

METHYLCHOLANTHRENE の辜丸内注射による 実験的精蟲腫発生の可能性について

京都大学医学部外科学教室第1講座（指導：荒木千里教授）

中 村 善 治 郎

〔原稿受付 昭和33年3月26日〕

ON POSSIBILITY OF INDUCTION OF SEMINOMA IN EXPERIMENTAL ANIMALS BY INTRATESTICULAR INJECTION OF METHYLCHOLANTHRENE

by

ZENJIRO NAKAMURA

From the 1st Surgical Division, Kyoto University Medical School

(Director: Prof. Dr. CHISATO ARAKI)

It is very rarely the case that testis tumors occur spontaneously in animals. Most of the naturally developing testis tumors, which have been reported, are those found in dogs.

Experimentally, MICHALOWSKY, BAGG et al. induced a testis teratoma in domestic fowls by the intratesticular injection of the zinc chloride solution. Also BONSER, HOOKER, Gardner et al. had the interstitial cell tumor induced in rats by the administration of oestrogen. About an experimentally induced seminoma in animals, however, there has been no report published, except the one by CHAMPY et al. that they found a seminoma developed in a domestic fowl after a partial resection of the testis. WILLIS, giving various kinds of chemical and mechanical injuries to the testis of animals, intended to induce a seminoma or a teratoma experimentally, but his attempt ended fruitlessly. On the testis tumor of human patients, a good many studies were made. Some considered that its pathogenesis was connected with sexual functions, and others referred its cause to trauma, infection or congenital endocrine disturbances. In spite of these opinions of variety, no decisive explanation has yet been settled. But a generally prevailing view is that the occurrence of testis tumors might have something to do with the hormones to a certain extent.

In the present study, however, no particular consideration was taken for the hormonal factor. Instead, we tried to examine the possibility of induction of testis tumors, especially seminoma, only by the intratesticular injection of methylcholanthrene in experimental animals.

1% methylcholanthrene-lard solution was injected intratesticularly to young adult hybrid rats, rabbits and guinea pigs. After a different period of interval, the animals were sacrificed and the histological study was carried out.

Table 1 Weight of testes and accessory sexual organs (prostate and vesicula seminalis) of methylcholanthrene-injected rats ;

Experimental Period, (Mo.)	No. of Rats	Terminal Body Weight, (Gm)	Testes Weight (Mg)	Accessory Sex. Organs Weight (Mg)	Testes Weight Mg/Gm Term. B. Weight	Acc. S. O. Weight Mg/Gm Term. B. Weight
2	3	180	1280	1460	7.11	8.11
3	2	310	1145	2675	3.69	8.62
4	4	215	1150	1710	5.34	7.95
5	5	210	1095	1780	5.21	8.47
6	4	235	1330	1810	5.65	7.70

Table 2 Weight of testes and accessory sexual organs of control rats ;

Experimental Period, (Mo.)	No. of Rats	Terminal Body Weight, (Gm)	Testes Weight (Mg)	Accessory Sex. Organs Weight (Mg)	Testes Weight Mg/Gm Ter. B. Weight	Acc. S. O. Weight Mg/Gm Term. B. Weight
2	2	175	1550	1100	8.85	6.28
3	1	190	1870	2150	9.84	11.31
4	4	260	1705	2470	6.55	9.42
5	2	190	1265	1760	6.65	9.26
6	2	240	1480	2430	6.11	10.12

(1) Rats: Thirty-five rats were injected with 0.05cc of the 1 % m. c.-lard solution (m. c. 0.5mg) in the bilateral testes (m. c. group). Fifteen were injected with 0.05 cc of the lard solution only in the same manner (control group). 2, 3, 4, 5 and 6 months after the inoculation, all animals were sacrificed. About a half of rats in the m. c. group died within the first 2 months, while in the control group only 2 died within the same period. Weight of the testes and the accessory sexual organs of rats in each group, and the ratio of the weight of these organs to the body weight are shown in Tables 1 and 2. The weight of the testis in the m. c. group seemed to be somewhat smaller than that in the control group. As is shown in the tables, in the m. c. group it decreased rapidly after 3 months, while in the control group a slight decrease in the weight was noticed after 4 months. Thereafter, no increase of the testis weight was observed in both groups within 6 months of the experimental period.

On cutting the testis, the region in which the solution had been inoculated discolored in yellowish-brown, and a normal appearance of the testicular tissue was lost in this area.

Microscopic Findings:

(i) Testis of rats in the m. c. group

The histological sections taken after an interval of one month, revealed an extensive necrosis of the testicular tissue at the site of injection. Around the necrotic area the seminiferous tubules atrophied intensely, and in some of them only the SERTOLI's cells remained. Around the necrosis the granulation tissue developed and considerable number of inflammatory cells infiltrated within it (Figs. 1 and 2). 2 months after the injection the microscopic preparations revealed a similar necrosis

and atrophy of the seminiferous tubules and a proliferation of the granulation tissue with an appearance of chronic inflammation was also noticed. Beside these, the mast cells with fine protoplasmic granules and the newly formed capillary vessels appeared (Figs. 5 and 6). The preparation of 3 months interval had almost the same findings as those in the preparation after 2 months, but a small number of foreign body giant cells were found (Figs. 8 and 9). In the preparations after 4 to 6 months, the similar necrosis and atrophy of the seminiferous tubules were still observable, and an increase of the connective tissues was seen. But, around the necrotic areas morphologically normal looking epithelium of the seminiferous tubules began to appear (Figs. 11, 12 and 14).

(ii) Testis of rats in the control group

The testis of rats in the control group revealed almost the same microscopic pictures as those in the m. c. group, but injuries of the seminiferous tubules in the vicinity of the necrotic tissue recovered earlier than in the m. c. group (Figs. 3, 4, 7, 10, 13 and 15).

(2) Rabbits: Ten rabbits were injected with 0.1cc of the 1% m. c.-lard solution (m. c. 1.0 mg) into the right testis and with 0.1cc of the lard solution only into the left testis. There was observed almost no difference either in external appearance or in weight of the testis between two sides. Also in rabbits, as was the case in rats, the necrosis and the atrophy of the seminiferous tubules in the regions which had been inoculated with either solution, and the proliferation of the connective tissue with an appearance of the chronic inflammation around the necrosis were seen. But the degree of injuries were somewhat less conspicuous than that in rats, and even right around the necrotic tissue most of the seminiferous tubules showed the almost normal appearance microscopically (Figs. 17 and 18).

(3) Guinea pigs: Ten guinea pigs were injected with 0.1 cc of the 1% m. c.-lard solution in the right testis and with 0.1 cc of the lard solution only in the left testis. The necrotic tissue absorbed early and a number of cysts were formed. In the both testes of an animal, which had survived for 385 days, no abnormal findings were observed except the formation of the cysts (Figs. 16, 19 and 20).

Summarizing these results, in rats and rabbits the testis injected either with the m. c.-lard solution or with the lard solution only, underwent a nonspecific inflammation in the circumference of the necrosis which gradually shifted to the chronic one, with a proliferation of the dense connective tissue. In the guinea pigs, however, no change of the seminiferous tubules and of the interstitial tissue occurred, and an only persistently remaining change was the cysts formation. The severest injuries of the testis were observed in rats. No malignant proliferation of the epithelial cells of the seminiferous tubules was found in any cases.

It seems extremely difficult to induce malignant tumors of the testis only with the use of carcinogenic hydrocarbons.

Still, we can hardly conclude that even if a carcinogenic agent will be added with some other promoting factors, testis tumors will not be induced by any possibility.

Concerning the process of carcinogenesis Rous et al. described an initiating and promoting process, Mottram assumed two factors, i. e. a sensitizing factor with specific cellular reaction, and a developing factor and Berenblum assumed a pre-carcinogenic and epicarcinogenic action. Following these hypotheses, if the epithelial cells of the seminiferous tubules might be sensitized to become latent tumor cells by contact with the inoculated carcinogen, the following procedures might serve as the promoting factors in inducing the testis tumors, especially seminoma.

(a) May the pituitary gonadotropin act as a promoting factor in the seminoma induction ?

(b) Will the continuous administration of a small dose of androgen for a considerable period promote the tumor induction ?

(c) Does not the animal with congenital cryptorchidism have any potentiality toward the development of the testis tumor ?

(d) Can not the injection of the serum of animals which underwent a partial resection of the testis or the administration of the testis homogenate promote the tumor induction ?

(e) How about the simultaneous application of X-ray as a promoting factor ?

結 言

(1) 自然発生睪丸腫瘍 :

実験動物に睪丸腫瘍の自然発生を見ることは極めて稀である。1942年に Innes は動物睪丸腫瘍の総括的な研究報告の中で犬、馬、牛に発生した seminoma の記載を行つている。犬では各種の睪丸腫瘍の発生が見られ、seminoma の他に Leydig 細胞腫瘍や Sertoli 細胞腫瘍が見られる。文献に現われた動物睪丸腫瘍を整理して気付かれることは、腫瘍が自然発生したものであると又実験的に発生したのものであると問わず、腫瘍の発現形式に動物による差があると云うことである。例えばマウス、ラットでは大部分が間質細胞腫瘍であり、馬や鶏では畸形腫の形式をとつて現われて来ることが多い。

(2) 実験的睪丸腫瘍 :

Michalowsky (1926, 28, 29) は 5% 塩化亜鉛溶液を鶏の睪丸内に注射したところ偶然睪丸に畸形腫が発生したのを見た。発生率は極めて低いものであつたが、此の実験で面白いのは春期の睪丸機能亢進期に注射した成熟家鶏にのみ陽性例が見られたことである。Bagg (1936) は Michalowsky の実験を追試して春期以外でも男性腺ホルモンを投与しておけば畸形腫が発生することを実証した。Bonser (1942, 44), Hooker (1942), Gardner (1948) はラットの皮下に女性ホル

モンを連続注射することによつて可成り高率に間質細胞腫瘍を発生させることに成功した。そして内分泌平衡の失調と内分泌腺腫瘍発生との相互関係に論及している。Champy, Lavedan (1938) は鶏を使用して実験的に seminoma を発生させることが出来たとの報告を行つている。即ち鶏の睪丸を部分切除し 3 年以上経過した実験動物 4 例に seminoma, embryoma が発生したと述べている。睪丸を単に部分切除しておくだけで睪丸が悪性腫瘍化したと云うことは、睪丸の旺盛な再生が遂に悪性腫瘍化をもたらしたものと思われる興味深いものがある。Willis (1934) はラットの睪丸に種々の化学的、機械的傷害を与えることによつて睪丸腫瘍、殊に teratoma, seminoma を実験的に発生させようと試みたが腫瘍化に成功しなかつた。此の実験結果から彼は外傷とか炎症が睪丸腫瘍の発生に役割を演じていると云う Thorek (1924), Illingworth, Dick (1932), Dew (1925) 等の説は否定せられるべきであると述べている。

Willis は彼の著書 PATHOLOGY OF TUMOURS にも記載しているが、私の調べた範囲でも発癌物質 (introducing carcinogen) を用いて実験的に seminoma を発生させることに成功したと云う実験報告を見出すことが出来なかつた。

(3) 人体睪丸腫瘍 :

人体睪丸腫瘍の研究報告は幾多の先人によつてな

れており、病因論的にも種々の考察が加えられている。好発年齢が性活動の旺盛な時期に当たっていることから内分泌との関係を云々する人もあり、又外傷、感染等との関係を強張する人もあるが、これらが直接発癌の原因となるとは考え難い。Gilbert, Hamilton (1940) は睪丸腫瘍の11%が潜伏睪丸より発生しており、正常位睪丸より発生する場合の約48倍に相当し、又両側潜伏睪丸を有する人の1側睪丸が腫瘍化した場合、他側睪丸が腫瘍化する割合は24.6%であるのに対して正常位の場合は1%に過ぎないと述べている。正常位睪丸に比して潜伏睪丸に癌化の傾向が著しく大であることは誤りない事実と思われるが、睪丸腫瘍の発生に潜伏睪丸が欠くことの出来ない要件であるとは考えられない。睪丸腫瘍を有する患者には潜伏睪丸ばかりでなく、脱腸や半陰陽等の先天性欠陥が見出される場合が多いことから、睪丸腫瘍を有する患者には何等かの先天性内分泌異常が内在してこれが睪丸腫瘍の発生に働きかけるのではなからうかと考えられる。

以上文献的に動物並びに人体睪丸腫瘍について調べてみたが、睪丸腫瘍を実験的に発生させるために必要な条件を見出すことが出来なかつた。Michalowsky, Bagg 等による睪丸畸形腫発生実験の際の向性腺ホルモン投与の問題、Bonser, Gardner 等の女性ホルモン投与による間質細胞腫瘍発生実験に於ける睪丸腫瘍と女性ホルモンの関係、又潜伏睪丸と睪丸腫瘍との関係で推測される内分泌異常の内在と云う考え方等から睪丸腫瘍とホルモンとは密接な関係にあるように思われ、睪丸腫瘍の発生実験に内分泌条件を考慮に入れずに行うことは徒労の恐れがあるかも知れない。併し私は今回の実験に於て睪丸腫瘍発生実験の第1段階として、強力な発癌物質として知られている methylcholanthrene (以下 m. c. と略す) を用い、此の物質の睪丸内注射が果して睪丸に悪性化を起しえて睪丸腫瘍、就中 seminoma を発生させることが出来るものかどうかについて実験を試みた。

実験材料及び実験方法

1% methylcholanthrene-lard 液 (以下 1% m. c.-lard 液と略す) を作つて実験動物の睪丸内に注射し、経過を追つて動物を屠殺した。

注射液作製方法：局方豚脂を約40°Cに加熱して溶融させ、濾紙を用いて濾過する。此の豚脂濾液を溶媒として1%の割合になるように m. c. の結晶を加える。併し此の状態では m. c. は溶解しないから約150°Cに

加熱して溶解させたものを注射液として使用した。

注射方法：約150°Cまで加熱した注射液が約40°Cまで冷却するのをまつて、ツベルクリン用注射筒にペニシリン針を装着して経皮的に針を睪丸中心部に向つて刺入し所要量の薬液を注入した。注射液は実験の都度作製したものを使用し、保存液の使用はさけた。注射回数は1回行うだけで、其の後は経過を追つて実験動物を屠殺し、組織標本を作製した。

実験動物：動物商より入手した雑種の成熟ラット、ウサギ、モルモットを使用した。実験開始時の平均体重は夫々 98g, 2200g, 530g であつた。

(1) ラット

50頭のラットを使用し、35頭を m. c. 群、15頭を対照群とした。m. c. 群の両側睪丸には 1% m. c.-lard 液 0.05cc (m. c. 0.5mg)、対照群の両側睪丸には lard 液 0.05cc を注射し、夫々 2, 3, 4, 5, 6ヶ月目に屠殺した。摘出睪丸は両群共10%ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋の後5μmのパラフィン切片を作り hematoxylin-eosin 重染色を行つた。

(2) ウサギ

10頭の家兎を使用し右側睪丸に 1% m. c.-lard 液 0.1cc (m. c. 1.0mg)、左側睪丸に lard 液 0.1cc を注入して対照とした。注射後 2, 4, 5, 6, 7ヶ月目に屠殺し、摘出睪丸を10%ホルマリン液で固定、パラフィン包埋の後5μmの厚さのパラフィン切片を作り hematoxylin-eosin 染色を行つた。

(3) モルモット

10頭のモルモットを使用してウサギの場合と同様、右側睪丸に 1% m. c.-lard 液 0.1cc (m. c. 1.0mg)、左側睪丸に lard 液 0.1cc を注入して対照とした。注射後385日生存した1頭の睪丸を10%ホルマリン液で固定、パラフィン包埋の後5μmの厚さのパラフィン切片を作り hematoxylin-eosin 染色を行つた。

実験成績

(1) ラット

m. c. を注射した m. c. 群35頭の内半数が6週間以内に死亡し、特に3週間以内に死亡したものが多かつた。死亡した動物の大部分が貧血状態を呈し食欲不振を来して死亡した。2ヶ月以上生存しえた動物には死亡例はなかつた。これに対して対照群では、1ヶ月以内に死亡したものは15頭の内2頭に過ぎなかつた。

睪丸重量、副性器重量及び夫々の体重比は Table-

1, Table-2 に示してある。睪丸重量は m. c. 群に於て多少対照群よりも少い傾向がある。睪丸体重比については表から判るように m. c. 群では3ヶ月目あたりから急速に減少しているのに対し、対照群では4ヶ月以後に減少の傾向が現われて来る。其の後は両群共に6ヶ月以内に重量増加の様子は見られない。副性器には特別な所見を認めることが出来ない。

(a) 肉眼的所見

m. c. 群、対照群共に全般的には正常色調、正常光沢を示していた。一部注射針の刺入部と思われる部分が黄白色の斑状を呈し、軽度の白膜肥厚が認められたが周囲との癒着はなかつた。剖面では注射液の貯溜部と思われる部分が黄褐色を呈し、此の部位では睪丸組織の肉眼的性状は全く失われていた。

(b) 顕微鏡所見

(i) 注射後1ヶ月の睪丸

m. c. 群：睪丸組織は広範囲にわたつて壊死を起し、壊死組織に近接する細精管には高度の萎縮が認められる。精上皮細胞を全く欠如し Sertoli 細胞のみ残存する萎縮細精管も多数認められる。壊死組織の周囲には肉芽組織の形成が見られ、注入脂肪の変性したものと思われる多数の空胞が認められる。間質組織、特に壊死組織の周囲には線維芽細胞、肥満細胞の他所謂円形細胞の浸潤が見られ、慢性炎症えの移行像を示している。(Fig. 1, 2)

対照群：壊死組織(m. c. 群に於けると壊死の大きさに大差なく)を囲んで肉芽組織の形成が認められる。壊死組織の周囲の細精管には高度の萎縮が見られ、Sertoli 細胞のみを残し精上皮細胞の欠如した細精管も多数認められる。間質組織、特に壊死組織周囲の細胞浸潤も m. c. 群と同様慢性炎症えの移行像を示している。(Fig. 3, 4)

(ii) 注射後2ヶ月の睪丸

m. c. 群：壊死組織の周囲には肉芽組織の形成が見られ、細精管も高度に傷害せられて変性、萎縮を起している等の所見は1ヶ月目の標本と同様である。壊死組織の周囲には多数の円形細胞浸潤が見られ、胞体中に微細顆粒を有する肥満細胞、線維芽細胞、毛細血管の増生が認められる。壊死部より離れた間質組織にも線維芽細胞、毛細血管の増生を認める。(Fig. 5, 6)

対照群：壊死組織(m. c. 群に於けると壊死の大きさに大差なし)周囲の結合組織増生、細精管の高度の萎縮、間質組織に見られる慢性炎症性変化等の所見は m. c. 群と質、量共に殆んど同様である。(Fig. 7)

(iii) 注射後3ヶ月の睪丸

m. c. 群：壊死組織周囲の細精管は著じるしく萎縮性で、Sertoli 細胞のみよりなるものが多数見られる。壊死組織をとりまく結合組織内には多数の肥満細胞の他に少数の異物巨細胞が認められる。壊死部より離れた間質組織内にも線維芽細胞、新生毛細血管が多数に認められる。(Fig. 8, 9)

対照群：壊死部の周囲に見られる結合組織化及び細精管萎縮等の所見は m. c. 群と略々同様であるが、壊死部より少し離れた細精管には形態的に殆んど変化は認められない。(Fig. 10)

(iv) 注射後4~6ヶ月の睪丸

m. c. 群：壊死部の周囲は結合組織化し、壊死組織に近接する大多数の細精管は著じるしく萎縮性で殆んど線維様物のみを残存するものもあり、中心部に見られる変化は3ヶ月目の標本と大差がない。併し4ヶ月以後の標本では壊死部に近接する細精管にも形態的に変化の認められないものがある。此の時期に於ても細精管上皮細胞に異常増殖の所見は全く認めることが出来ない。(Fig. 11, 12, 14)

対照群：壊死部の周囲の結合組織化及び壊死部に近接する細精管の萎縮等の所見は3ヶ月目の標本と殆んど同様である。(Fig. 13, 15)

以上睪丸は m. c. 群、対照群共に高度の傷害を受けて、著明な細精管の萎縮と壊死部周囲の間質組織に非特異的な慢性炎症の所見が認められた。腫瘍性の増殖所見は認めることが出来なかつた。細精管の壊死、萎縮及びその範囲並びに結合組織化の程度は m. c. 群に於てやや高度に認められた。

(2) ウサギ及びモルモット

(a) 肉眼的所見

ウサギの睪丸に於ては m. c. 注射側と対照側との間には重量的にも外見的にも相違は認められず、外表面は正常色調、正常光沢を示していた。

モルモットは比較的早期の標本にても白膜下に囊腫形成が認められたが、385日生存した例では特に著明であつた。(Fig. 16) 囊腫より離れた睪丸白膜は全く正常の色調と光沢を示していた。

(b) 顕微鏡所見

(i) ウサギの睪丸

m. c. 注射睪丸は2ヶ月のものではラットの場合と同様、薬品貯溜部の細精管は高度に傷害せられて壊死、萎縮を起している。壊死部の周囲には広範な肉芽形成が見られ、多数の変性脂肪腔胞、線維芽細胞、円

形細胞浸潤が見られる。併しラットの場合と違い傷害が広く周囲に波及するようなことはなく、近接する細精管は殆んど正常の形態を示しているものが多い。4ヶ月以上経過した標本では結合繊維が見られ、又同様な細精管萎縮が認められて、細精管上皮細胞の腫瘍性増殖の所見は全く見出しえなかつた。(Fig. 17)

lard 注射睾丸に於ても m. c. 注射睾丸と殆んど同様の所見を呈していた。(Fig. 18)

(ii) モルモットの睾丸

m. c. 注射睾丸に於ては壊死部は比較的早期に吸収されて多数の囊腫を形成している。385日生存した動物の睾丸は白膜下に大きな囊腫を形成しており、此の囊腫は1層の細胞におおわれている。モルモットでは囊腫形成以外細精管、間質共に異常は認められない。(Fig. 19)

lard 注射睾丸も全く同様の所見である。(Fig. 20)

考 察

ラット、モルモットの睾丸に m. c. を注射することによって、その悪性腫瘍化を試みたが結果は陰性であった。どの動物も細精管は著しく傷害されて高度の萎縮を来した。細精管の傷害はラットに特に著明で、広範且つ高度で傷害も長期にわたつて認められた。ウサギ、モルモットでもその初期にはラットと同様、細精管の壊死、萎縮を起すが、傷害は一般に局所的な変化だけに終り、特にモルモットその傾向が強かつた。又何れの動物でも壊死部の周囲に非特異的な炎症症状が起り、線維芽細胞や所謂円形細胞浸潤、毛細血管の新生を来して慢性炎症へ移行した。

モルモットでは比較的早期に炎症症状は消失して囊腫を形成するが、変化は局所にとどまり周囲の細精管の傷害は殆んど認められなかつた。

此の様な動物の種類による組織反応の相違については、注入薬品の吸収速度の遅速に関係するものではないかと思われる。注入薬品が長期にわたつて注入局所に留まると云う点からみると、今回の実験に使用した3種の動物のうちで腫瘍発生の可能性が一番ありそうなのはラットであると云うことが出来る。

発癌性炭化水素だけを単独に使用して睾丸に悪性腫瘍を発生させようとする試みは非常に困難な仕事のように思われる。併し発癌物質に更に何かの因子を加えても睾丸腫瘍の発生する可能性がないと断言することは大胆すぎるであろう。発癌性炭化水素の使用と共に、如何なる因子を加えたならば睾丸腫瘍の発生が可

能と考えられるであろうか。

山極、市川(1915)によるタール癌の人工的発生の成功が今日の芳香族炭化水素の発見となり、各種の発癌物質が純粋な形でえられるようになった。此等の発癌物質を適当に使用すれば殆んど任意の動物に癌を発生させることが出来るのであるが、それが如何なる発癌機構によるものであるかは判っていない。

一方各種の実験結果から何か共通な事項を見出そうとしても、そこには種々の複雑な因子が介在していて不可能なように思われる。即ち実験動物の種類により、又同一動物でもその臓器、組織によつて発癌物質に対する感受性に差異があると云うこと、溶媒や飼料が実験成績を左右する原因となりうること等の事項は発癌実験にたづさわつた幾多の人々によつて経験されたことであるが、その何れもが未解決の問題を含んでいて益々その複雑さを加えて来るからである。発癌性炭化水素の発癌機構についての考え方として Berenblum (1941) は croton oil を発癌性炭化水素と併用することにより、適量以下の発癌物質でも癌を発生させることを見出し、発癌には2種類の因子が必要であると考へた。同年に Rous はウサギの耳に tar や benzpyrene 等の発癌物質を塗布し、次いでその部分に穴をあけて肥厚させると発癌物質の量が微量であっても発癌させることを見出した。更に Mottram は croton oil による促進作用 (promoting action) を検するためには発癌物質の塗布は1回で足りることを証明している。彼等は発癌には正常細胞を潜在性癌細胞 (latent tumor cell) に変化させる創始段階 (initiating process) とそれを目に見える癌にまで発展させる促進段階 (promoting process) の2つの段階のあることを想定している。彼等の実験は何れも動物の皮膚について行つたものであるが、甲状腺、肝臓についても2段階説を支持する実験がある。Paschkis, Bielschowsky は acetylaminofluorene に thiouracil を併用して甲状腺癌を、Glions は 4-dimethylamin-oasobenzene と肝臓の部分切除による再生とを組合わせることにより、発癌量以下の DAB で肝癌を発生させている。一方 Teir, Kiljunen (1954) は実験的に皮膚癌を発生させることが困難とされているラットを使用して m. c. の塗布と生後1日以上を出ないラットの皮膚懸濁液の腹腔内注射を併用することによつて皮膚癌の発生に成功している。

此等の実験からの推測が許されるならば、現在陰性に終つている発癌実験も適当な発癌補助因子が加われ

ば陽性成績のえられる可能性も多分に存在するものと思われる。

1934年に Willis が行つた実験にも示されているように、化学薬品の注入とか機械的傷害とかによつて睪丸が単に傷害されるだけでは睪丸腫瘍は発生しないばかりでなく、睪丸は却つて傷害作用のために萎縮を来す結果となつた。傷害を与えるだけでは腫瘍発生の期待はもてない。

それでは如何なる促進作用を与えたならば睪丸腫瘍発生の可能性を期待出来るであろうか。m. c. が睪丸上皮細胞を潜在性癌細胞に変える能力があるものかどうか、更に又睪丸内注射と云う方式が適当な方法であつたかどうかは暫く論じないことにして、睪丸に潜在性癌細胞が生じえたとの仮定のもとに発癌 2 段階説の立場から促進作用について考えてみたい。促進作用を発揮させる方法として種々の操作が用いられているが、或る方法が或る種の動物の或る臓器に促進作用を発揮しえたとしても、その方法が直ちに他の動物の同じ臓器にも促進作用を発揮するとは限らない。促進作用は夫々の動物、夫々の臓器に特異的であるものが多い。併し各動物、臓器によつて促進作用を現わす操作は違つても、その内容を検討してみると促進作用とは、細胞に無制限な増殖を起させる一方その成熟化を防止するような作用と云うことが出来る。例えば妊娠末期のマウスにウレタンを注射したところ生後 3 日目の仔マウスの肺には既に肺癌が出来ていたと云う Smith, Rous (1948) の実験、マウスの胎児組織を m. c. の結晶と一緒に成熟マウスの皮下に移植すると急速に癌化して増殖しているのが認められたと云う Greene, Rous (1945) の実験、前に記載した DAB と肝切除の組合せによる肝癌発生実験は、何れも未成熟の細胞のもつ旺盛な増殖能を促進作用として利用したもので m. c. 又は DAB の創始作用によつて潜在性癌細胞となつておれば、促進作用によつて癌となりうることを示している。

そこで睪丸腫瘍、就中 seminoma の発生に對て促進作用を現わす可能性があると考えられるものには如何なるものがあげられるであろうか。(a) 性腺刺激ホルモンには下垂体性及び胎盤性ゴナドトロピンがあるが、此のうち女性の場合の FSH に相当する細精管刺激ホルモンを有する下垂体性ゴナドトロピンは seminoma の発生に促進作用を現わしえないであろうか。

(b) 少量の androgen を連続投与すると睪丸は増大し、その活性も増加して造精機能が促進せられると

云われているが、少量の androgen の連続投与は腫瘍発生に促進的な働きを示しえないであろうか。(c) 妊娠母体に estrogen を投与すると生れてくる雄動物に潜伏睪丸が見られると云うことがマウスやラットで証明せられているが、斯様にして生れた潜伏睪丸動物には先天的に睪丸腫瘍発生に對する促進作用因子が存在してはいないものであろうか。(d) 再生能のある臓器の部分切除を行えばその臓器に相当した大きさに達するまで再び發育する。Butenandt はこのことに注目して、肝臓の部分切除を行つた白鼠の血清中には肝臓に特異的な有糸分裂促進物質のあることを見出した。更に正常肝のホモゲナートからも肝臓に特異的な有糸分裂促進物質が含まれていることを証明した。同様な方法によつて腎組織からも腎に特異的な有糸分裂促進物質を分離しているが、これと同様なことが睪丸についても云いえないものであろうか。(e) 或はレ線照射を併用してみても如何であろうか。

以上は発癌 2 段階説の立場から、発癌性炭化水素の睪丸注射によつて睪丸に潜在性癌細胞が発生しえたものとの仮定のもとに、促進作用を現わすと考えられる 2, 3 の事項をあげてみた。潜在性癌細胞と云うのは発癌機構を考える上での仮定に過ぎない現在では実証の方法はなく、今回の実験に用いた m. c. を睪丸内に注射する方法についてはその良否を論ずることは困難である。

総 括

(1) 動物の自然発生及び実験的睪丸腫瘍並びに人体睪丸腫瘍に関する文献から睪丸腫瘍の発生因子を追求してみたが、決定的と思われる病因を見出すことが出来なかつた。只睪丸腫瘍の発生或は發育にホルモンが関係するのではなからうかと思われる節が見出された。

(2) ラット、ウサギ、モルモットを使用して睪丸内に m. c. を注入することによつて悪性腫瘍化を試みたが不成功に終つた。即ち細精管は高度に傷害されて壊死を起し、精上皮を欠如して Sertoli 細胞のみを残存する萎縮細精管も多数見られた。薬品注入部には結合織増生が見られ、非特異的な慢性炎症像を呈していた。実験に使用した 3 種の動物の内では傷害が最も高度で且つ長期にわたつていたのはラットであり、傷害の最も軽度であつたのはモルモットであつた。

(3) 発癌 2 段階説の立場から、発癌性炭化水素の睪丸注射によつて睪丸に潜在性癌細胞が発生しえたもの

との仮定のもとに、促進作用を示すと思われる2,3の因子について考察を加えてみた。

(a) 下垂体性ゴナドトロピンの投与が seminoma 発生の促進因子となりえないであろうか。

(b) 少量の androgen の連続投与が促進因子とはなりえないであろうか。

(c) 潜伏辜丸をもつて生れた動物は 先天性に辜丸腫瘍の発生に対する促進因子をもっていないであろう。

(d) 辜丸部分切除動物の血清或は辜丸 ホモゲネートの投与が促進因子となりえないであろうか。

(e) 或はレ線照射の併用はどうであろうか。

文 献

- 1) Ackerman, L. V. & Regato, J. A.: Cancer of Male Genital Organs. "CANCER", Chap. 12, p. 755, Mosby, 1947. 2) Bagg, J. H.: Experimental Production of Teratoma Testis in the Fowl. *Am. J. Cancer*, **26**; 69, 1936. 3) Berenblum, I.: The Mechanismus of Carcinogenesis. A Study of the Significance of Co-carcinogenesis and Related Phenomena. *Cancer Research*, **1**: 807, 1941. 4) Berenblum, I.: The Carcinogenic Action of 9,10-Dimethyl 1,2-benzanthracene on the Skin and Subcutaneous Tissues of Mouse, Rabbit, Rat, and Guinea Pig. *J. Nat. Cancer Inst.* **10**; 167, 1949. 5) Bonser, G. M.: Malignant Tumors of the Interstitial Cells of the Testis in the Strong A Mice Treated with Triphenylethylene. *J. Path. Bact.* **54**: 149, 1942. 6) Bonser, G. M.: Mammary and Testicular Tumors in Male Mice of Various Strains Following Oestrogen Treatment. *J. Path. Bact.* **56**; 15, 1944. 7) Butenandt, A.: Neue Ergebnisse der biologischen Chemie in ihrer Bedeutung fuer das Krebsproblem. Vorträge von Prof. Dr. Butenandt in Japan, p. 26, 1955. 8) Esmarch, O.: The Guinea Pig as Experimental Animal in Cancer Research. *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.* **19**; 100, 1942. 9) 藤森正雄: ホルモンと発癌, "癌研究の進歩" p. 157, 医学書院, 昭31. 10) Gardner, W. U.: Hormonal Imbalances in Tumorigenesis. *Cancer Research*, **8**, 397, 1948. 11) Gilbert, J. B. & Hamilton, J. B.: Studies in Malignant Testis Tumors. III. Incidence and Nature of Tumors in Ectopic Testis. *Surg. Gynec. & Obst.* **71**: 731, 1940. 12) Glions, A. D., Bucher, N. L. R., & Aub, J. C.: The Effect of Liver Regeneration on Tumor Formation in Rats Fed 4-Dimethylaminoazobenzene. *J. Exp. Med.* **93**: 313, 1951. 13) Hooker, C. W. & Pfeiffer, C. A.: The Morphology and Development of Testicular Tumors in Mice of the A Strain Receiving Estrogen. *Cancer Research*, **2**: 759, 1942. 14) Howes, E. L. & J. R. de Oliveira, : Early Changes in the Experimentally Produced Adenomas and Adenocarcinomas of the Stomach. *Cancer Research*, **8**: 419, 1948. 15) 市川篤二: 男子性腺及び男性ホルモン, "ホルモン" 中巻, p. 1 医学書院, 昭31. 16) Innes, J. R. M.: Neoplastic Disease of the Testis in Animals. *J. Path. Bact.* **54**; 485, 1942. 17) 岸三二: 発癌物質の作用機序 総合医学, **10**: 553, 昭28. 18) 樽谷和男: Hydrocarbonの発癌性, "癌研究の進歩" p. 61, 医学書院, 昭31. 19) Larionow, L. Th.: The Endocrine Glands in Experimental Cancer Induced by Benzpyrene. A Study of the Role of the Endocrine Glands in the Pathogenesis of Tumors. *Am. J. Cancer*, **38**, 492, 1948. 20) Maximow, A. A. & Bloom, W.: Male Genital System. "A TEXTBOOK OF HISTOLOGY" Chap. 24, p. 505, Saunders, 1948. 21) Michalowsky, I.: Eine experimentelle Erzeugung teratoider Geschwuelste der Hoden beim Hahn. *Virch. Arch. f. path. Anat.* **267**; 27, 1928. 22) Mottram, J. C.: A Developing Factor in Experimental Blastogenesis. *J. Path. Bact.* **56**, 391, 1944. 23) 中原和郎: 癌研究の諸問題, 総合医学 **10**; 517, 昭28. 24) 落合京一郎: 癌とホルモンの関係, 総合医学, **10**; 581, 昭28. 25) Paschkis, K. E., Cantarow, A., & Stasney, J.: Influence of Thiouracil on Carcinoma Induced by 2-Acetylaminofluorene. *Cancer Research*, **8**, 252, 1948. 26) Rous, P. & Kidd, J. G.: Conditional Neoplasms and Subthreshold Neoplastic Stages. *J. Exp. Med.* **73**; 365, 1941. 27) Saffioti, U. & Shubik, P.: The Effect of Low Concentration of Carcinogen in Epidermal Carcinogenesis. A Comparison with Promoting Agent. *J. Nat. Cancer Inst.* **16**; 961, 1956. 28) Shubik, P.: Studies on the Promoting Phase in the Stages of Carcinogenesis in Mice, Rats, Rabbits, and Guinea Pigs. *Cancer Research*, **10**; 13, 1950. 29) Teir, H., Voutilainen, A., & Kiljunen, A.: Effect on white Rats of Methylcholanthrene Painting of the Skin and Simultaneous Intraperitoneal Injection of Skin Suspensions. I. Tumor Induction in the Painted Skin. *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.* **34**: 218, 1954. 30) 辻一郎: 辜丸腫瘍, 癌の臨床, **2**: 443, 昭31. 31) Twombly, G. H.: The Relationship of Hormones to Testicular Tumors. "ENDOCRINOLOGY OF NEOPLASTIC DISEASES" Chap. 10, p. 228, Oxford Univ. Press,

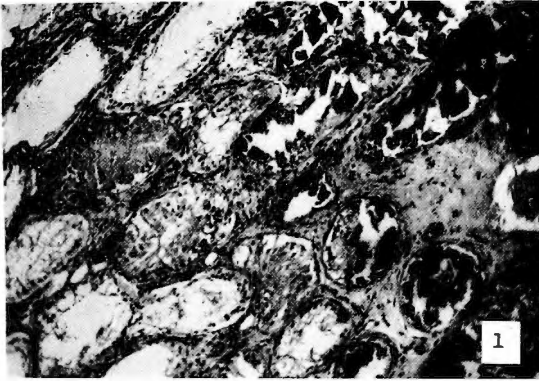


Fig. 1 m. c. 注入ラット辜丸 (1ヶ月)
細精管の萎縮, 壊死及び肉芽形成. $\times 100$

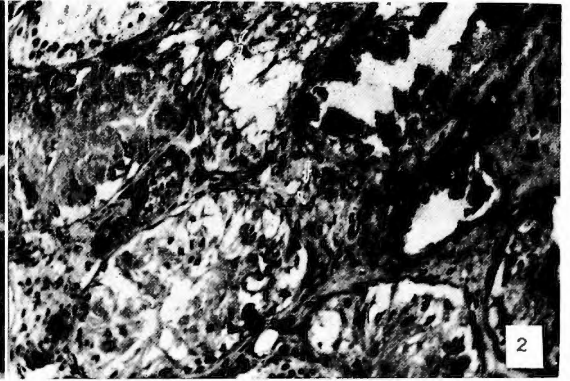


Fig. 2 同上拡大像 f: 変性脂肪空胞. $\times 200$

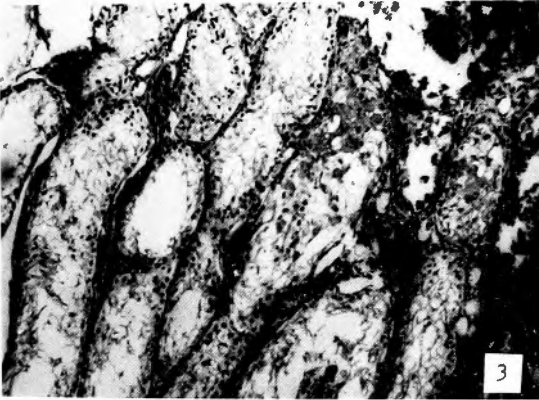


Fig. 3 lard 注入ラット辜丸 (1ヶ月)
細精管の萎縮, 壊死及び間質の細胞浸潤. $\times 100$

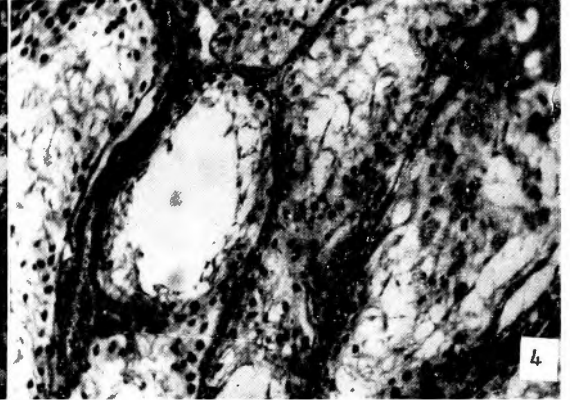


Fig. 4 同上拡大像 $\times 200$

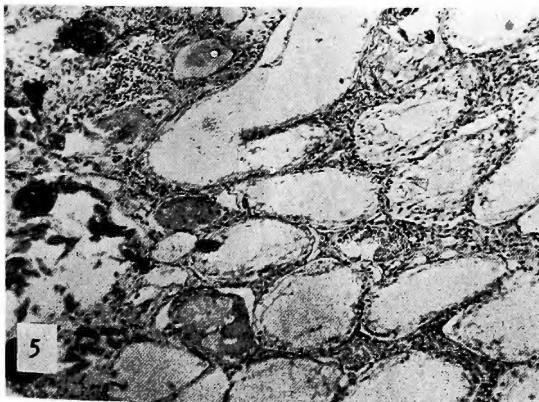


Fig. 5 m. c. 注入ラット辜丸 (2ヶ月)
精細管の萎縮, 壊死及び肉芽形成と毛細血管 $\times 140$

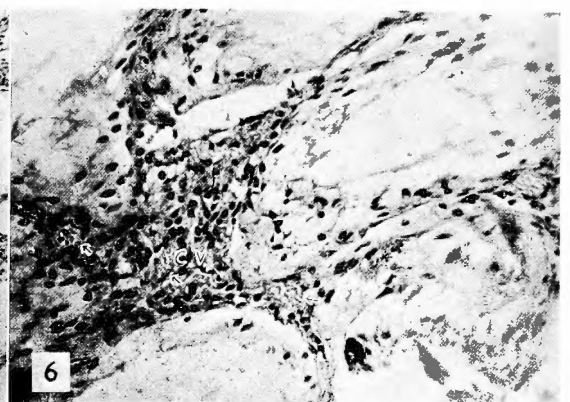


Fig. 6 同上拡大像
c. v.: 毛細血管 $\times 320$

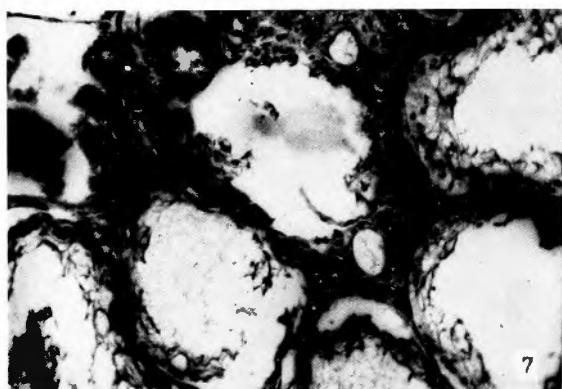


Fig. 7 lard 注入ラット辜丸 (2ヶ月)
間質の細胞浸潤と変性脂肪空胞. $\times 200$

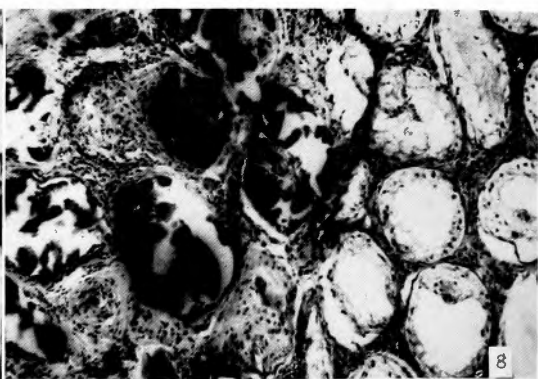


Fig. 8 m. c. 注入ラット辜丸 (3ヶ月)
壊死細精管周囲の肉芽形成. $\times 100$

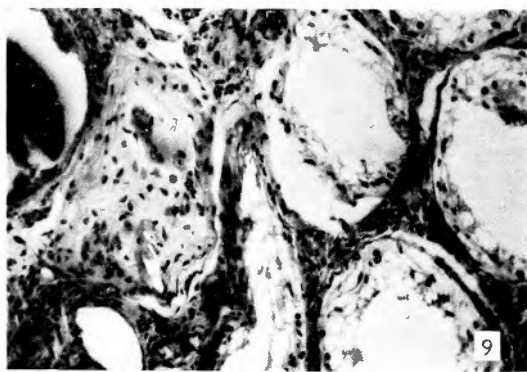


Fig. 9 同上拡大像
g. c.: 異物巨細胞 $\times 200$

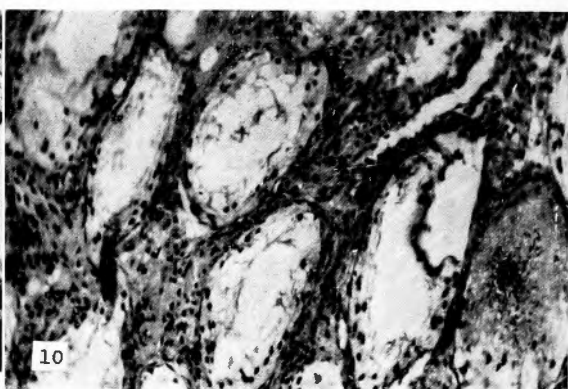


Fig. 10 lard 注入ラット辜丸 (3ヶ月)
萎縮細精管と肉芽組織 $\times 200$

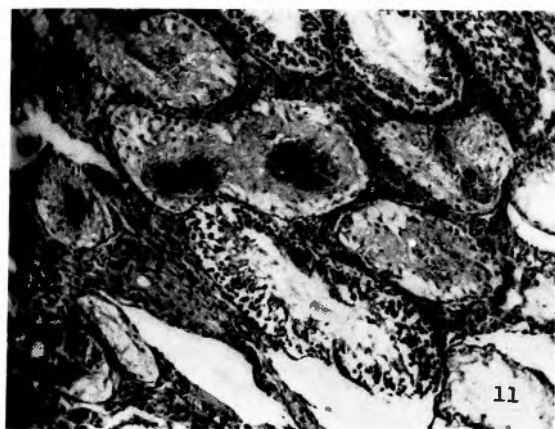


Fig. 11 m. c. 注入ラット辜丸 (4ヶ月)
間質の結合組織化と細精管の萎縮
及び正常細精管 $\times 100$

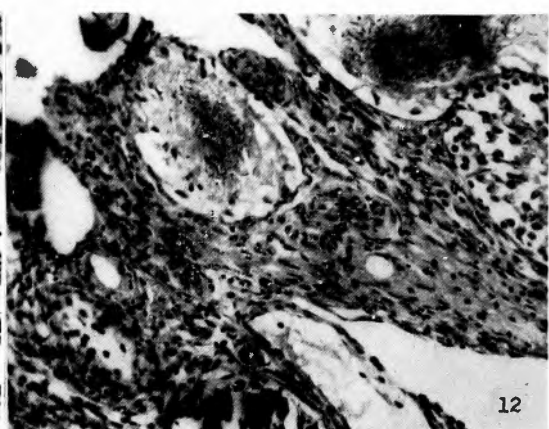


Fig. 12 同上拡大像
萎縮細精管を囲む結合組織 $\times 200$

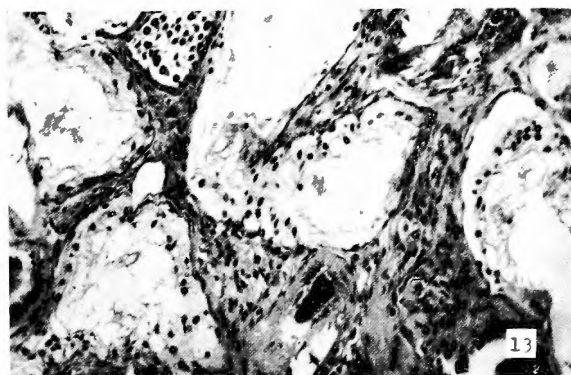


Fig. 13 lard 注入ラット睪丸 (4ヶ月) 萎縮細精管を囲む結合織 × 200

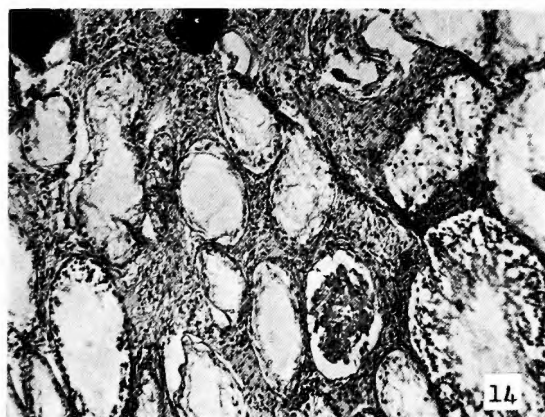


Fig. 14 m. c. 注入ラット睪丸 6ヶ月 × 140

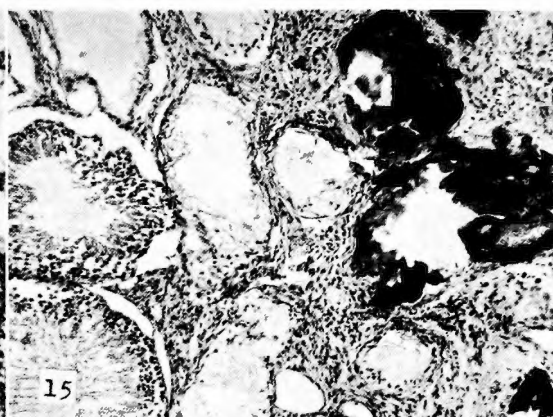


Fig. 15 lard 注入ラット睪丸 (6ヶ月) × 140

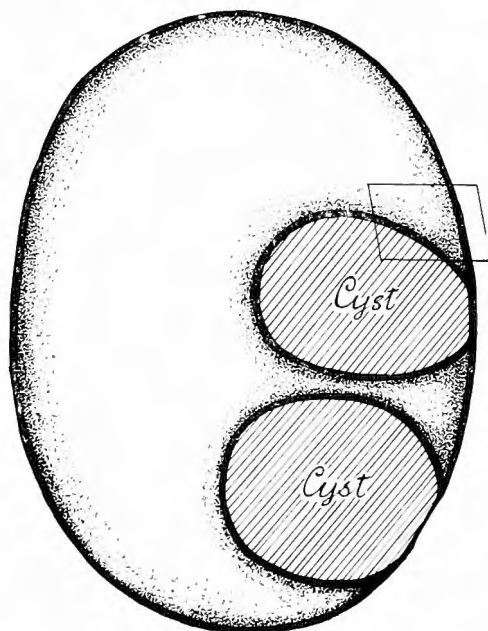


Fig. 16 m. c. 注入モルモット睪丸の囊腫形成 模型図 (385日生存例)

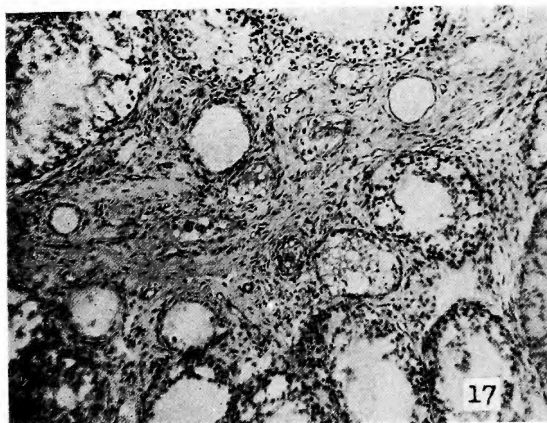


Fig. 17 m. c. 注入家兎辜丸 (7ヶ月)
結合組織で包囲せられた萎縮細精管 × 140

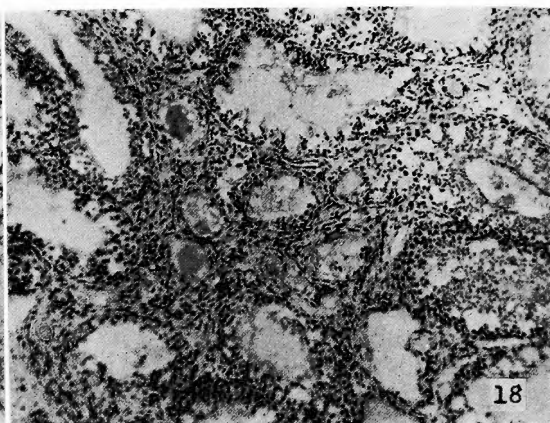


Fig. 18 lard 注入家兎辜丸 (7ヶ月) × 140

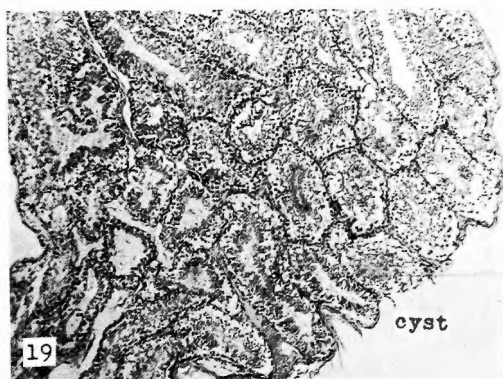


Fig. 19 m. c. 注入モルモット辜丸 (385日) × 140

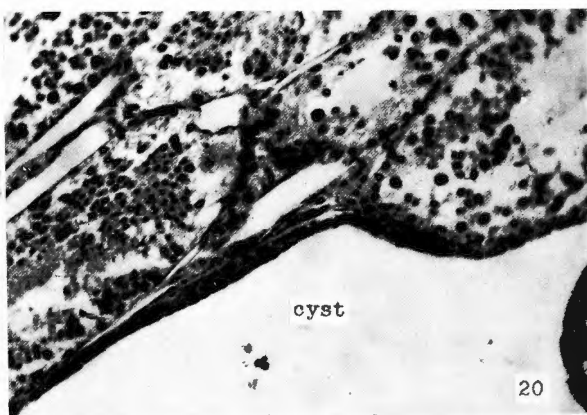


Fig. 20 lard 注入モルモット辜丸 (385日) × 200

1947. 32) 中馬英二：癌発生の形態，"癌研究の進歩" p. 35, 医学書院，昭31. 33) Warren, S. & Gates, O.: Spontaneous and Induced Tumors of the Guinea Pig. *Cancer Research*, 1; 65, 1941. 34) Willis, R. A.: An Experimental Study of the Possible Influence of Injury in the Genesis of Tumors of the Gonads. *Brit.*

J. Exp. Path. 15; 231, 1934. 35) Willis, R. A.: Epithelial and Related Tumors of the Testis and Epididymis. "PATHOLOGY OF TUMOURS" Chap. 33, p. 554, Butterworth, 1948. 36) 吉田富三：無機物の癌原性，"癌の発生" p. 119, 186. 日本医書出版，昭24.