

実験的骨髄内移植腫瘍における転移に関する研究^{*}

京都大学医学部整形外科教室（指導：近藤鋭矢教授）

北 眺

〔原稿受付：昭和38年2月3日〕

EXPERIMENTAL STUDIES ON METASTASIS OF WALKER'S CARCINOSARCOMA TRANSPLANTED INTO THE BONE MARROW

by

AKIRA KITA

From the Department of Orthopaedic Surgery, Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. EISHI KONDO)

One of the important etiologic factors which influences on the prognosis of malignant bone tumors is its spread to other organs, notably to the lungs. The most effective treatment up to date of these bone tumors is an early amputation of the affected limb. Even with this method, however, an ultimate mortality ranges from 80 to 90%, resulting in an extensive pulmonary metastasis. It has not been seemingly established, that an early amputation of the affected limb is the best of the treatments, because it is not rare to encounter with cases in which an early surgical manipulation itself might have caused an early appearance of pulmonary metastasis and rapid growth of the metastatic lesions.

In this experiment, the histopathology of metastasis of an inoculated malignant tumor was studied in rats. Varying surgical procedures and anti-tumor chemotherapeutics were used and their effect on the growth of pulmonary metastasis was evaluated in view of the routine usage of these procedures to human bone tumors.

Walker's carcinosarcoma 256 was used. The tumor cell suspensions or fragments were inoculated into the tibial bone marrow of the rats. After the tumor inoculation, the rats were divided into 5 groups. In group 1, animals were allowed to live till death, in group 2, the animals were killed at various intervals, in group 3, a needle was put into the inoculated marrow to injure the tumor-bearing marrow tissue at 8 days, in group 4, the inoculated limbs were amputated at various intervals, and in group 5, various anti-tumor chemotherapeutics were administered at 24 hours and 7 days after inoculation.

Ninety-eight animals "took" the tumor successfully, of which 82 showed metastases (83.7%). Metastases were limited only to several organs, lungs in 66 animals (67.3%), lymphnodes in 47 (47.8%), and kidneys in 3 (3.1%). The way of administration of the tumor, either suspensions or fragments, did not affect the occurrence rate of metastases. KUZUOKA in our department has shown that 60% of the tumor cells inoculated in the tibia can be recovered in the femoral vein blood immediately after the infusion of tumor cells into the tibial marrow. In the present experiment, scattered tumor emboli were

* 本論文の一部は第92回近畿外科学会において発表した。

found in the pulmonary vessels. Most of those embolic tumor cells were found to degenerate and disappear in 3 days. Only a small number of remaining viable cells proliferated, and on the 5th day discrete tumor nodules showing extension beyond the vessels developed. On the 7th day, nodules were apparent in one-third, and on the 10th day in two-thirds of the animals. The number of metastasis was directly proportional to the number of inoculated tumor cells, and to the duration of the growth of the primary tumor. In animals inoculated with 10 million cells, the metastatic foci were found scattered through both lungs, but when inoculated with 300,000 cells, the incidence of metastases to lungs decreased, and the number of metastatic foci was also lessened. The pulmonary metastasis increased in frequency (70%) following needle puncture of the primary tumor (group 3). In the experiment of group 4, an interesting result was obtained; when the tumor-bearing limb was amputated immediately after tumor inoculation, pulmonary metastasis was demonstrated in all animals, and the lesion was widely spread in the entire lung fields. On the other hand, in animals in which amputations were performed on the 3rd and 5th day following inoculation, the pulmonary "take" decreased (40 to 50%), and the number of metastatic foci was lessened, but the size of them increased. However, the incidence rose when the affected limb was amputated on the 10th day.

It may be conceived that when the limb is amputated immediately after tumor inoculation, the operative procedure itself alters the general defence mechanism of the body, facilitating the growth of embolic tumor cells in lungs, and thus resulting in wide spread growth in lungs. However, on the 3rd and 5th day when the pulmonary lesions are still not many, further increase and growth of tumor will be suppressed by removing the primary source in the bone. When amputation is done on the 10th day, the growth of metastatic foci in lungs which have been well established by this time will be stimulated, since an anti-tumor growth factor which is postulated to be present in the primary tumor is no more present.

The inhibitory effect of anti-tumor chemotherapeutic agents on the pulmonary metastasis was recognized the incidence decreasing by 20~40%. Especially Tespamin and Nitromin were most effective when an effective dose were administered 24 hours after tumor inoculation for 5 days.

In conclusion, whatever procedure was used, the growth of pulmonary lesion was most effectively suppressed only in the early stage of growth in lungs, and it was also disclosed that there seems to be an optimal period for effective surgical procedure such as tumor-bearing limb amputation. If amputation was done in too an early stage or in a late stage, pulmonary metastasis was accelerated.

目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験材料

第2節 実験方法

第3章 実験成績

第1節 移植率および生存日数

第1項 移植率

第2項 生存日数

第2節 転移の場所と頻度

第3節 肺 転 移

- 第1項 剖検所見
- 第2項 肺転移の起る時期
 - i) 肉眼的および組織学的検索
 - ii) 移植試験
- 第3項 移植腫瘍細胞数と肺転移との関係
- 第4項 小 括
- 第4節 淋巴腺転移
 - 第1項 剖検所見

- 第2項 淋巴腺転移の起る時期
- 第5節 転移の促進および抑制に関する実験
 - 第1項 機械的刺激
 - 第2項 切断手術と転移との関係
 - 第3項 抗癌剤の転移に及ぼす影響
 - 第4項 小 括
- 第4章 総括並びに考按
- 第5章 結 語

第1章 緒 言

悪性骨腫瘍の経過ならびに予後を決定する最大の因子は転移であり、なかんづく肺転移は死にいたる最大の原因となつてゐることは一般によく知られてゐるところである。古くより本症に対する治療の目的は原発巣の除去による肺転移の防止という点におかれてきた。それにも拘らず完全に肺転移を防止することは不可能に近く、早期切断者においても80~90%の転移死亡者をみるのが常である。早期切断が最善の治療であるという根拠は極めて薄弱なものであり、手術が却つて死期を早めたのではないかと云うような事例に遭遇することも少なくない。勿論骨腫瘍の悪性度は腫瘍自体の性格、個体差等によつて異なるが、その予後を予想しうる決定的な因子は現在尙何一つ見出されてゐない。われわれが日常、悪性骨腫瘍を早期に発見した場合、既に潜在的な肺転移が形成されてゐると見るべきか、否かは極めて重要な問題を提起するところである。Brilofordの述べるように骨肉腫は systemic disease の local expression であり、常にその背後には血行を介しての転移の危険が存在しているが、その転移の可能性、時期、並びに転移の状況等を適確に把握することが出来るならば、骨肉腫の治療対策、或は予後の向上に新たな曙光を見出し得るものと考えらる。

わたくしは悪性骨腫瘍の転移について実験的研究を行ない、人類の本腫瘍の解明にいささかの示唆を得ようと試みた。

悪性骨腫瘍の実験的研究には放射性同位元素（ラザウム、ストロンチウム、ベリリウム等¹⁾²⁾³⁾）を用いた骨腫瘍形成に関する研究があり、又発癌物質（Methylcholanthrene, Benzopyren等）を用い骨腫瘍を形成した実験があるが、これらは何れも動物に発生せしめた骨原発の腫瘍であり、骨腫瘍発生の病理の解明に役立つが、人類における悪性骨腫瘍の複雑多岐な病態を説明するには実験上の困難性、諸種実験操作上の不

便もあり尚充分とは云えない。即ち骨の悪性腫瘍に必ず伴ひ得る転移の問題についてこれを充分に究明しうるだけの材料と転移率は上記の実験方法で得ることは容易ではないと思われる。一方、可移植性動物腫瘍の移植による骨腫瘍の研究は古くより行なわれているが、転移の問題についてこれを実験的に追求しようとすれば、現在尚この方法に俟たざるを得ない現状である。およそ転移巣が形成されるまでには次の過程を経る必要があるとされている。即ち原発部の腫瘍細胞群から遊離した腫瘍細胞が組織間隙を移動し、脈管系内に侵入、脈管内を腫瘍細胞が自動的または他動的に移動し、ある組織または臓器に到達し、そこに定着して増殖することにより、初めて転移巣が形成されるわけである。転移経路として主にリンパ行性、血行性転移が挙げられるが、ここに問題となるのは血行性転移であつて、この転移成立に関する実験には、腫瘍細胞を血流内に注入し、それによつて生ずる転移巣の過程を調べる方法が古くより行なわれている。移植部位を静脈に求め、血管内に入れられた腫瘍細胞の全身臓器に対する転移形成についての研究、更に血流内に移植された腫瘍細胞の運命ならびに転移形成については詳細な研究がある。又移植部位を骨髓内に求めた研究には古くはLevin⁵⁾の鼠癌および肉腫を用いての実験があり、わが国でも武藤⁶⁾、日下⁷⁾、加藤⁸⁾らの家鶏肉腫を用いての実験がある。高橋⁹⁾、木城¹⁰⁾、柳谷¹¹⁾、丹下¹²⁾らは吉田肉腫を用いて末梢血液の変化および全身臓器への転移形成を検している。しかしこれらの研究によれば、転移を全く形成しないものもあり、又確実に転移を形成しても、極めて広範囲に亘り、いささか人類の骨肉腫とは趣を異にしているように思われる。骨原性肉腫では転移は主として肺に限られ、他に転移を認めることは少ない。

実験的骨腫瘍の具備すべき条件として、1), 移植率が可良なること。2), 原発部骨腫瘍組織像が人間の骨肉腫と類似の性質を有すること。3), 転移が主として

肺に限られていること。4), 生存日数が適当であること。5), 自然治癒がみられないこと。等が挙げられるが、われわれは数種の可移植性腫瘍を検討した結果、結節腫瘍である Walker's carcinosarcoma が移植骨髄部位に、人間における骨肉腫に甚だ類似した腫瘍を形成する特性を有することを知つたので、特にこれを選んで実験を行なつた。併し移植腫瘍を用いて骨腫瘍を生ぜしめた場合、その転移に関しては当然静脈内移植とほぼ同一の結果、即ち人工的肺転移を起させることとなり、前に述べた転移の条件を満たし得ないで、自然発生のもとは自ら区別すべき結果をもたらすものと考えられるが、血行性転移の成立という形で再現するものとしては許用されるべきであろう。

第2章 実験材料並びに方法

第1節 実験材料

腫瘍系：本実験に使用した腫瘍はラットの結節腫瘍である Walker's carcinosarcoma 256 (以後 Walker 氏腫瘍と略す) である。本腫瘍は1961年10月武田研究所より分与されたものを本教室において累代維持してきたものである。

実験動物：本実験に使用した動物は京都北山商店にて飼育繁殖した岐阜雑系白鼠計 462 頭であり、生後約 2 週間、体重 80g 前後の雄を使用した。飼料として固形飼料及び水を用いて飼育した。

第2節 実験方法

腫瘍を腹壁皮下に移植し、移植後 8 乃至12日頃になると腫瘍は母指頭大の大きさに達する。この時期に皮下腫瘍結節を摘出し、壊死部をとりのぞいた後、腫瘍片をポッター組織磨砕器に入れ、生理食塩水を少量加え、軽く磨砕して得た腫瘍細胞浮遊液を注射器にとり、その一部を白血球数算定の方法に準じて実測し、通常その1cmm中に 6×10^4 乃至 10×10^4 個の腫瘍細胞が含まれるようにする。この腫瘍細胞浮遊液を毎回振盪混和しつつ、動物の右膝関節裂隙前方より経関節腔的に脛骨骨髄内に 1/3 注射針にて 0.05cc 注入し、出来るだけ注入液が骨外に洩れないように細心の注意を払つた。移植細胞数は 300×10^4 乃至 500×10^4 である(浮遊液移植)。これとは別に摘出した皮下腫瘍結節を生理食塩水中で約 2cmm の細片にして、われわれが考案作製したガラス製のトロアカールにつめておき、1/1 注射針にて前記の方法と同じく、右脛骨近位関節面に小孔を穿ち、この小孔よりトロアカールを挿入し、マンドリンにて組織片を骨髄内に深く押し出し移植した。ト

ロアカール抜去時、小孔より溢出する血液と共に腫瘍細胞が骨外に洩れるのを防ぐために、指頭にて該部を暫く圧迫止血した。この組織片中に含まれる腫瘍細胞数は次の如くにして算定した。即ちトロアカールより注入される組織片の一回量を 0.05cc の生理食塩水に混和し、これを出来るだけ磨砕した後、生じた細胞浮遊液に含まれる腫瘍細胞数を算定し、磨砕しきれなかつた組織片を再びトロアカールにつめ直し、その体積比より全組織片に含まれる細胞数を求めた。1 回の組織片注入量には凡そ 400×10^4 前後の腫瘍細胞が含まれるものと推定された(組織片移植)。

腫瘍を移植した動物を次の 5 群に分けて実験観察した。

- 1) 移植後、無処置のまま死亡するまで観察したもの。
- 2) 移植後、経時的に屠殺したもの。
- 3) 移植後、移植部原発腫瘍に対し機械的刺戟を与え、その後の経過を観察したもの。
- 4) 移植後、経時的に腫瘍の存在する患肢を切断したもの。
- 5) 移植後制癌剤を与えたもの。

これら実験群のうち、3) の機械的刺戟として、1/1 注射針を用い移植後 8 日目に経皮的に脛骨腫瘍部を穿刺した。4) の切断に際しては、出来るだけ出血を避け、鼠蹊部に大腿動静脈を結紮切断した後、股関節において患肢を離断した。5) の制癌剤はトマイシン (10γ, 5γ, 2γ), テスパミン (150γ, 100γ, 50γ), ナイトロミン (1000γ, 500γ, 250γ), マイトマイシン-C (70γ, 50γ, 30γ) を用い、投与方法としては、移植後 24 時間および 7 日目より連続 5 日間尾静脈より注射した。

以上の実験操作は出来るだけ無菌的に行い、感染の予防に努めた。屠殺方法はエーテルにより行つたが、肺組織への影響が考慮されるものについては、頸椎脱臼を生ぜしめ屠殺した。

各実験群の成績判定には次の方法を用いた。

1) 肉眼的および組織学的観察

移植後、局所の腫瘍発生並びに増大の状況を視触診すると共に、その長径と短径を計測した。腫瘍死、或は屠殺した動物の全身諸臓器および組織について、肉眼的および組織学的に検索した。組織学的検索法としては主な内臓諸器官および淋巴節を 10% ホルマリン固定後、パラフィン包埋を行ない、切片標本作製し、ヘマトキシリンエオジン染色、マロリー染色および Bier-

表 1 移 植 成 績

	移 植 動 物 数			腫 瘍 死 動 物 数		
	総 数	事 故 数	有 効 数	正常経過	異常経過	移 植 率
浮 遊 液 移 植 群	7 5	7	6 8	5 3	0	77.9 %
組 織 片 移 植 群	6 0	3	5 7	4 5	0	78.9 %

Ischowsky 変法による鍍銀法により観察した。その他各臓器および組織の塗抹標本について、メイグリュンワルド・ギムザ二重染色法により鏡検した。

2) 生物学的検査法（移植試験）

腫瘍動物の肺血および心血を採取し、これを新しい動物の皮下に移植し、もし腫瘍細胞がそこに存在すれば、被移植動物の皮下で腫瘍を形成する。かくして腫瘍形成をみたものを移植試験陽性とした。肺血は肺全体をポッター組織磨砕器に入れ、少量の生理食塩水を加え、磨砕して得た搾汁液を以つてした。又リン巴節については、これを同様に磨砕して得た組織粥を移植した。

3) レ線学的観察

動物の全身のレントゲン撮影を行ない、局所の変化と共に、全身の骨格への転移の有無を調べた。

第3章 実 験 成 績

第1節 脛骨骨髓内移植の移植率および生存日数

第1項 移 植 率

脛骨骨髓内に移植された腫瘍は、移植後5日目頃より局所の腫瘍増殖が触知されるか、又は肉眼的に認められるようになり、次第に大きさを増し、鳩卵大より鶏卵大の大きさに達して腫瘍死を遂げる。その移植率は表1に示す通りである。移植率は季節により変動を示し、夏季における移植率は著しい低下を示したので一部表より除外した。表に示す実験は主に春季および

秋季におけるものである。腫瘍は時に2週目内外において退縮をきたすものがあり、移植陰性となるものがあつた。明らかに移植手技上の失敗と考えられるものは実験から除外した。移植方法による移植率の差は余り認められなかつた。

第2項 生 存 日 数

生存日数は最短13日、最長70日であり、平均生存日数は25.2日である。生存日数のヒストグラムは図1の通りで、分布の幅が広いが、50%生存日数は約23日で、殆んどすべての動物はこの50%生存日数の2倍の範囲内で死亡した。死亡原因の大部分は肺転移によるものと思われたが、原発腫瘍の自潰による出血死、或は原発腫瘍増大に伴う全身の高度な貧血と悪液質に陥り腫瘍死を遂げたものもかなり多く認められた。

第2節 転移の場所と頻度

腫瘍死を遂げた動物は何れも移植部に腫瘍の増殖がみられ、多くは大腿部におよび、中には背部皮下にまで増殖がひろがつているものもあつた。何れも脛骨は強く破壊され、脆弱となつて病的骨折を伴つていた。

これらの動物について、死亡時に内部諸臓器および組織の腫瘍転移の有無を検索した。

検索し得た動物は計98頭である。そのうち転移の認められたものは82頭、83.7%であり、主に肺臓、次いでリン巴節に転移し、両者は各々、単独に転移を起す傾向を示し、合併して転移の認められたものは全体の26.5%に過ぎなかつた。その他の諸臓器への転移は殆んど認められず、わずかに3例、腎臓への転移が認められたが、これらのうち2例は腎門部リン巴節の転移果が腎周囲より浸潤増殖したものであつた。肝臓及び

図 1 生存日数分布図

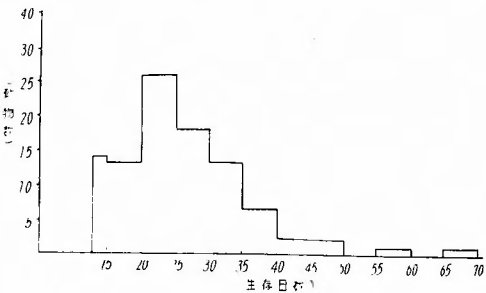
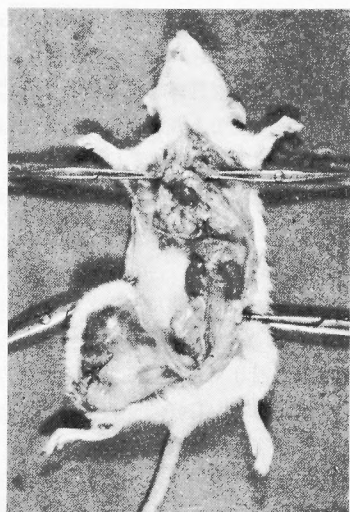


表 2 転移の起る場所と頻度

臓器名	転移数	転移率	臓器名	転移数	転移率
肺 臓	66	67.3%	脾 臓	0	
心 臓	0		骨	0	
肝 臓	0		淋巴節	47	47.8%
腎 臓	3	3.1%			

動物数：98頭

図 2



脾臓は多くは腫大し、貧血性を呈しているものが多くみられたが、中には反対に強い萎縮に陥っているものもみられた。脾臓の腫大せるものは最高4gに達し、濾胞不明瞭となり、組織学的所見では髄外増殖が高度に認められ、骨髄細胞、骨髄芽細胞、赤芽球、巨細胞等が強く増殖し、白色髄の萎縮が認められる。このような変化は7日目頃より軽度ながら認められ、末期に近づくに従いその程度を増してくる。肝臓には多く鬱血性浮腫を認め、グリソン氏鞘内に軽度の骨髄系細胞の浸潤を認めたが、腫瘍栓塞乃至は増殖、転移形成を認めたものはなかった。

第3節 肺 転 移

第1項 剖 検 所 見

骨髄内に移植された腫瘍細胞は直ちに血行性に肺に送られ、肺の血管系に栓塞を起し、そこに定着して転移巣を形成してくるが、肺転移の様相は種々様々であつて、灰白色の粟粒大結節が播種状に全肺野に撒布されたものから、えんどう大結節が一肺葉に局限して孤立性に発生するもの、前二者の混合型等が見られた(図3)。転移の高度なものでは肺は殆んど腫瘍組織によつて占められ、剖面は褐色実質性無気肺の状態に陥っているのがみられる。転移の中等度のものでは赤褐色に腫大し、肺炎を合併しているものもかなり見られた。肺転移の程度とその頻度は表3に示す通りであるが、一般に腫瘍細胞浮遊液移植群の方が転移巣が広範囲に拡がっている傾向があつた。肺転移の程度と生存日数との関係は図4に示す通り、生存日数が長いほど高度になり、原発腫瘍の存在期間に比例して肺転移巣の数

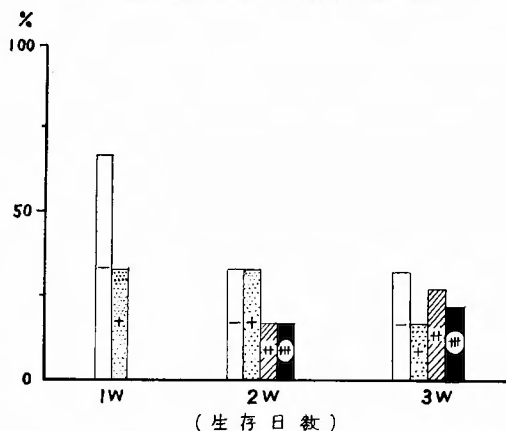
表3 肺 転移の程度と頻度

	動物数	肺 転 移 数				転 移 率
		卅	卅	+	-	
浮遊液移植群	53	13	16	7	17	67.9%
組織片移植群	45	9	11	10	15	66.7%

とその大きさを増してくる。併し原発腫瘍が高度に増大し、生存期間が平均生存日数より長いものに、肺転移の軽度乃至は殆んど認められないもののがかなり多く、全体の14.2%にかようなものが認められた。

組織学的所見では、腫瘍細胞は血管ないし気管枝周囲の間質内に増殖し、毛細血管又は細小血管の腫瘍栓塞を認める。部位によつては全く腫瘍組織で占められ、その中心部に腫瘍自体の類壊死を認め、転移巣周辺の肺泡は強く圧排されて無気肺に移行する像が見られる。血管はかなり腫瘍細胞のため破壊されており、小出血が見られる。腫瘍細胞は全般に核分裂像が少く、主としてかなり広い原形質を有し、限界の不明瞭な、内に塩基性の微細顆粒を有する基本細胞よりなる。この細胞の核はかなり一様で、円形または楕円型を呈し、核膜は明瞭、かなり大きなクロマチン顆粒およびクロマチン網構造を有し、1〜2個のエオジン好性の核小体を含んでいる。これらの基本細胞に介在して大型の核を有し、原形質の空胞化しているもの、核の小

図4 肺転移肺転移の程度と生存日数



- 註 +++ 肺全体が殆んど腫瘍組織で占められるもの。
 ++ 転移巣が比較的多発しているが、尙健全肺組織を残すもの。
 + 転移巣が一葉に局限、或は数葉に散発しているもの
 転移の認められないもの。

型でやや濃縮し、原形質がエオジンでよく染つた細胞が存在する。標本によつては、このエオジン好性の細胞が群集している像も見られた。時に腫瘍細胞はきわめて異形性の強い紡錘形の細胞および長い突起を有する星状細胞で占められ、細胞間隙の発達した肉腫様組織を示すことがある(図6,7)。この部位の嗜銀線維は細胞間に入り込み、個々の細胞間の連絡が見られる。

第2項 肺転移の起る時期

i) 肉眼的および組織学的検索

脛骨骨髓内移植後、肺に送られた腫瘍細胞は肺の血管系に腫瘍栓塞を形成するが、これら大部分の腫瘍細胞は時間の経過と共に、漸次変性に陥り、消失の運命を辿る。その中一部少数の腫瘍細胞はその増殖能を残存して生き残り、肺組織に定着して増殖を開始し、転移巣を形成する。この過程を肉眼的所見および組織像より追求した。

移植直後、肺の毛細血管に遊離した腫瘍細胞が1〜2個、時に数個が群をなして存在するのが認められる。所々の小血管内に腫瘍細胞の栓塞をみる。大部分の腫瘍細胞は染色性には大した変化を認めないが、形態上では不整となり、ゆがんだ形態を生ずるものが多い(図9,10)。

移植後3時間。腫瘍細胞の染色性は著しく低下し核が比較的鮮明であるのに原形質境界が不鮮明となつてゐる。変性壊死の状態に陥つてゐるとされる細胞の数は増加している。

移植後12時間。変性壊死に陥つた腫瘍細胞の数は増加し、原形質の境界が不鮮明になつたものがみられる。

移植後24時間。栓塞腫瘍細胞の大半は消失し、膨化した細胞がみられる。時に生残つたと思われる腫瘍細胞が血管内に認められる(図11)。

移植後48時間。血管内に残存した腫瘍細胞はわづかながら増殖し始め、所々に分裂像が認められるに到る。肺組織への浸潤像はない(図12)。

移植後72時間。腫瘍細胞の肺組織への浸潤像が認められるようになるが、その数は極めて少ない。栓塞腫瘍細胞は殆んど消失している。

移植後5日目。腫瘍細胞は血管周囲に増殖し始め、各所に肺組織への転移が認められる。一般に肺泡は肥厚し、所々に出血巣を認める(図13,14)。

移植後7日目。腫瘍細胞は肺泡間および血管周囲に増殖し、転移巣は拡大してくる。転移巣を構成する腫瘍細胞は殆んど基本細胞よりなり、周囲に線維細胞の

増生を認める。

以上の経過は検索し得た動物に一律に認められるとは限らず、又その増殖速度には多少の遅速が見られる。肉眼的に肺表面に腫瘍結節が認められるようになるのは、移植後7日目前後であるが、この時期では転移を確認しうるものは検索数の33.3%に過ぎない。その後転移巣は急速に増殖し、10日目頃には60%の転移率を示すに至る。

ii) 移植試験

移植後、経時的に肺血を採取し、これを新しい動物の皮下に接種し、腫瘍発生の有無を検索した。その成績は表4に示す通りである。即ち移植直後の肺血では陽性を示すが、24時間目、48時間目では陰性である。3日目以後は再び陽性となり、陽性率は向上してくる。新しい動物の皮下腫瘍発生までに要する潜伏期は接種3日目のものでは19日、5日目では17日、7日目では14日、16日目では10日と漸次短縮をみた。移植直後の移植試験では5例中4例に陽性をみた。うち2例は皮下結節発生後、退縮を示したが、本試験では陽性の中に加えた。16日目、18日目、22日目の移植試験では、肺転移の高度なもの左心室より心血を採取して、これらの接種を試みたが、何れも陽性を示した。

表4 移植試験

試 験 施行日	動物数	陽 性 数				皮下結節出現 までの平均潜 伏期
		肺	百分率	腰淋 巴節	百分 率	
直 後	5	4	80%	0	0%	15 日
24時間	6	0	0%	0		
48時間	5	0	0%	0		
72時間	5	1	20%	2	40%	19 日
5 日	6	2	33%			17 日
7 日	9	4*	44%			14 日
10 日	8	4	50%			13 日
16 日	2	2**	100%			10 日
22 日	3	2**	67%			10 日

* 右心血移植 1を含む

** 左心血移植 いずれも肺転移陽性のもの

第3項 移植腫瘍細胞数と肺転移との関係

腫瘍細胞浮遊液に含まれる腫瘍細胞の数を種々変換せしめて骨髓内に移植し、腫瘍の発育状態、生存日数および肺転移について観察した。移植腫瘍細胞数と原発腫瘍発育との関係は図15に示す通りである。即ち、少量移植群(10×10⁴, 20×10⁴, 30×10⁴)では潜伏期間が長く、平均15日であるが、大量移植群(1000×

図15 移植腫瘍細胞数と原発腫瘍増大度

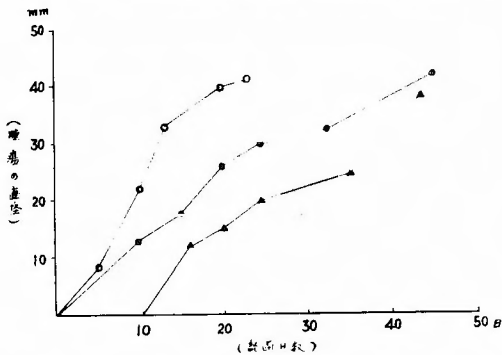
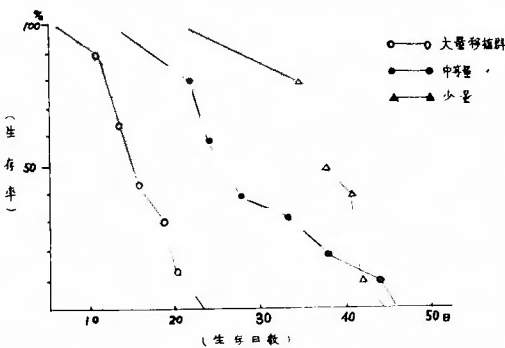


図16 移植腫瘍細胞数と生存百分率



10^4) では平均 7 日である。中等量移植群 (150×10^4 , 300×10^4) ではほぼその中間, 10 日を要した。

原発腫瘍の発育状況は移植後 3 週目位までは中等量移植群が少量移植群に比しほぼ 2 倍の大きさをもつて増大を続けるが, 4 週目頃には両者の差は近づき, 最終の大きさでは殆んど差が認められなくなる。

平均生存期間は少量移植群では 39 日, 中等量移植群では 33 日, 大量移植群では 15 日である。(表 5)

肺転移との関係は, 少量移植群では大量移植群に比し明らかな差異が認められた。即ち転移巣の数, 分布

表 5 移植腫瘍細胞数と肺転移との関係

移植腫瘍細胞数	動物数	移植陽性数	移植率 %	潜伏期	平均生存日数	肺転移数	肺転移率 %
1000×10^4	10	8	80%	5	15	6	75%
500×10^4	9	7	78%	7	25	5	71%
300×10^4	6	4	67%	9	25	3	75%
150×10^4	5	4	80%	13	41	2	50%
30×10^4	5	3	60%	15	43	2	67%
10×10^4	6	3	50%	15	35	0	0%

状況についてみると, 少量移植群では各肺葉に散発性に発生し, その数は少ない。これに反して, 大量移植群では肺全体に播種性に多発し, 大小種々の腫瘍結節が見られる。個々の転移巣の大きさは, 少量および中等量移植群では生存期間に比例してその大きさを増している。

肺転移率は少量移植群では幾分低下し, 殊に 10×10^4 移植群では全例に転移を認め得なかつた。

第 4 項 小 括

肺転移の形成は肺の腫瘍細胞栓塞によつて生じ, 時間的経過と共に増殖して転移巣に発達してゆくが, この過程を分析すると, 先ず肺の血管系に栓塞を生じた大部分の腫瘍細胞は短時日の間に変性壊死を起して消滅する。一部少数ながら生き残つた腫瘍細胞は増殖能を残して生存し, 24 時間後には既にその存在が明らかに認められ, 48 時間後には血管腔内での分裂増殖が始まるが, 毛細管壁を破壊して肺胞内に侵入増殖を開始するのは 5 日目前後である。続いて肺組織に腫瘍結節を形成して広範な血行性転移をみるに至る。移植後の時間的経過と腫瘍増殖過程とは必ずしも一致しないが, 10 日目より 2 週間目の間にほぼ転移率は 67.3% に達する。共同研究者葛岡の実験によれば, 移植後 6 日目頃より再び大腿静脈流血中に原発部より流出する腫瘍細胞の出現を検出しているが, これら二次的な肺転移も加わつて, 転移巣の数を増し, 肺に大小種々な腫瘍結節を形成する。併し肺転移の程度および増殖速度を左右するのは移植腫瘍細胞の数であり, 1000×10^4 移植群では急速且広範囲に亘る肺転移を形成したのに反し, 30×10^4 , 10×10^4 移植群では転移の程度も軽く, 転移巣の増殖も緩慢であつた。

移植試験における皮下腫瘍の陽性率とその潜伏期間は肺に含まれる腫瘍細胞の数と増殖能の有無を示している。即ち移植後 24 時間, 48 時間では陰性であるが, この時期の肺内に栓塞した腫瘍細胞は大部分変性している事を示している。7 日目に右心血による陽性例が認められたのは肺循環に入る腫瘍細胞の存在を意味し, 16 日目以後に証明された左心血による移植陽性例は肺循環より大循環に入る腫瘍細胞の存在を意味するものである。

第 4 節 淋 巴 腺 転 移

第 1 項 剖 検 所 見

移植腫瘍細胞が移植時, 脛骨骨髓内より周囲の軟部組織内に洩れた場合, 或いは腫瘍が骨髓内で増殖し, 骨皮質を破壊し, 軟部組織に浸潤増殖した場合に屢々

表 6 リンパ節転移の場所と頻度

リンパ節 移植法	腰	腎門	腋窩	脇間	鼠蹊	頸部	気管	転移 陽性 数動物
浮遊液 移植群	14	3	9	3	2	2	6	24
組織片 移植群	19	6	7	0	0	0	5	23
計	33	9	16	3	2	2	11	47
%	70.2	19.1	34.0	6.4	4.1	4.1	23.4	

リンパ腺転移が認められた。リンパ腺転移の発生率は腫瘍細胞浮遊液移植群では53例中24例、42.2%，組織片移植群では45例中23例、51.1%にみられた。

転移を来すリンパ節の場所と頻度は表6に示す通りである。転移の頻度の最も多くみられたリンパ節は腰リンパ節であつて、次いで腎門リンパ節、右腋窩リンパ腺にみられ、その他気管、頸部リンパ節にも認められたが、一般に首側にゆくに從つてその程度および頻度は少くなる。腰部、腎門および腋窩リンパ節は屢々小豆大よりえんどう大の大きさに腫大し、時にはくるみ大から鶏卵大の大きさに達しているものがあつた。腫大したリンパ節では屢々中心部の壊死がみられた。

組織学的所見では、転移の初期にはリンパ節の辺縁洞に局限した腫瘍細胞の浸潤がみられ、転移が進むと腫瘍細胞は次第に浸潤増殖して、遂にリンパ節全体を腫瘍組織で置換するに至る。ここに見られる腫瘍細胞は肺の転移巣に見られたものと同じである(図8)。

第2項 リンパ腺転移の起る時期

腰部リンパ節は移植後約3日目位で、米粒大に腫脹しているものが多い。併しこれを組織学的に検すると、単なる反応性 Reticulosis に止まっているものも少なくない。又一方、転移を思わせる腫大を認めないリンパ節にも組織学的に検すると、腫瘍細胞の浸潤をみるものがあつた。リンパ節の塗抹ギムザ染色標本による腫瘍細胞の検出は大体組織標本の転移像と一致した陽性率を示した。

腰部リンパ節転移をみる移植試験では、移植後3日目で陽性を示した。又この時期の塗抹標本でも腫瘍細胞の存在を確認した。更に移植後3日目に患肢を切断した動物に既に腰部リンパ節転移を形成していたものが認められた。

第5節 転移の促進および抑制に関する実験

第1項 機械的刺戟

腫瘍移植後、移植部脛骨にレ線骨変化が認められるようになる時期に、穿刺による機械的刺戟を与えた

ものは穿刺後、局所の急速な増大をみ、穿刺後9日目のレ線像では明らかに骨破壊像が高度に起つてくる(図17)。

図 17

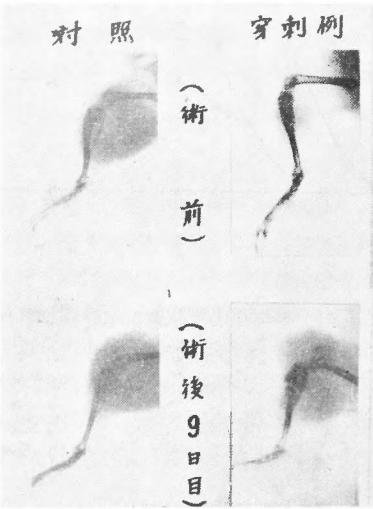


図18 穿刺後原発腫瘍発育曲線

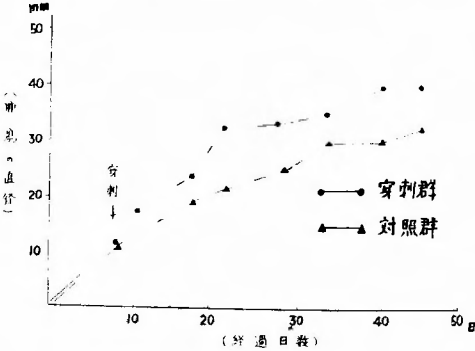
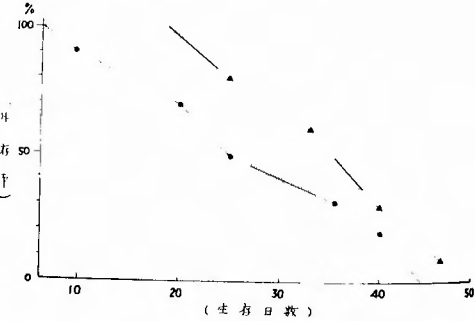


図19 穿刺群の生存百分率



註、本実験は9月下旬に行なつたものであり、この季節における移植動物の生存日数は何れも平均生存日数より延長した。

表7 原発腫瘍穿刺による転移の程度と頻度

	動物数	肺 転 移				淋 巴 節 転 移			
		卅	卅	+	計	卅	+	計	
対照群	8	0	2	3	5 (63%)	0	2	2	(25%)
穿刺群	10	1	2	4	7 (70%)	1	3	4	(44%)

生存日数は穿刺群では短く、平均25日であり、対照群では平均35日であつた。転移に関しては、穿刺群は対照群に比しやや高率を示したが、穿刺による機械的刺激が肺転移を特に促進せしめたという結果は得られなかつた(表7)。即ち穿刺後10日目の屠殺剖検例5例のうち、転移巣が急激に増加したと思われるものはなかつた。併し腰淋巴節への転移は明らかに促進される結果を得た。

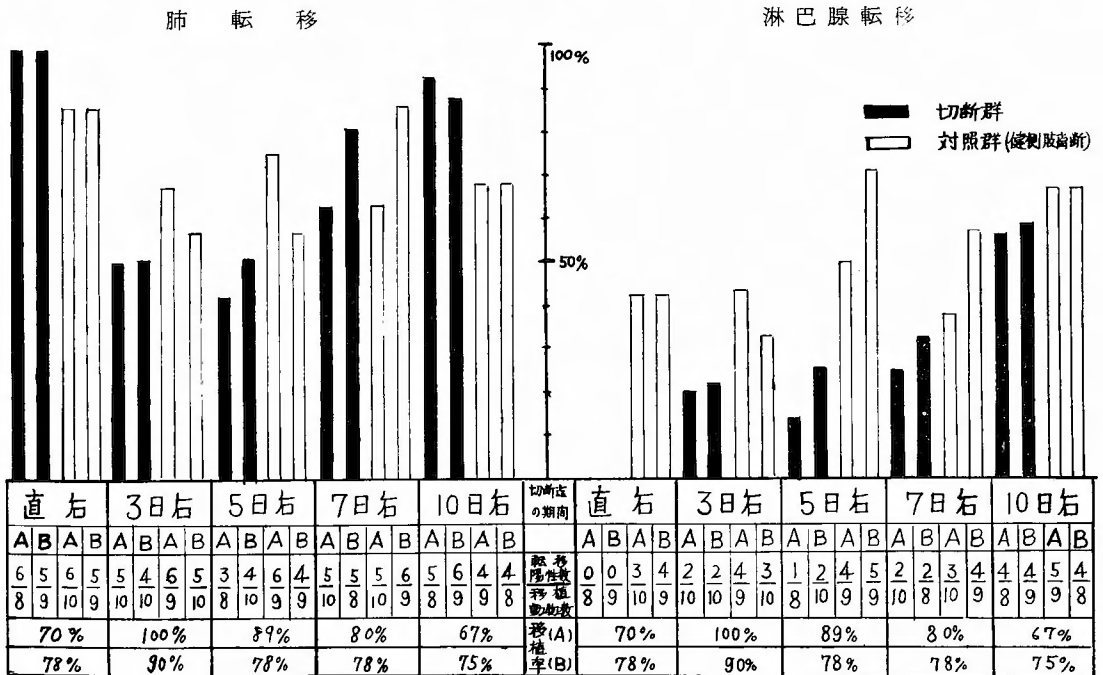
第2項 切断手術と転移との関係

原発腫瘍を有する患肢を移植後経時的に切断除去した場合の転移との関係は図20に示す通りである。直後切断群では、A群：8頭中6頭、B群：9頭中5頭に肺転移を認め、これら各実験群における移植率より有効動物数を求めると、肺転移率は各々100%となり対

照群に比べ高率を示し、切断が却つて肺転移を促進せしめたような結果を得た。3日並びに5日後の各切断群では、何れも肺転移率は対照群に比べ低下し、或る程度の切断効果を認めることが出来る。併し1週間後切断群ではほぼ肺転移には影響を与えず、対照群と同率を示し、10日目切断群では、A群：8頭中5頭(93%)、B群：9頭中8頭(88%)の肺転移を認め、再び肺転移率が増強する結果を示した。

切断動物に於ける肺転移の様相を対照群と比較するため、肺表面の腫瘍結節の数とその大きさの関係を求めた。大きさは腫瘍結節の直径をもつて6段階に分類した。即ち、1mm以下1度、1mm以上2mm以下を2度、2mm以上3mm以下を3度、3mm以上5mm以下を4度、5mm以上8mm以下を5度、8mm以上を6度と分類した。腫瘍結節の各実験群における数と大きさの分類は表8、図21. に示す通りである。移植直後切断群では腫瘍結節の平均数は対照群とほぼ同数で、大きさの分類も対照群と同程度の範囲内にある。5日目切断群では腫瘍結節の数は対照群に比し減少しているが、大きさを増している。10日目切断群では再び腫瘍結節の数の増加がみられ、大きさの分類は対照群とほぼ同程

図20 切断と転移との関係



A: 腫瘍細胞浮遊液移植

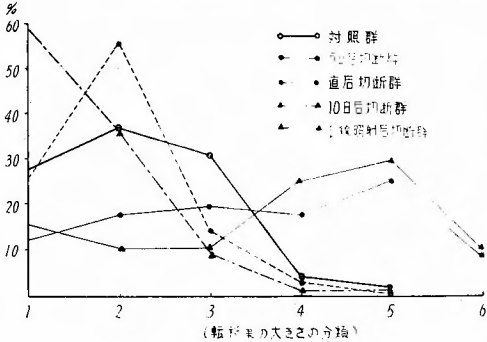
B: 組織片移植

表 8 肺 転移巣の数と肺転移率

移植後 切断までの 期間	動物 数	肺 転 移 巣 数		平均 肺 転移巣数	平均 肺 転 移 率
		最小	最大		
対 照 群	20	62	103	82.5	74%
直 後	11	24	144	83.3	100%
3 日 後	10	14	80	33.1	47%
5 日 後	12	14	102	35.2	47%
7 日 後	9	53	88	70.7	72%
10 日 後	8	65	105	85.0	91%
レ線照射 5 日 後	10	4	31	13.8	44%

註：各群に於ける剖検は何れも切断後3週より
4週の間に腫瘍死せる動物について行なつた。

図21 肺転移巣の数と大きさとの関係



度の範囲内となつている。更に葛岡の実験により移植直後より6日間、肺に対して総計600rのレ線照射を行ない、移植後5日目に切断した動物の肺転移の状態について観察すると、腫瘍結節の数は著るしく減少しているが、その大きさは増大している。

第 3 項 制癌剤の転移に及ぼす影響

腫瘍移植後1週間目より各種制癌剤を投与し、3週

表 9 制癌剤の投与開始時期と転移抑制効果

	投 与 開 始 時 期	投与 回数	肺転 移率	淋巴腺 転移率
ナイトロミン (1000γ)	24時間後	5	0%	0%
	7 日 後	5	41%	27%
テ ス バ ミ ン (150γ)	24時間後	5	0%	0%
	7 日 後	5	24%	15%
トヨマイシン (10γ)	24時間後	5	40%	35%
	7 日 後	5	40%	40%
マイトマイシ ン-C (50γ)	7 日 後	5	38%	31%

目に屠殺剖検した4群の実験動物の転移について、肉眼的および組織学的に検索した。各実験群にみられる肺転移と淋巴腺転移発生の頻度は表9に示す通りである。

本腫瘍は一般にこれら各種の制癌剤に対する感受性は高く、肺転移は何れも抑制され、肺転移率の低下を認めた。特にテスパミン投与群は優秀な成績を示し、肉眼的に転移巣を殆んど認め得ないものが多かつた。他の3群では転移を全く抑制し得なかつたものもあった。肺転移巣の組織学的所見では、何れも腫瘍部の間質の増殖を認め、腫瘍細胞の数の著しい減少を認める。腫瘍細胞は原形質、核ともに膨化し、細胞融解直前の像を示すもの、核が濃染し、ピクノーゼ状を呈するものがみられ、又核の変形、崩壊像が目立つ。間質の間には所々細胞融解或は空胞変性によると思われる円い空隙が点在している。これらの組織像は何れの薬剤を用いた場合にもほぼ共通した所見である(図22~27)。投与量と肺転移との関係は表10に示す通りであるが、投与量の多寡によつて肺転移巣に及ぼす抑制効果に差を認めた。即ちテスパミン50γ投与群、マイトマイシン30γ投与群では肺転移を抑制し得ず、組織学的所見においても腫瘍組織に殆んど変化が認められなかつた。投与開始時期と肺転移の関係はナイトロミン、テスパミンの有効量を移植後24時間目より移植した群では、殆んど全例において腫瘍細胞の発育が認められな

表10 制癌剤投与量と肺転移との関係

制 癌 剤	投与量	検 索 数	転 移 陽性数	転移率
テ ス バ ミ ン	150γ	25	6	24%
	100γ	9	4	45%
	50γ	5	3	60%
ナイトロミン	1000γ	22	9	41%
	500γ	9	4	45%
	250γ	9	1	11%
トヨマイシン	10γ	31	12	40%
	5γ	10	5	50%
	2γ	7	3	43%
マイトマイシ ン-C	70γ	12	4	33%
	50γ	26	10	40%
	30γ	9	4	67%

かつた(表9)。

淋巴腺転移巣に対しては各薬剤ともに或る程度の抑制効果が認められたが、中には腫瘍組織に全く変性、崩壊像が認められず、無効と思われたものもあり、ナイトロミン、トモイシン投与群にその傾向がみられた。

第4項 小 括

転移を促進せしめるものとして先ず局所の穿刺による機械的刺激が転移に如何なる影響を与えるかを検討した。結果として肺転移は穿刺群70%, 対照群63%で、穿刺群がわずかに高率を示し、同時に局所の増大、生存日数の短縮をみた。次に移植直後の切断は却つて肺転移を促進せしめる結果を得た。この現象は10日目以後の切断群においても見られた。転移を抑制するものとしては移植後3日および5日目切断群に肺転移率の低下を認めた。又その肺転移巣の様相に種々な変化を観察することが出来た。即ち転移巣の数の減少と個々の転移巣の大きさの増大が認められた。これは原発巣の除去による二次的肺転移の防止に由来するものであり、骨髄内移植腫瘍の肺転移の成立には一次的なものと二次的なものとが関与していることを物語るものである。制癌剤の効果は用いた何れの薬剤にも認められ、肺転移は20%乃至40%の減少を認めた。特に移植後早期有効量投与群は優秀な治療成績を示した。

第4章 総括並びに考按

Walker氏腫瘍は1928年 John's Hopkins 大学の George Walker 研究室で妊娠白鼠の乳腺部に自然発生したものである。転移は認められず、発生初期には組織学的に腺癌と診断された。累代移植の間に carcinosarcoma と組織診断されたり、carcinomatous variant と Sarcomatous variant が亜系として記録されたりしているが、Stewart¹³⁾らは原発腫瘍が混合腫瘍であつたと推論することによりこれを理解しようとしている。Earle¹⁶⁾は間質組織にいくらかの変化は認めるけれども、この腫瘍の細胞構造には肉腫性要素はないと述べ、組織培養における腫瘍の発育特性から確証している。われわれは本腫瘍を骨髄内に移植した場合、移植部周囲の組織反応に強い影響を与え、肉腫様性格が著しく出現することを認めたが、本実験中にみられた転移巣における組織学的所見では、癌腫様組織における基本細胞が数多く占め、その間に異形度の高い紡錘形細胞および星状細胞が一見細網肉腫様に互に突起をもつて繋がつて増殖している像も見られた。果してこ

れらの肉腫様細胞が原発巣の形態学的変化と関連のあるものか、或は変性途中の細胞と見なすべきかは明らかでない。恐らくは転移巣の初期像が基本細胞よりなることから転移の主体をなすものは大部分この基本細胞によるものと考えられる。

悪性腫瘍の転移については、一般に或る腫瘍は或る部位に好んで転移を形成する事実はよく知られているところである。人間の骨肉腫の場合、転移は殆ど先ず肺に認められる。肺転移の成立は原発腫瘍から遊離して血行内に入つた腫瘍栓子が肺に送られ、ここで十分な量と増殖能を有する腫瘍栓塞を形成して、始めて腫瘍細胞は組織に定着し、増殖するものと解されている。併し肺転移の成立は単に腫瘍栓塞という機械的因子のみでは説明がつき難く、全身のおよび局所的因子の他にも未だ充分に解明されていない幾多の因子が腫瘍に含まれているものと考えられる。

Coman¹⁸⁾は2種の家兎腫瘍について異つた臓器の腫瘍形成の状態につき報告し、腫瘍転移の主な因子は充分な量の生育しうる腫瘍細胞が一定の局所に到達し、且定着することであり、これをもつて第1段階とした。Zeidman²⁰⁾は種々の濃度の肉腫浮遊液を作成し、これを静脈内に注入し、生じた肺の転移巣の数を測定し、その結果転移巣数は生育し得る栓塞重腫細胞の数に比例していることを証明した。更に大きさの異なる組織片を皮下に移植した実験から肺転移巣の数は腫瘍組織片の大きさ並びに原発腫瘍の存在期間に比例し、原発腫瘍の最終の大きさには無関係であることを示している。高橋²¹⁾は廿日鼠の腫瘍浮遊液を静脈内に注射し、肺転移巣の見当らない例においても種々の段階の変性を示した腫瘍細胞の栓塞が多数見られることから、転移形成の成否は血行侵入よりもむしろ細胞の血管内定着後の生育力の如何によるとしている。

実験的に同一の腫瘍を注入した場合にも、腫瘍細胞の増殖力と個体の抵抗力乃至は免疫性により或る程度の差を生じ、殊に個体の抵抗力の減退が腫瘍の発育に影響を与えることは当然である。又反対に個体が後天的に抵抗性乃至免疫性を獲得した場合、腫瘍は増殖し難くなる。大島²²⁾²³⁾は血路中にある腫瘍細胞栓子は如何なる部位にでも定着増殖し得て、腫瘍性病変を作るのではなく、その一部が一局所に占居して増殖が許されるためには血管分布の如何がこれによつて運ばれる腫瘍細胞栓子に影響を持つのは云うまでもないが、臓器組織の一部に前駆した何らかの特異性、或は非特異性の組織変化が存在したり、又循環障害、機能異常

等があると、その部に流れて来た腫瘍細胞はその部を占居して、而も本来の増殖性が許され転移巣を形成する。併し、その条件のない場合は組織の清浄作用によつて到来した腫瘍細胞も崩壊せしめられると述べている。

教室の葛岡の研究によれば、骨髄内に移植された腫瘍細胞は移植直後その移植量の約過半数が所属の大腿静脈を通過することが証明された。従つて本実験にみられる肺の腫瘍栓塞は移植と同時に形成されたものである。故に移植直後の組織標本にはかなり広範囲に亘る毛細管 および 細小動脈内の 腫瘍細胞の 栓塞を認めた。併しこれらの腫瘍細胞の大部分は極めて短時間のうちに栓塞部に変性壊死に陥り消失する運命を辿るものと考えられる。宗像²⁶⁾はマウス腹水肝癌を静脈内に注入して、肺における腫瘍細胞の栓塞状態を経時的に追求し、その大部分99.7%は72時間以内に変性消失するが、ごく少数の残存せる腫瘍細胞が増殖を示し、最後には著明な腫瘍の増殖巣を形成してくることを明らかにした。Warren²⁹⁾は Walker 氏腫瘍を下空静脈に注入して腫瘍細胞の運命を追求した実験において、血管内腫瘍細胞の発育を12時間後に既に認めたが、血管外に増殖し転移を認めるようになるのは5日目以後であり、10日目には全例の2/3に肺転移結節を認めている。

腫瘍栓子の血管外への増殖は毛細管壁を破壊して血管周囲に浸潤増殖し始める像が最も多くみられ、小動脈管壁を穿通して血管外に浸潤する像は稀である。従つて小動脈に見られる腫瘍栓子の多くは転移形式には不適当なものと考えられる。川島³⁰⁾はマウス腹水肝癌の肺転移巣における腫瘍の増殖形式を主に3型に分類し、A) 間質内増殖型、B) 血管内増殖型、C) 気道内増殖型に分けている。このうち血行性転移によるものはA、およびB型であるとしているが、本実験の成績でも肺血管周囲および気管枝周囲の増殖を認める所謂間質内増殖が大多数を占め、血管系内に浸潤性に増殖してくるものはこれに随伴し、更に転移の高度なものでは増殖が気管内に起つてくるのを認めた。肺内における転移巣の分布は、あるものは肺周辺部より肋膜への浸潤像を示し、あるものは気管枝周囲の淋巴節への浸潤像を示し、夫々腋窩、肺門淋巴節への転移の可能性を思惟したが、特に好発部位と思われるものはなかつた。Knusely³¹⁾は腫瘍細胞塊の大きさにより肺転移の分布状況が異なることを明らかにし、小さい塊の一部は肺の周辺に転移巣を形成し、一部は肺を通過して他の

臓器に転移を作り易いと述べている。

肺に到達した腫瘍細胞が即時性に肺を通過するか否かについても数多くの研究がみられる。Zeidman³²⁾は各臓器の転移を起し易い腫瘍は肺通過も容易であることを実験的に証明した。この実験には Walker 氏腫瘍も用いられているが、その通過率は極めて低い。Coman³³⁾は肺には殆ど如何なる腫瘍細胞の通過も許すだけの充分大きな肺動静脈交通路が存在することから、腫瘍細胞の肺通過は以前想像されていたよりも、もつと容易に起ると述べ、又肺がその物理的構造、機能および循環機構の上からは一見転移腫瘍の発育に比較的反対の条件を備えているにも拘らず、最も転移発生頻度の多い場所であるのは、肺が全静脈血の灌流をうけ他の器官よりも多くの栓子を阻止する場所であり、もし栓塞細胞の少数が生残るならば、肺はやはり転移が最も普通にみられる場所としての器官でなければならぬと述べている。田頭³⁷⁾らは吉田肉腫を骨髄内に移植し、その移植細胞数の多寡により、動物に見られる病像が異なることを明らかにした。即ち移植細胞数が5000/1cm以上の場合には著明な白血病性を呈するに反し、5000以下では亜白血病性であり、組織像においても肝、脾における腫瘍聚落は概ね著しい増加を示さない。肺においてはたとえ極めて少数を移植した場合でも、肺血管に高度の栓塞並びに浸潤が認められるが、これは骨髄から動員される腫瘍細胞が肺栓子となつてとまり、その後必ずしも大循環に入つて肝、脾に到達しないためと考えている。佐藤³⁴⁾は静脈より肺に絶えず腫瘍細胞が送られるならば、連続的な腫瘍細胞の肺通過は可能であろうと推測しているが、肺を通過し得て大循環系に入つた腫瘍細胞が再び他の臓器に栓塞し、そこに転移を形成するためには尚充分な量と生育し得る腫瘍栓子を必要とする。併し各臓器への転移は単に肺を通過する腫瘍細胞数、或は解剖学的な血管の太さ、走行、分布等により運行される腫瘍栓子の多寡のみでは解決されることが出来ない問題も多く、そこには臓器自体の種々な要因、即ち適当な酸素供給、ホルモン、栄養状態、網内皮系等の抵抗防禦作用が重要な因子の一つに挙げられ、又腫瘍自体の悪性度にもよるものと思われる。一般的傾向として、よく分化した腫瘍細胞は未分化型の腫瘍細胞に比べて血中に腫瘍細胞が検出されにくく、かつ結節性の増殖をする傾向がみられる²⁸⁾。又実験的に腫瘍細胞の血管内移植において、よく分化した腺様細胞癌は実性胞癌に比べてその成績ははるかに不良であるとの報告²¹⁾もある。

可移植性動物のうち転移を起すものは比較的少なく、Stewart⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾ によれば40%と云われ、又転移が各種臓器組織に広範囲に広がるものはごく少数に限られている。本実験に用いた Walker 氏腫瘍は一般に転移を起すことは少なく、主に所属淋巴腺、稀に肺に転移すると記載⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾ されているが、われわれの実験でも皮下に移植したものは殆ど肺に転移を認めなかつた。これを血行内に移植した際にも転移は肺と淋巴腺に限られていた。又移植腫瘍細胞数の多寡は肺転移並びに生存日数と局所腫瘍発生までの潜伏期に影響を及ぼしたが、他の臓器への転移は認められなかつた。本腫瘍を門脈内に移植し、肝臓に腫瘍転移を形成せしめ、特に網内皮系を遮断した実験群では、肝臓、肺臓、腎臓に転移形成を認めた報告⁽³⁸⁾ があるが、本実験では、移植末期において流血中に肺転移巣より放出乃至は肺を通過する腫瘍細胞の数が増えるにも拘らず他の臓器に転移を認めなかつたが、これは転移を形成するに至るまでに宿主が腫瘍死を遂げるためではないとも想像し得る。併し宿主の免疫性の獲得、原発巣と転移巣の相互抑制作用も亦関与するところが大であると考えらる。

転移を促進させるものに局所的因子と全身的因子があげられるが、この両者の間にも亦種々の因子の介在があり、相互に関連性を有するものと考えられる。通常われわれが骨腫瘍を診断するに当り、先づ問題となるのは局所の刺激が転移にどの程度の影響を及ぼすかと云うことである。腫瘍組織を切開したり、マッサージすると肺転移が増加するという実験的報告⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾ がある。本実験では原発腫瘍を穿刺することにより転移に如何なる影響を及ぼすかを試みた。結果は局所腫瘍の増大と生存日数の短縮を認めたが、肺転移に関してはわずかに穿刺群が7%高率を示したのみで既に形成されている転移を更に増強せしめるという明らかな実験的事実は観察し得なかつた。

原発腫瘍の除去と肺転移との関係については、Schatten⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾、Ketcham⁽⁴⁴⁾ は後肢皮下に移植したS-91 Melanoma の肺転移について、転移巣の数と大きさを測定し、これと切断との関係を論じている。Schattenは切断後、多数の潜在性転移の急速な発育をみ、原発腫瘍がある大きさに達すると遠隔転移の成長を抑制する効果のあることを認め、手術的手段が転移に影響を及ぼすものではないと結論した。Ketchamは切断による腫瘍の完全除去は転移数を減少し、転移巣の大きさの平均を増加せしめる事を示した。Cole⁽⁴⁵⁾ は皮下腫瘍での早期

切断は転移を防止する事を実験的に証明しているが、その他の腫瘍切除或は移植部切断後の転移を観察した実験では、何れも転移の完全防止を認めていない。本実験では移植直後既に潜在性肺転移が形成されているとみてよく、移植後の切断が転移を防止するということは望むべくもないが、経時的な切断が肺における腫瘍細胞の発育と増殖に種々な影響を及ぼすことがみられた。即ち移植直後切断では手術その他の影響による全身的な変動が、肺の転移部における腫瘍細胞の増殖を容易ならしめ、晚期切断では原発重瘍の転移巣に対する抑制効果の除去により却つて転移は増強された。併し肺における腫瘍細胞の増殖能が未だに少なく、或は弱められた時期における切断は或る程度の治療効果が認められ、肺転移の様相に変化を示した。Ferguson⁽⁴⁶⁾ は人間の骨肉腫について、切断に伴う全身循環の変動により流血中の遊離重瘍細胞が肺組織に定着して、転移を形成するようになるという仮説を立て、また腫瘍組織は終始同じ割合で成長しているのではなく、初期の活動期では分化の程度の低い細胞が増殖し、これが流血中に入つて、容易に転移を形成しうる能力を有し、静止期の分化度の高い細胞よりはるかに強いと説明している。花北⁽⁴⁷⁾ も骨肉腫発生初期で未だ局所症状の明らかでない時期にすでに肺には Lungentochterherd の芽がめばえ、これは原発重瘍が増殖の一途を辿る間は静止状態を保ち、一旦切断等によつて原発巣が除去されると、腫瘍増殖の全エネルギーが肺転移巣に集中してにわかに増殖を来し、線上市明らかに認めうる程に発育するものであろうと解釈している。著者も本実験結果より Ferguson の臨床的観察に基く推論に対して賛意を表するものである。

化学療法剤の転移抑制効果に関する実験では、トヨマイシン、ナイトロミン、マイトマイシンC、テスパミンの4種の薬剤を用い、その効果を検討した結果、何れも肺転移巣に対して肉眼的にも組織学的にも或る程度の抑制効果を発揮し得た。殊にテスパミンは良好な成績を示した。一般に制癌試験の効果はその癌細胞がある薬剤に対して感受性を有するかどうかということと、その癌細胞自体にその薬剤の有効量が実際に到達し、制癌作用を発揮しうるかどうかということにより決定される。トヨマイシンにおいて転移抑制効果の低下がみられたのは、注射部位の壊死化により薬剤有効量が充分転移巣に到達しなかつたためと思われる。吉田、佐藤等⁽⁴⁸⁾ はラット腹水肝癌スペクトラムの実験に基き腫瘍細胞固有の薬物感受性の差は驚く程大きい

ことを指摘しているが、本実験でも投与量の差によって転移巣に対する抑制効果は著しく減少した。又腫瘍に及ぼす制癌剤の治療効果は、腫瘍細胞数が少なければ少ない程有効度を増し、且投与量も少なくすむわけであるが、移植後早期における化学療法群が殆ど完全に転移を抑制し得たことは、早期治療の重要性を証明するものであり、腫瘍細胞の活動状態の如何がその抑制効果を左右するとも考えられる。

骨肉腫治療における制癌剤は、一般に術前に使用して原発巣よりの転移を防ぎ、また術後においては流血中の腫瘍細胞や肺の潜在性転移巣の撲滅に有効に作用するものとして用いられているが、制癌効果を充分發揮しうるほど多量に用いると、必発的に起るその副作用のために投与を中止しなければならない状態に陥るのが現状である。併しこの欠点を除去した優秀な制癌剤の出現こそ、骨肉腫の完全治癒を望みうる唯一のこされた課題ではなからうか。

第5章 結 語

岐阜雑系白鼠の脛骨骨髓内に Walker's carcinosarcoma を移植し、その転移形成の状態、とくに血行性肺転移の成立並びに状態について経時的に追求し、更に転移を促進又は抑制する因子につき検討を行ない、次の結果を得た。

1. 転移は主に肺 (67.3%) 次いで淋巴節 (47.8%) に認めた。これ以外の臓器には殆ど転移を認めず、わずかに腎臓 (3.1%) に認めたのみである。

2. 移植法 (腫瘍細胞浮遊液、腫瘍組織片) による肺転移率には殆ど差異を認めなかつた。

3. 移植腫瘍細胞数の多寡は肺転移に影響を及ぼす。即ち肺の栓塞腫瘍細胞数と肺転移巣の数は比例した。

4. 骨髓内に移植され腫瘍細胞の肺栓塞後の運命はその大部分が栓塞部において変性壊死に陥り消失する。少数の生残つた細胞が血管外に出て肺組織に定着し増殖を始め、転移を形成するのは5日目前後であるが、その間の肺内における増殖能を有する腫瘍細胞の数は少ない。

5. 原発巣に穿刺による機械的刺激を与えた場合移植部位の腫瘍は急激に増大し、生存日数の短縮、軽度の肺転移率の上昇を認めた。

6. 切断と肺転移との関係は、切断による転移抑制効果の認められるのは、肺内腫瘍増殖の低い時期に限られ、肺転移率は10乃至20%の減少を示したが、移植直後および晩期切断では肺転移は却つて促進された。

7. 用いた制癌剤は何れも或る程度肺転移を抑制し、特に早期有効量投与は著明な抑制効果を示した。

8. 以上の結果より、如何なる方法を用いるにせよ、肺内における転移腫瘍増殖の低い期間のみが肺転移を抑制し得る時期と考えられる。

拙筆するにあたり御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師近藤鋭矢教授並びに御鞭撻、御助言を頂いた赤星義彦講師に深甚の謝意を表すると共に、御教示を賜つた病理学教室尾島助教授並びに国立京都病院検査科病理大保科長に深く感謝致します。

主 要 文 献

- 岡田三弥：ペリリウムによる骨肉腫形成の実験的研究。京府医大誌, 58, 765, 1955.
- 大石刀一：実験的骨肉腫発生に関する研究。日整会誌, 30, 903, 1957.
- Horie, K. : Histopathological studies on transplanted experimental osteogenic sarcoma. Gann, 52, 225, 1961.
- 干野純之：実験的骨腫瘍の研究。横浜市大医誌, 12, 3, 1961.
- Levin, I. : On the mechanism of the formation of metastases in malignant tumors. J. Exper., Med., 14, 148, 1911.
- 武藤昌知：移植し得べき鶏腫瘍の一新種に就て。日病会誌, 5, 553, 6, 651, 1916.
- 日下公平：可移植性家鶏骨腫に就て。日微病雑誌, 20, 1383, 1931.
- 加藤竹男：家鶏軟骨腫及びその移植に由る組織形態変遷に就ての研究。京都医誌, 16, 1, 大8.
- 高橋正樹：白鼠の腹水腫瘍の骨髓内移植。遺伝学雑誌, 30, 4, 188, 1955.
- 本城治, 他：吉田肉腫移植による白血病像について。癌, 43, 292, 1952, 44, 324, 1953.
- 柳谷文彦：吉田肉腫の血行移植成績。弘前医学, 3, 176, 1952.
- 丹下一郎：吉田肉腫の関節及び骨髓内移植に関する実験。日整会誌, 32, 1, 1957.
- Stewart, H. L. Snell K., C. Dunham L. T. Schlyen, S. H. : Transplantable and transmissible tumor of animals, Atlas of tumor pathology, Section XII Fascicle 40. 261, 1959.
- Dunham, L. J. & Stewart, H. L. : A survey of transplantable and transmissible animal tumors. J. Nat. Cancer. Inst., 13, 1299, 1953.
- Schreck, R. : A quantitative study of the growth of the Walker rat tumor and the Flexner-Jobling rat carcinoma. Am. J. Cancer, 24, 807, 1935.
- Earle, W. R. : A study of the Walker rat mammary carcinoma 256, in vivo and in vitro.

- Am. J. Cancer. **24**, 566, 1935.
- 17) 梶原薫, 他: 制癌実験法に関する研究(3) 8種のマウス結節腫瘍, 2種のラット結節腫瘍の累代維持成績. 武田年報, **20**, 115, 1962.
- 18) Coman, D. R., Eisenberg, R. B., Mc Cutcheon, M.: Factors affecting the distribution of tumor metastases. Experiments with V₂ carcinoma of rabbits, Cancer Res., **9**, 649, 1949.
- 19) Coman, D. R.: de Long, R. P., and Mc Cutcheon, M.: Studies on the mechanism of metastasis. The distribution of tumors in various organs in relation to the distribution of arterial emboli. Cancer Res., **11**, 648, 1951.
- 20) Zeidmann, I., Mc Cutcheon, M., and Coman, D. R.: Factors affecting the number of tumor metastases. experiments with a transplantable mouse tumor, Cancer Res., **10**, 351, 1950.
- 21) 高橋 信: 腫瘍転移に関する実験的研究. 癌, **10**, 48, 1916.
- 22) 大島福造: 転移形成に関する研究, 名医会誌, **51**, 844, 1940.
- 23) 大島福造: 悪性腫瘍の転移問題, 現代医学, **4**, 2, 1955.
- 24) 酒井逸夫: 悪性腫瘍の転移に関する 実験的研究. 名古屋医学, **75**, 520, 1958.
- 25) 田村吉三郎: 吉田肉腫の転移形成機構に関する研究, 名古屋医学, **75**, 732, 1958.
- 26) 宗像秀夫: 腫瘍転移の研究, XII, 血中癌細胞の転帰に関する実験, 福島医誌, **11**, 1281, 1961.
- 27) 宗像秀夫: 腫瘍転移の研究, XI, マウス腹水肝癌 (MH134) 細胞の血行性播布について, 福島医誌, **11**, 1277, 1961.
- 28) 宗像秀夫: 腫瘍転移の研究, X, ラット腹水肝癌細胞の血行性播布について, 福島医誌, **11**, 1263, 1961.
- 29) Warren, S. and Gates, O. The fate of intravenously injected tumor cells. Am. J. Cancer, **27**, 485, 1936.
- 30) 川島芳子: 腫瘍転移の研究 V, C3Hマウス腹水肝癌の手術後の腫瘍再発並びに転移形成について, 福島医誌, **10**, 433, 1960.
- 31) Knisely, W. H. and Mahaley M. S.: Relationship between size and distribution of spontaneous metastasis and three size of intravenously injected particles of VX₂ carcinoma. Cancer Res., **18**, 900, 1958.
- 32) Zeidman, I. and Buss, J. M.: Transpulmonary Passage of Tumor Cell Emboli. Cancer Res., **12**, 731, 1952.
- 33) Coman, D. R.: Mechanisms responsible for the origin and distribution of blood-borne Tumor metastasis. A Review. Cancer Res., **13**, 397, 1953.
- 34) Sato, H.: Experimental studies on the mechanism of metastasis formation. Acta. Path. Jap. **9**, 685, 1959.
- 35) 佐藤春郎: 癌研究とマウスの吟味—腫瘍の転移の問題を中心として, 日本臨床, **19**, 139, 1961.
- 36) 佐藤春郎: 癌転移. 医学のあゆみ, **513**, 38, 1961.
- 37) 田頭勇作, 他: 吉田肉腫に関する細胞学的並に白血病病理学的諸問題について, 癌, **42**, 1, 1951.
- 38) Saito and Omori: Experimental study of the tumor cells in circulating blood. Gann, **51**, suppl., 261, 1960.
- 39) Tyzzer, E. E.: Factors in production and growth of tumor metastases. J. M. Res., Boston, **28**, 309, 1913.
- 40) Knox, L. C. C.: Relationship of massage to metastasis in malignant tumors. Am Surg., **75**, 129, 1922.
- 41) Marsh, M. C.: Tumor massage and metastases in mice J. Cancer Res., **11**, 101, 1927.
- 42) Schatten, W. E.: An experimental study of postoperative tumor metastasis I. Growth of pulmonary metastases following total removal of primary leg tumor. Cancer, **11**, 455, 1958.
- 43) Schatten, W. E. and Kramer, W. M.: An experimental study of postoperative tumor metastasis II, Effects of anesthesia, operation, and Cortisone administration on growth of pulmonary metastases, Cancer, **11**, 460, 1958.
- 44) Ketcham, A. S. and Mantel, N.: The effect of a "Primary tumor" on the development of spontaneous metastases I. Development of a standardized experimental technic. Cancer Res., **19**, 940, 1959.
- 45) Lewis, M. R., and Cole, W. H.: Experimental increase of lung metastasis after operative trauma (Amputation of limb with tumor). Arch. Surg., **77**, 621, 1958.
- 46) Wood, J. S., Holyoke, E. D., et al, Experimental study of relationship between tumor size and number of lung metastases. Cancer **7**; 437, 1954.
- 47) 菅野孝一: 腫瘍転移の研究 VII, リンパ行性転移の成立に関する実験, 福島医誌, **10**, 473, 1960.
- 48) Ferguson, A. B.: Treatment of osteogenic sarcoma. J. B. J. S., **22**, 916, 1940.
- 49) 花北良臣, 他: 骨肉腫の予後, 特に肺転移について. 整形外科, **8**, 153, 1957.
- 50) Hellner, H.: Knochengeschwülste, 1950.
- 51) Sato, H.: Studies on the role of cancer chemotherapy for prevention lymph node metastasis. Cancer chemotherapy rep., **13** 33, 1961.
- 52) Mc Donald, G. O., Livingston, C., Boyles, C. F., Cole W. H.: The prophylactic treatment of malignant disease with Nitrogen mustard and Triethylene thiophosphoramide (Thio TEPA).

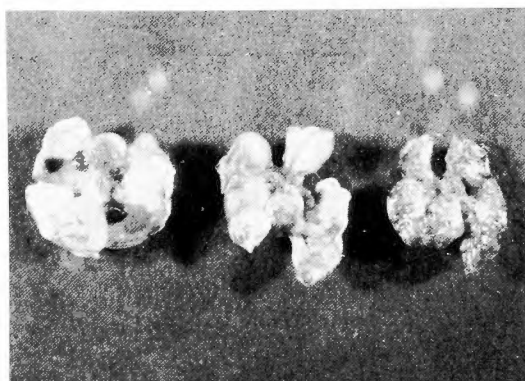


図3 肺転移

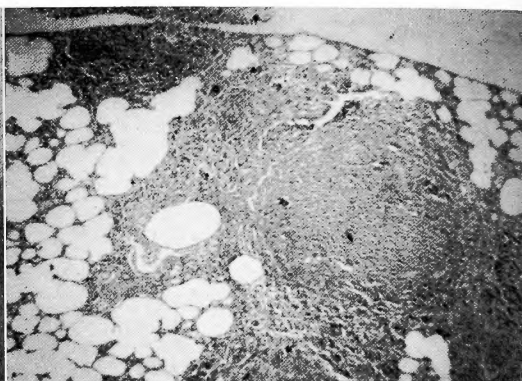


図5 肺転移(移植後21日)×40

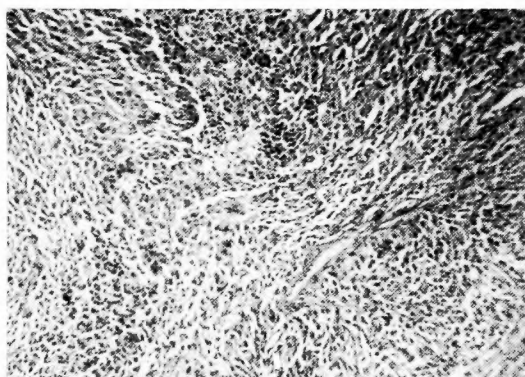


図6 肺転移(移植後30日)肉腫様構造を示す部分.
×100

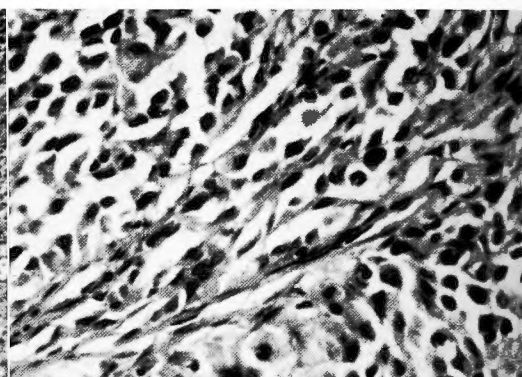


図7 同左拡大 紡錘形細胞および異形細胞からなり、その配列は乱れている。
H.E.染色×400



図8 リンパ腺転移.
×100

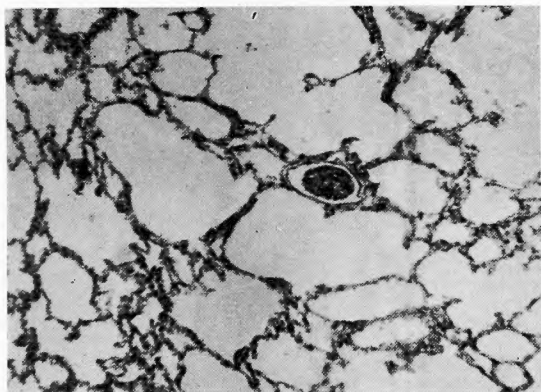


図9 移植直後 肺血管に腫瘍細胞栓塞が見られる
×100

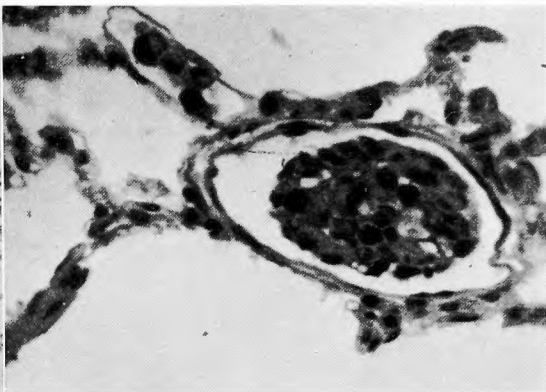


図10 同左拡大. ×400

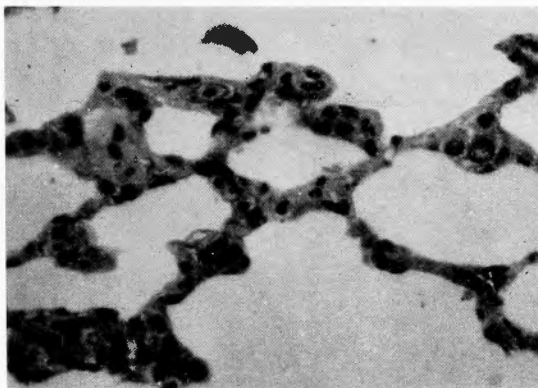


図11 移植後24時間肺, 膨化した細胞および所々生残つた腫瘍細胞が認められる.
×400

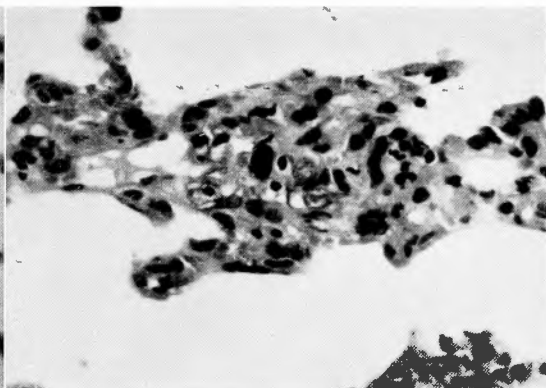


図12 移植後48時間 血管内に腫瘍細胞の分裂, 増殖像を認める.
×400

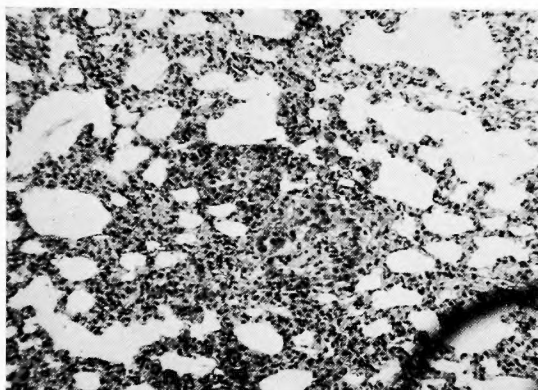


図13 移植後5日目, 肺血管周囲に腫瘍細胞の浸潤増殖を認める.
×100

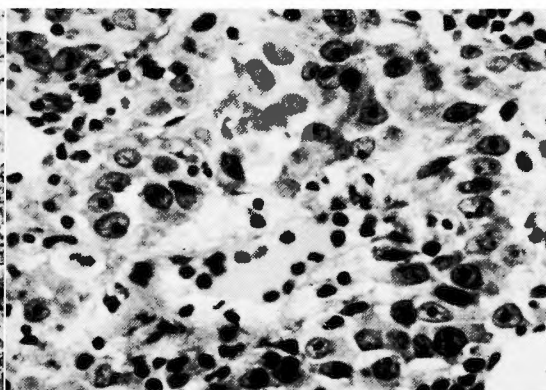


図14 同左拡大 H.E. 染色 ×400

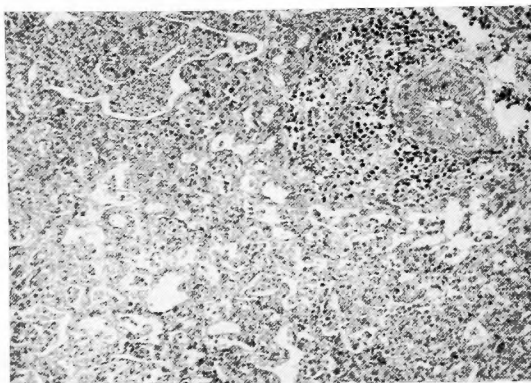


図22 テスパミン 150 γ 投与例. 肺 $\times 100$

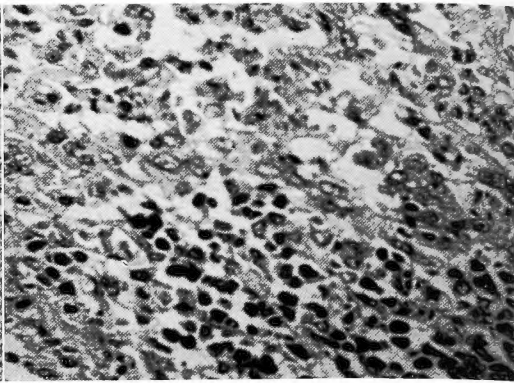


図23 同右拡大. 腫瘍細胞の膨化, 核の濃縮, 空胞変性がみられる. $\times 400$

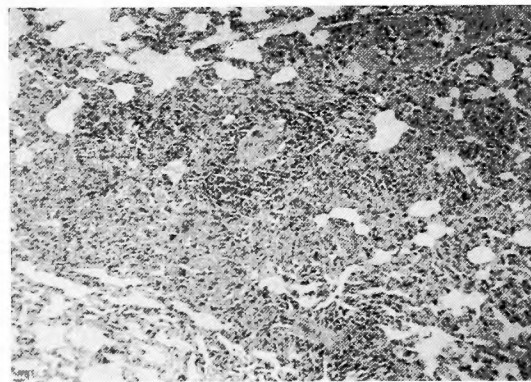


図24 トヨマイシン 10 γ 投与例. 肺 $\times 100$

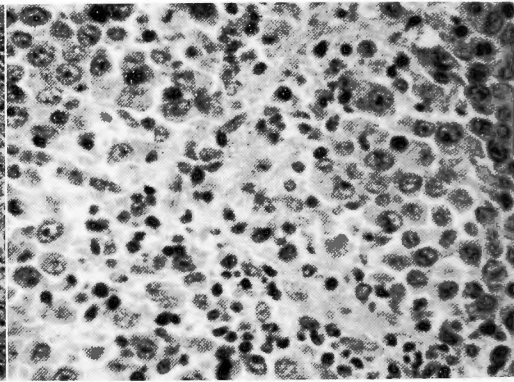


図25 同左拡大. 核は一般に濃染し, ピクノーゼを示すものが多いが, 尚 正常腫瘍細胞も残存している. $\times 400$

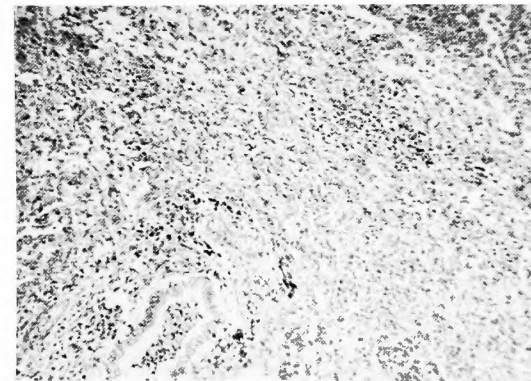


図26 ナイトロミン 1000 γ 投与例. 肺 $\times 100$

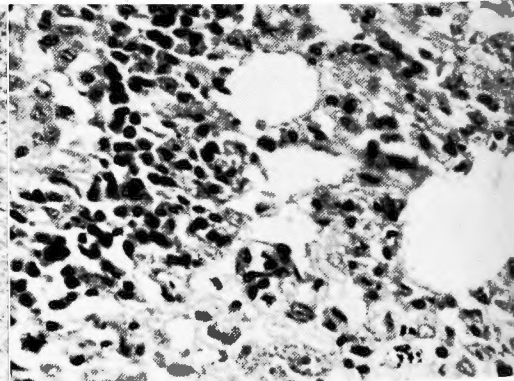


図27 同左拡大. 腫瘍細胞の膨化, 巨細胞化がみられる. H.E. 染色 $\times 400$

Annal of Surg., **145**, 621, 1957.

Kramer, W. M., and Schatten, W. E. : An experimental study of TSPA in the prevention of postoperative pulmonary metastasis. *Cancer* **11**, 463, 1958.

阿波章夫 : Thio-TEPA のネズミ腹水腫瘍に及ぼす細胞学的影響. 遺伝学雑誌, **34**, 245, 1959.

酒井克治 : Nitrogen mustard N-oxide の動脈内挿管投与に関する実験的研究. 日外宝, **25**, 727, 1956.

酒井克治 : 実験腫瘍に対する Mitomycin の抗腫瘍性について. *Chemotherapy*, **5**; 222, 1957.

神崎一吉 : 吉田肉腫の少数細胞に対する各種薬物の抑制能力試験. 癌, **43**, 326, 1952.

石館守三, 桜井欽夫他 : 吉田肉腫を用いた悪性腫瘍の化学療法に関する実験的研究 (XIV) 吉田肉腫少数細胞に対するナイトロミンの抑制能力試験. 癌, **47**, 380, 1956.

Yoshida, T., Satoh, H. et al. : Studies on the ascites hepatoma. (XIV). Further studies on

different responses by different strain of ascites hepatomas of the rat to chemotherapeutic treatment, "Hepatoma spectrum" *Gann*, **50**, (Suppl.), 14, 1959.

60) Tadenuma, K. und Okonogi, S. : Experimentelle Untersuchungen über Metastasen bei Mäusecarcinom. *Ztschr. f. Krebsforsch* **21** : 168, 1924.

61) Watanabe, S. : The metastasizabilily of tumor cells. *Cancer*, **7**, 215, 1954.

62) 武田 進 : 腫瘍細胞. 永井書店, 1956.

63) 阿部光俊, 他 : 骨肉腫の治療. 臨床外科, **16**, 841, 1961.

64) 前山 巖 : 骨原性肉腫 Osteogenic Sarcoma の治療と予後. 外科, **23**, 1157, 1961.

65) 石川哲夫 : 一次性悪性骨腫瘍の診断. 新潟医学会誌, **75**, 42, 1961.

66) Jaffe, H. L. : Tumors and tumorous condition of the bone & joints, 1958.

67) 安東洪次, 他 : 医学研究動物実験法. 朝倉書店, 1956.