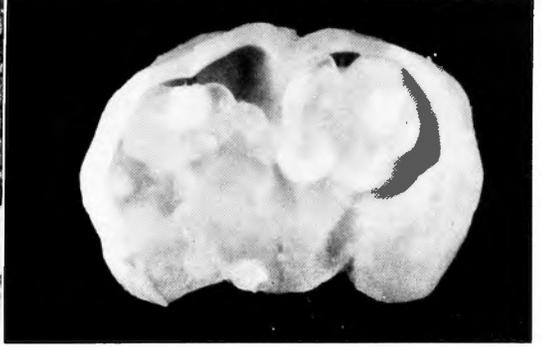


図7 移植75日後の宿主脳. 前額断面

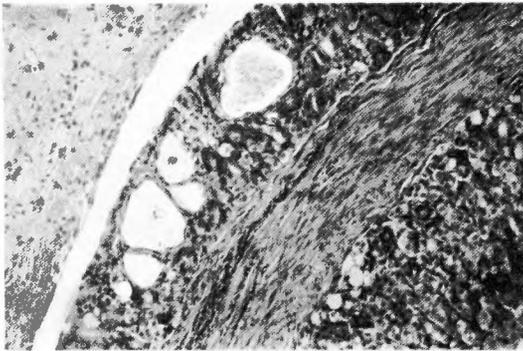


図8 移植75日後の胃組織.
 H. E. 染色 ×100

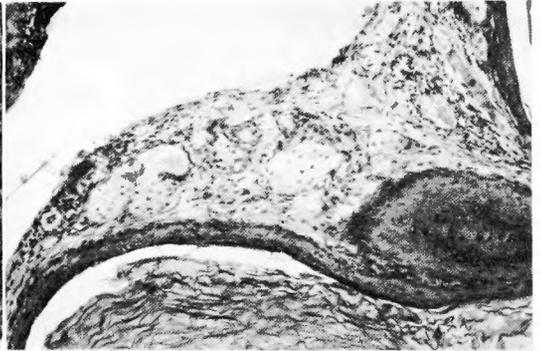


図9 移植75日後の皮膚組織.
 H. E. 染色 ×100



図10 移植200日後の宿主脳. 前額断面

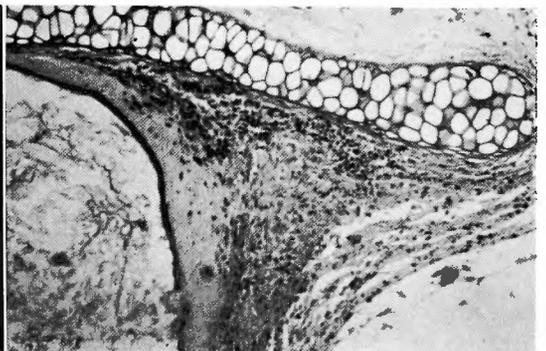


図11 移植200日後, 退行変性を示す生着組織.
 H. E. 染色 ×100



図12 移植1ヵ月後の宿主脳(上)と正常対照脳(下). 前額断面



図13 移植1ヵ月後の宿主脳. 前額断面

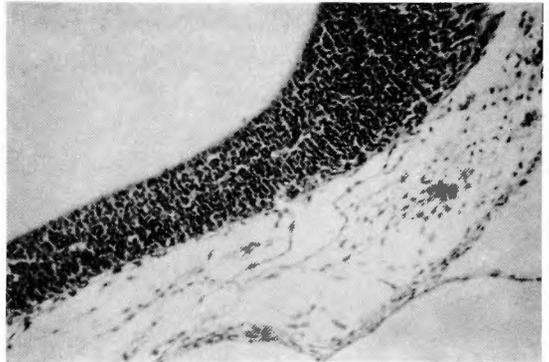


図14 胎児(胎令12日)の脳組織.
H. E. 染色 ×100

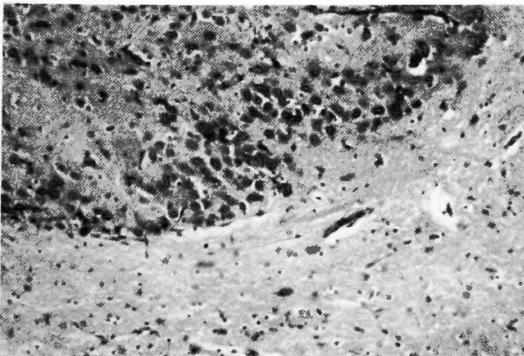


図15 移植1ヵ月後の生着脳組織(上半)と宿主脳組織(下半). H. E. 染色 ×100

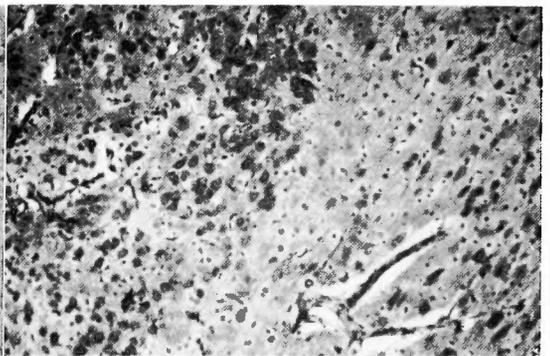


図16 移植1ヵ月後の生着脳組織(左半)と宿主脳組織(右半). 境界には反応性の結合織増殖を認めない.
バツブの格子線維銀鍍 ×100

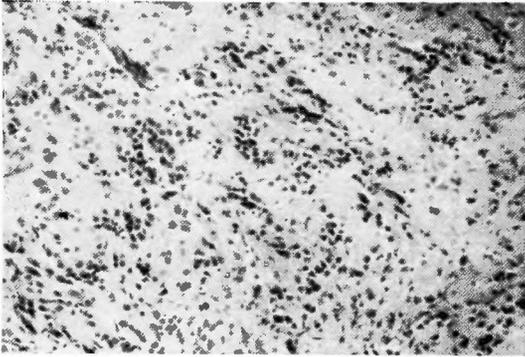


図17 移植1ヵ月後の生着脳組織。無秩序な細胞配列。 H. E. 染色 ×100

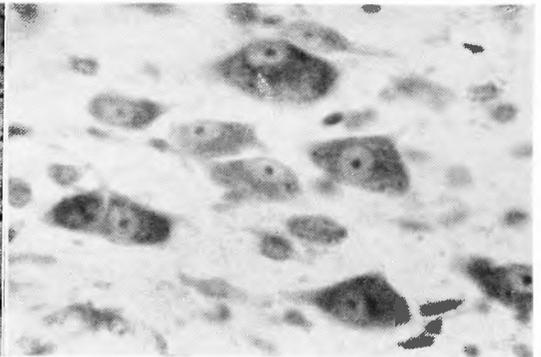


図18 移植1ヵ月後の神経細胞。ニッスル染色 ×400

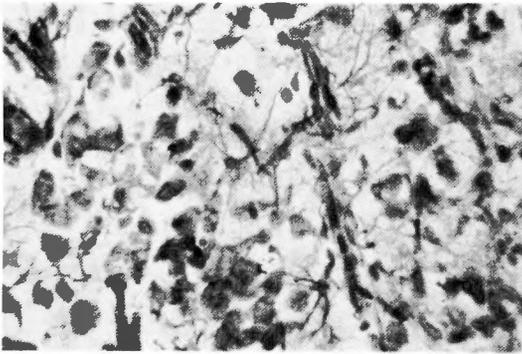


図19 移植1ヵ月後の生着脳組織。グリア細胞。ペンフィールドのグリア鍍銀 ×400

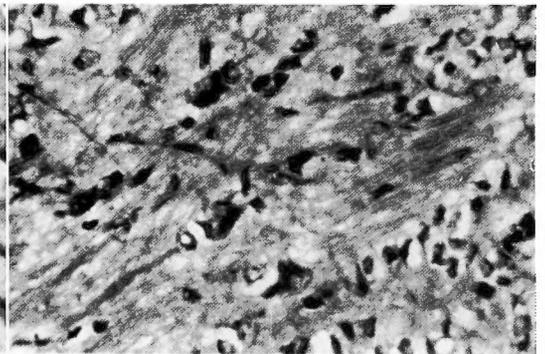


図20 移植1ヵ月後の生着脳組織。神経原線維。ビルショウスキー神経原線維染色 ×400

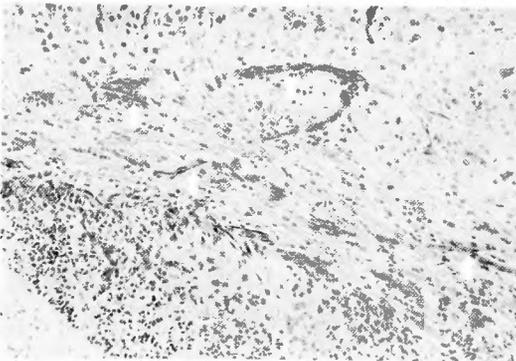


図21 宿主脳組織内に侵入している横紋筋細胞(↑印)。 H. E. 染色 ×100

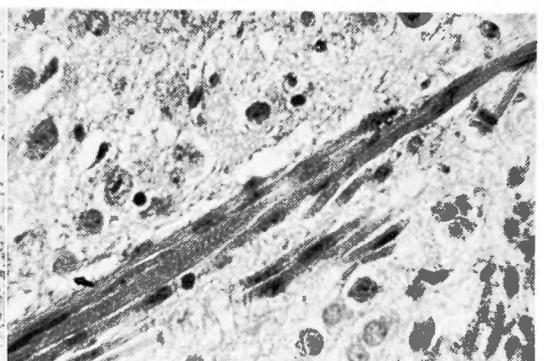


図22 図21の驗拡大。 H. E. 染色 ×400



図23 移植3ヵ月後の宿主脳. 前額断面

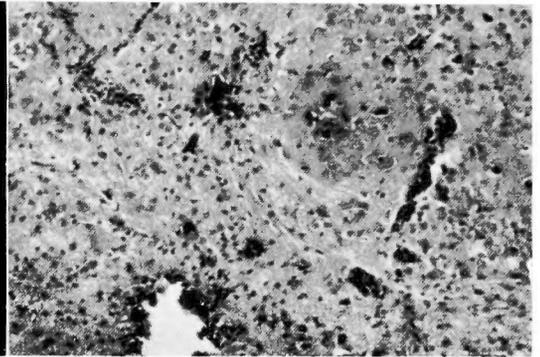


図24 移植3ヵ月後の生着脳組織. 石灰沈着と
円形細胞浸潤. H. E. 染色 ×100



図25 移植6ヵ月後の宿主脳. 前額断面

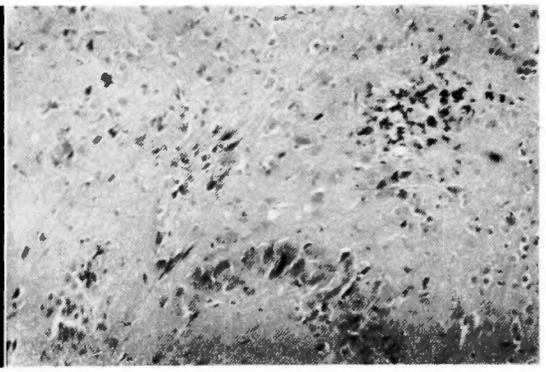


図26 移植6ヵ月後の生着脳組織.
H. E. 染色 ×100



図27 移植9ヵ月後の宿主脳. 前額断面

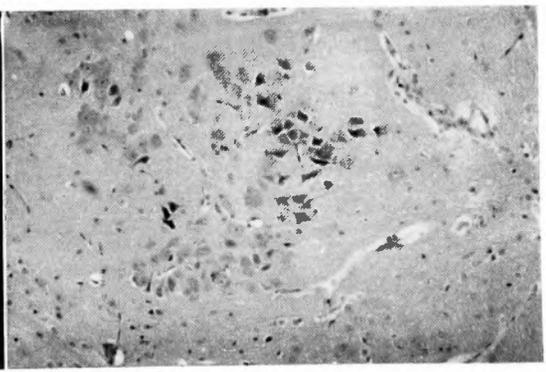


図28 移植9ヵ月後の生着脳組織.
H. E. 染色 ×100

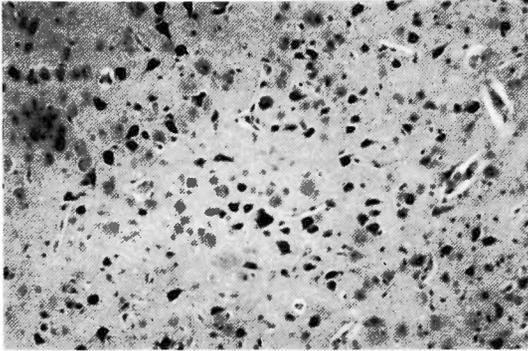


図29 移植9ヵ月後の生着脳組織。
H. E. 染色 ×100

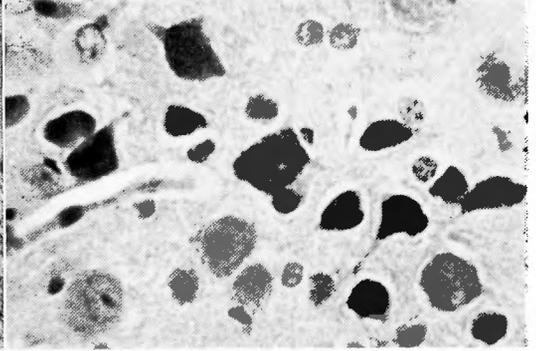


図30 図29の強拡大。 H. E. 染色 ×400



図31 移植366日後の宿主脳、前額断面

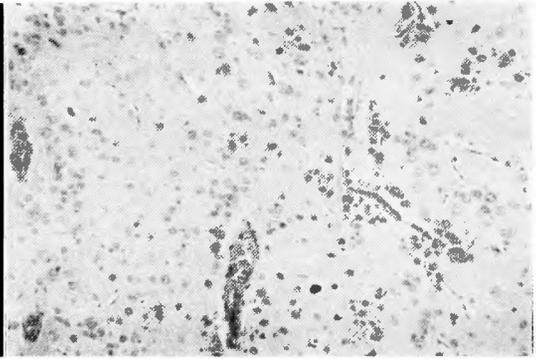


図32 移植366日後の生着脳組織、比較的大きい血管に富む。
H. E. 染色 ×100