

前立腺のDNA代謝

第2編 実験的前立腺腫瘍のDNA代謝

広島大学医学部泌尿器科教室（主任：加藤篤二教授）

数 田 稔

DNA METABOLISM OF PROSTATE

II DNA METABOLISM OF EXPERIMENTAL PROSTATIC TUMORS

Minoru KAZUTA

*From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine**(Director : Prof. T. Kato)*

Injection of 20-MC was done in the anterior lobe of the prostatic gland using male rats of Wistar strain and its carcinogenetic process was observed with HE stain and autoradiography.

1. Following injection of 20-MC in the anterior lobe of the prostatic gland of rats, histological changes progressing in the order of glandular epithel, squamous metaplasia and cancer were confirmed.

2. In autoradiography, both of Tritium Index and mean grain counts were decreased in 3 and 4 days after the 20-MC injection.

3. From around 10 days after injection, squamous metaplasia took place with increased Tritium Index but no carcinomatous change occurred within 50 days. Labelling was localized in only basal layer, which indicates that the one of divided daughter cell stays in the basic layer with maintaining mitotic ability, while the other loses mitotic ability and is pushed upward followed by falling off. The grain counts distributed in a narrow range with the average of 10 to 14 and the mean grain count was less than normal.

4. Around 150 to 200 days after injection, increased Tritium Index with generalized labelling of some cancer nests became evident. This means that each of divided cell holds mitotic ability. The mean grain counts increased and distribution of grain count showed diphasic pattern in narrow ranges. The findings suggested of qualitative and quantitative alterations of DNA although the cause of change was not conclusively decided as direct or secondary effects of 20-MC.

5. This experimental tumor seemed to be possessed of two different abnormal cell dividing modes; one is shortening of a generation and the other is maintenance of mitotic ability in both of daughter cells.

6. In the interstitial tissue, labelled cells increased in number until squamous metaplasia occurred, while they decreased markedly after the cancerous changes developed.

結 言

正常組織の発育は秩序正しく、且増殖の調節

が巧妙に行なわれているが、癌細胞組織にあつては正常にみられる様な調節機構が働いていない為、放縦な増殖がおこる。その様な細胞の増

殖の根底には細胞分裂があり、それで癌の本質が明らかにされる為には、まず正常な細胞の分裂の機序が十分に解明される必要がある。しかるに今日なお細胞分裂の機序は解明されていない現況で、癌の生物学的本性も理解されていない。しかしこの様な細胞分裂の解明の一つの手段として Autoradiography が出現し、諸種のラジオアイソトープをラベルした核酸前駆物質との組合せによって多数の興味ある研究が発表される様になって来た。又発癌機構の解明の手段としても用いられ、Büchner 等¹⁴⁾ はマウスの皮膚に 20-Methylcholanthrene (以下 20-MC) を塗布し表皮の変化と DNA 2 倍化細胞の増加の様子を観察している。即ちまず基底層に於いて分裂が盛んとなり、乳頭腫が生じ、DNA 合成を行なう細胞群が傍基底細胞層ないし棘細胞層にまでひろがり、癌化はこの細胞群から生じることを推論している。又 Baserga 等³⁾ は正常の細胞は安定したコントロールのもとに増殖しているが、何故癌細胞は急速な自律性の増殖をするのであろうか、又正常細胞より癌細胞の方が分裂の時間が早いのだろうか、という疑問を ³H-Thymidine を用いた Autoradiography で研究し、Ehrlich の腹水癌にあっては分裂時間は他の正常細胞よりむしろ長く、細胞分裂の様式の異なることを認めている。その様に腫瘍に於ける組織の発育は必ずしも細胞の増殖の昂進によるものではないことは多くの学者によって明らかにされて来た^{2) 7) 21) 22) 38)} この様に細胞分裂の様式、増殖サイクルの研究には Autoradiography が広く用いられている。私は比較的自然的癌発生の少いといわれるウイスター系のラット前立腺前葉に 20-MC を注入し、その経時的变化を観察し、発癌様式を推定する目的で核酸前駆物質である ³H-Thymidine を用い Stripping 法により組織学的推移と DNA の合成能の変化を追求した。

基 礎 実 験

体重 150gm 前後のウイスター系雄ラットの前立腺前葉に後記の様な方法で 20-MC を注入し 100 日後に 10 匹中 2 匹に扁平上皮癌の発生を認めた (表 1)。

表 1 基礎実験の発癌成績

前立腺組織所見	発癌剤作用期間		計
	50 (日)	100 (日)	
著 変 な し	1	0	1
扁平上皮化生	4	3	7
癌	0	2	2

実 験 方 法

体重 150gm 前後のウイスター系ラットを用いた。飼育方法は第 1 編と同様である。

発癌物質としては和光純薬 K K 製 20-MC を使用した。投与方法は Moore⁵⁴⁾ の方法にならって重濃煎上で加熱した Tween 80 油中に 20-MC を 3% の割合で溶解しツベルクリン用の注射器に充たし、しばらく冷却凝固させた。次にラット 30 匹に対してラボナール腹腔内麻酔下に下腹部正中切開を加え、先の 3% 溶液の 0.1cc を 26 ゲージの注射針で前立腺前葉に注入し、この部を絹糸で結紮した。

Autoradiography は第 1 編と同様に ³H-Thymidine を使用した Stripping 法にて行ない、後染色はヘマトキシリンを使用した。又癌化の過程を病理組織学的に検索する目的で、連続切片を作成それにヘマトキシリン エオジン染色を行なった。

20-MC 注入後 3 日、4 日、10 日、15 日、50 日、150 日、200 日に ³H-Thymidine 0.5 μ c/gm あて腹腔内に注入後 2 時間で屠殺した。成績は各群 3 匹以上の平均をとった。

実 験 結 果

3 日後 (写真 1) : 20-MC に接する部位で腺上皮は核の染色性が、やや薄くなり、核はやや大型となる。核は基底部より浮き上った様になり、細胞質に於ける空胞変性が目立つ様になる。所々腺腔は拡張し、内部に壊死物質を入れる。間質では好中球を主とする急性炎症性細胞の浸潤が見られる。腺維芽細胞様の細胞の増殖もみられる。

4 日後 (写真 2) : 3 日後の所見とあまり変りがない。すなわち 20-MC 注入部は間質の浮腫が強く 20-MC 周囲に好中球、好酸球を主とするまばらな炎症性細胞の浸潤が認められる。一部に出血が遺残している。この様な注入部に近接する前立腺組織では腺上皮細胞の胞体に種々の程度の空胞変性が認められ、この空胞化は腺上皮の基底膜に向う部分により強く現われ

る傾向があり、それに伴って腺上皮は所々基底膜より剥脱ないし挙上し、剥脱部では核の好塩基性がやや減じている。又所により基底膜部分が膨化し、硝子様に肥厚し、基底膜に断裂を認めるところがある。

10日後(写真4): 20-MC 注入部には著明な好中球の浸潤と組織の崩壊があり、膿瘍の形成を伴い、その周囲には肉芽組織の増殖がみられ、注入部は線維性に被包される所見を示す。膿瘍に接する腺上皮は扁平上皮化し、一部破壊され一旦扁平上皮化した後、空胞変性におちいる細胞群もある。膿瘍の周囲の腺上皮に於いても注入部に近接する場所では扁平上皮化が認められ、やや離れた場所では扁平上皮化生が顕著ではないが、腺上皮は一般に萎縮状で腺腔は拡大し、腺上皮の折込みが減少し、腺腔内には多量の好中球を入れるものが多い。腺腔の拡張に伴って上皮は著明に扁平化し、所々では上皮の内腔への剥脱が認められる。

15日後(写真10, 11): 20-MC 注入部にはなお著明な好中球の集簇がみられ、その周囲には線維化を伴っている。注入部に接する腺上皮の態度は10日後の所見と類似し、扁平上皮化生が部分的に認められ、やや離れた場所では腺腔の拡張と腔内への好中球の充満が認められる。扁平上皮化は直接化生とは考えにくく、おそらくは基底層からの再生的上皮増生にあたって間接化生が生じたものと考えられる。したがって部分的には移行上皮様に見える場所を混じている。又すでに化生上皮細胞の集団が、基底膜下の間質に増殖する様に見える場所も混ずるが、化生上皮の異型性は確実に認められない。

50日後(写真15, 16): 注入部は一種の異物肉芽組織の形をとり、好中球の浸潤は減少している。線維組織にリンパ球、形質細胞など慢性化した炎症性細胞浸潤を認める。注入部に近接して、不規則な腺腔を形成して増殖し、扁平上皮化した腺組織を認める。その一部は腺腔の形が不規則で、管壁の扁平上皮化した上皮細胞は、しばしば乳嘴状に腺腔に向って増殖する傾向を示す。その一部が壊死におちいつている所もあり、管腔の不整化にともなって、部分的には間質への浸潤性増殖をするかの如き細胞層も見られる。扁平上皮化した上皮細胞には核の大小不同が軽度に見られ、細胞質の空胞変性、核濃縮、核融解の変性所見をかなりまじえている。しかし異型性は軽度である。化生をまねがれて注入部に接する腺上皮は細胞が小型化し、腔の拡大と共に細胞は扁平化し、種々の程度に空胞変性を伴うものが多い。間質には浮腫が強く、血管の軽度の拡張も見られる。

150日後(写真18): 20-MC 注入部と考えられる場

所は異形的な扁平上皮の著明な増殖層でおきかえられており、扁平上皮癌の所見を示す。扁平上皮は乳嘴状に増殖し、不規則な細胞索を作り、所によっては、なお管腔を取り囲む様な形を示す所もある。扁平上皮癌の部分では核が大きく、核小体も腫大して明瞭で、しばしば核小体が2個見られる。細胞質の好塩基性も一般にはやや高まっている。有糸核分裂像もかなり見られる。角化傾向が顕著に認められ、parakeratosis の形で角化におちいった細胞が、塊をなして存在し、大きな変性層を形成している所もあり、この癌巣に接する腺腔ではなお良性と考えられる扁平上皮化生を示す部分があり、その外部に内腔が囊胞状に拡張し、腔内に壊死物質を充満し、上皮の著るしく扁平化した部分も見られる。間質は腺維性で、好中球と形質細胞及びヘモジデリン様の色素を貪食する組織球の浸潤が強い。

200日後(写真21): 20-MC 注入部は完全な角化扁平上皮癌の病巣と化し、本来の腺腔とは無関係に不規則な乳嘴状構造を示す異形扁平上皮の像が見られ、細胞索の間は角化物で充満し、所により壊死におちいり、好中球の浸潤を伴っている。扁平上皮癌の部分では核は泡沫状に大きく、大型で濃染する核小体をそなえ、核分裂に富み細胞質の好塩基性が高い。間質内への浸潤性増殖も明らかに認められる。この癌巣を薄い線維組織が取り囲み、その線維組織に一致して癌化を示さない腺組織があるが、その上皮は萎縮し、扁平化し、腺腔は囊胞状に拡張している。さらに一部の腺組織は扁平上皮化生を示し、化生上皮には空胞変性が一般に強く、この腺組織部の間質はやや浮腫状で、かなり強い形質細胞の浸潤を伴っている。

Autoradiography の所見

3日後(写真3): 3日目の標識は20-MC に接した部分に特に増加しては見られず、Tritium Index (以下 TI) は0.8~1.2と正常のものより低い値を示す。平均粒子数は14.30(図2)と正常の上皮細胞の16.21(図1)より低い値を示し、その標識の peak は10~14に集中し粒子数の30以上のものは見られず、標準偏差も5.45と正常に比してその広がりが狭くなっている(図2)。間質の細胞では著明な標識の増加を認め、特に線維芽細胞様の細長い細胞への取込が増加していた。

4日後: 3日後のものとはほとんど変化がなく、20-MC に接した部位に於いても、標識細胞の増加はみられずその TI は0.7~1.4とこれも正常のものに等しいか、むしろそれより低い値を示している。平均粒子数はさらに小さく、標準偏差も小さくなっている(図

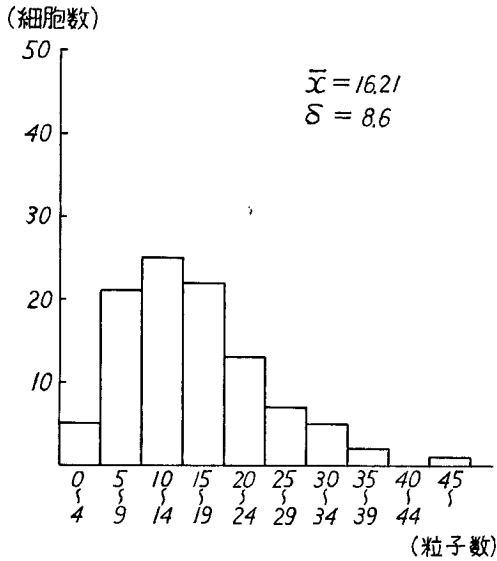


図1 正常前立腺上皮

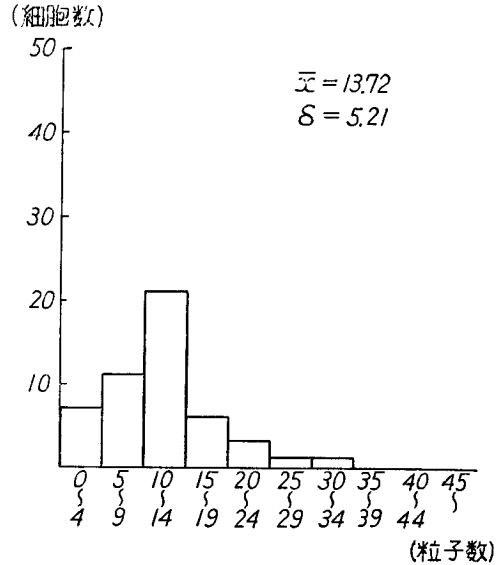


図3 20-MC 投与4日後

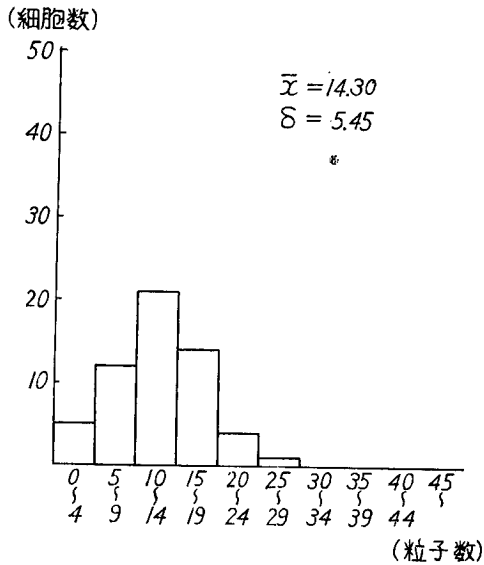


図2 20-MC 投与3日後

3) やはり間質の細胞の標識は著明に増加している。

10日後(写真5, 6, 7, 8, 9): 10日目になると20-MCに接する部位に於いて扁平上皮化を生じて来る。その部位に於いては著明な標識核の増加が目立って来る。すなわちそのような部位では標識は基底部分に局限し、TIは11.2~25.3と増加して来る。一見腺上皮の崩壊したような部位の標識の増加も見られ(写真9)、そのような部位に於いては核は形が一樣

ではなく標識も多層にわたってみられる。おそらくこれは再生を起している部位の標識と思われる。また20-MCに接し比較的腺様構造が保たれているような部位での取込も増加している(写真7, 8)。しかし粒子数についてみると平均15.23と正常に比して少くまた10~14の間に集中し、標準偏差も4.86と4日目に比してさらにその値が小さくなっている(図4)。20-MC注入部より離れて正常な腺様構造を保っている部位に於いてはTIは0.7~1.2とやはりかえって標識された

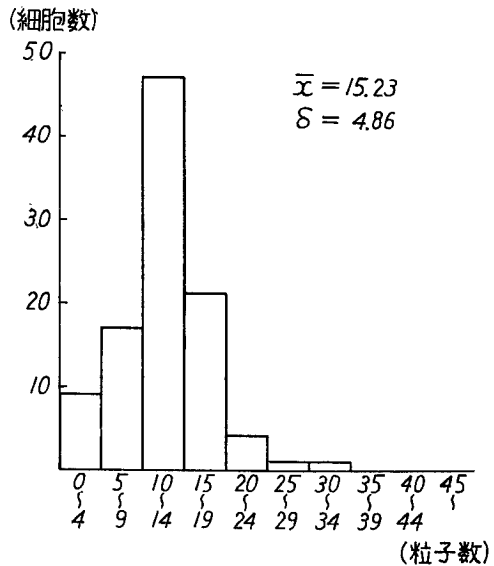


図4 20-MC 投与10日後

細胞の数は少ない。10日目の例に於いても、間質の細胞の標識が目立つ。

15日後（写真12, 13, 14）：20-MC に接し扁平上皮化を生じたような部位に於いては10日後の例と同様に標識の増加がみられるが標識された核の数は10日後の例とあまり差がなく（写真13）、TI は12.2～24.6である。20-MC に接して比較的正常に近い腺様構造を保っているような部位に於いても、標識の増加がみられる（写真12）。この場合も平均粒子数は減少し、粒子は10～14の部位に集中し標準偏差も4.15と小さい値を示す（図5）。間質にあってはやはり線維芽細胞様の細長い細胞への標識が目立っており、標識数も増加している（写真14）。

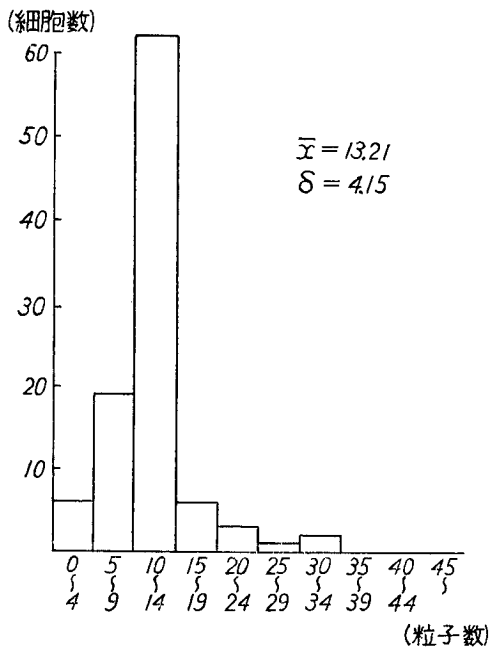


図5 20-MC 投与15日後

50日後（写真17）：20-MC に接し扁平上皮化を生じた部位では基底層に一致してさらに標識核の増加を認め、15.3～36.7とTIの増加がみられる（写真17）。部分的には40～50の部位もみられる。粒子数は平均が13.35とあまり変わらず、10～14の部位にほとんどが集中しており、標準偏差も4.27と小さい（図6）。間質の細胞の標識が減少して来る。

150日後（写真19, 20）：この頃になるとHE染色の標本に於いては扁平上皮癌とみなされる変化を認める。こうなると乳嚢状に増殖した癌巢の基底部に当たる部分に於いてはその標識はTI が35.2～78.3となり著明な増加を来す（写真19）。また良性の扁平上皮化生

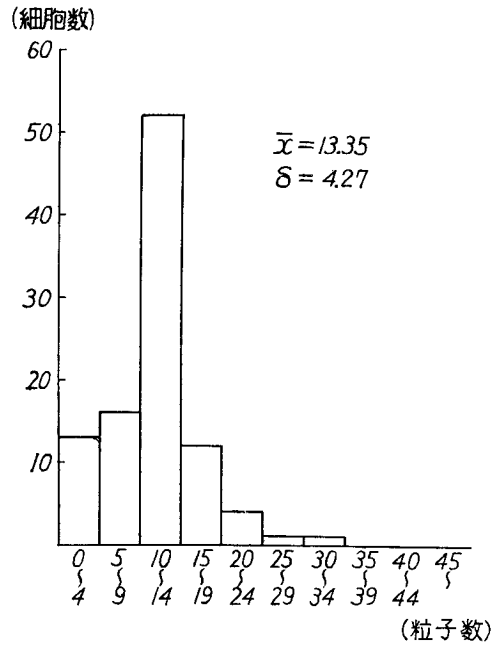


図6 20-MC 投与50日後

を示す部分に於いても部分的には40～80の標識を示す部位も見られる。このような時期になると細胞分裂を起している細胞への標識も見出される。また平均粒子数も19.4と急増し、その分布をみると5～9、25～29と二つの peak を有する。また標準偏差についてみても11.40とかなり大きな値となり、分布の拡大を示している（図7）。この頃になると間質の細胞の標識は激減して来る（写真19, 20）。

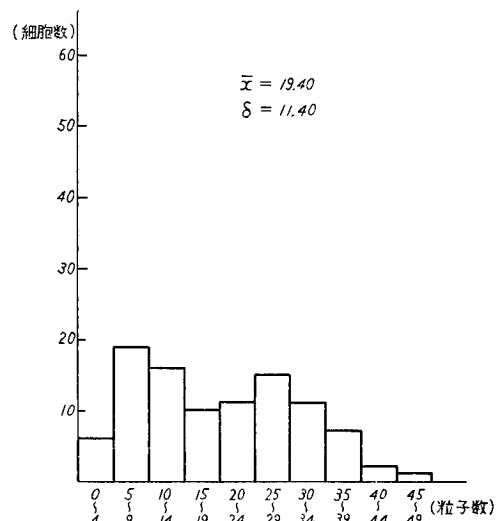


図7 20-MC 投与150日後

200日後(写真22, 23, 24):さらにそれが200日前後となると完全な角化扁平上皮癌の像を示し, その基底部にあたる部分では TI は42.1~72.2を示し(写真22), 150日後の値と変りがないが, 部分的には80~90の標識を示す部位もある. またこのような例では角化の著明な癌巢の中心に於いては, 標識はほとんど認められない(写真23). この頃の標本では基底部のみならず癌巢全体にわたって標識の見られる部位がある. このようなものを初めて癌と呼ぶ人もある. このような標本でも癌化を来たさず, 腺様構造の保たれている部分も見られるが, その萎縮, 扁平化したような上皮に於いても標識の増加が認められる. この場合も平均銀粒子数は増加し, 分布は2層性を示している. 標準偏差も9.92と大きな値を示す(図8). 150日後の例と同じようにこの頃に於いても間質の細胞の標識は著減している(写真23).

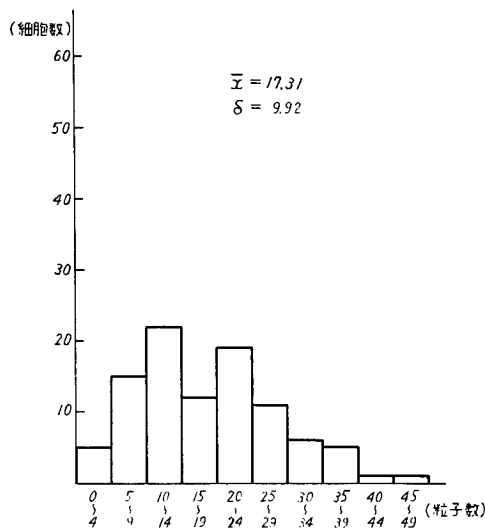


図8 20-MC 投与200日後

考 按

古くより何が癌の原因かという疑問がもたれ, その解決の為に多くの発癌実験がなされた. 現在ではその数も数十万種とされており, この種の問題に関する知識は極めて豊富なものとなって来たが, この研究の契機を作ったものは何といっても, 山極, 市川によってなされたコールタール塗布による発癌実験であろう. 18世紀に煙突掃除夫に発生する癌は, そのススが原因であるらしいといわれていた. 19世紀に入

り, タール蒸溜工場の職工の皮膚癌が注目されるにいたり, タールと発癌の関係が問題となり, 長年月をかけて実験動物にタールを用いて癌を作ることが企てられたが, 失敗に終わった. しかし1915年山極, 市川はウサギの耳に長期間コールタールを塗布して実験動物での最初の発癌に成功した. 次に当然なされたのが, コールタール中の発癌物質の分離と合成であった. その結果1929年1, 2, 5, 6-Dibenzanthraceneの⁴³⁾, 次いで3-4-Benzpyren²⁰⁾の分離に成功し, 同時にその強力な発癌性も認められた. 又 Wieland⁷⁹⁾, Cook²⁰⁾によってデゾキシコール酸の分解によって強い発癌性のある20-MCが作られるにいたった. その後は続々と発癌物質の研究がなされ, 発癌化合物の色々な性質と発癌性との関連がしらべられた. すなわち化学構造との関係^{5) 45) 67)}, 吸収スペクトルの関係^{39) 46)}, 蛍光の波長と強度^{12) 13) 35)}, リン光⁵³⁾, 赤外線吸収スペクトル³²⁾, 酸化還元電位³⁷⁾, 或は色々な化学反応と発癌性との関係^{1) 29) 30) 31) 71)}, 最近では電子論的研究に見られるようになって来た^{60) 61) 62) 63) 64)}. 発癌物質の数は合成されたものを含めると非常に多く, 発癌因子と云われるものにも物理的, 化学的及び生物学的と多数の因子があり, 又一物質の発癌能力も用量, 溶媒の性質, 投与方法及び投与時間の長短, 又は試験動物の系, 種, 性及び年齢, さらには適用部位, 成分や量その他の未知の条件が重なって変化する. その様な条件まで加えて来ると発癌物質と云われるものは今後かなり見出されるものと思われる. そしてこの様にたくさんのものに発癌性が見出されて来ると, あらゆる化合物に発癌性があるかの様な錯覚すらおぼえる. 特に蒸留水やグルコースの連続注射による動物実験での発癌の報告など知ると, 発癌物質をいったいどの様に考えたらよいかという疑問が生じて来る. しかしながら天然或は合成によって得られる化合物に比して発癌性を有する物質の数はきわめて少く, 又いままでテストされた化合物についても発癌性が見出されたものの数は, 発癌性のないものよりはるかに少い. 又蒸留水やグルコースの連続注射による発癌は, これ等の

もの自体に発癌性があるというよりも連続注射によつて異常な条件を生体の一部に作り出すことによる物理的な作用によつて癌が生じたと考えるのが妥当と思われる。したがって、発癌化合物による発癌機構を考える場合には一応この様なものは除外して、直接生体成分と化学反応或はそれと類似の相互作用を通じて癌を発生させる働きをもつ様なものについて考えるべきである。私はこの意味でラット前立腺前葉に腫瘍を作る実験を 20-MC を使用して行い、その腫瘍の発生に伴う DNA の変化について ^3H -Thymidine を用い Stripping 法にて研究を行なった。

前立腺の腫瘍は人や犬と異なってラットに自然発生したという報告はない。McCoy⁴⁸⁾ は 10 万匹のラットについて検索し 103 匹に原発性の腫瘍を認めているが前立腺には腫瘍がみられなかったと云い、Mirand⁵¹⁾ も数年間に多数のラットを解剖したが前立腺の腫瘍を認めなかったという。私はこのラットに 20-MC を投与し、基礎実験に於いて 50 日前後で扁平上皮化生を、100 日前後で癌化を認めるという結果を得たので、その前後について Autoradiography と組織像との比較を行なった。先ず 20-MC の発癌についてみると、皮膚に塗布した場合、滝、飯島⁷⁵⁾ は 5 週、Reagan⁶⁵⁾ は 7 週、Scarpelli⁷⁰⁾ は 11 週であり、永田⁵⁶⁾ の子宮頸癌の実験は 12~14 週となっている。前立腺についてみると私の基礎実験では 100 日、竹中⁷⁷⁾ 90 日、Dunning²⁷⁾ 198 日と他部に比して前立腺では発癌に要する日数が長い。

発癌物質が生体内に入り細胞を正常から癌化へ変化させる最初の反応が細胞のどの部位で起るかについては古くより議論がされているが、分子レベルで考える場合には核酸か蛋白かという様なことが問題となる。この点発癌物質との結合体形成という立場から蛋白との反応を重視する Miller⁴⁹⁾、Heidelberger 等⁶⁾³³⁾ に対して Boyland¹⁰⁾¹¹⁾、Haddow 等は核酸特に DNA の重要性を主張している。理論的にも蛋白を primary attack の位置と考える Mason⁴⁷⁾、Birks⁷⁾ 等と核酸、或はその前駆体との相互作用

用を重視する Karremann⁴²⁾、Ladik 等³⁶⁾ がある。しかし多くの発癌性を有する化学物質が、DNA と何らかの意味での相互作用をもつことはいままでなされた多くの研究によって明らかにされている。例えば ^{14}C でラベルされた ^{14}C -1, 2, 5, 6-Dibenzanthracene をマウスの皮膚に塗布し、これらを DNA 抽出精製してみるとこの精製された DNA にはたしかに ^{14}C がみられたといい⁵⁰⁾、仔牛の胸腺の DNA を、3-4-Benzpyren と in vitro で作用させると、発癌物質が DNA 塩基対の間に入りこんで intercalation を起すことが報告されている¹¹⁾。これはアクリジノオレンジ系色素が DNA 塩基間に挿入することを X 線回折と他の実験で証明した Lerman 等の研究と類似している。その様に、芳香族炭化水素、異環炭化水素、アミン類は in vitro で DNA と複合体を作り¹⁰⁾、ナイトロジエンマスタード、デメチルニトロアミン様の発癌性アルキル化合物は in vitro, in vivo で DNA 塩基成分をアルキル化することが明らかにされている⁴⁾⁴⁶⁾。DNA との反応が最も考えにくいとされていたバタージェロー系化合物も in vitro で DNA をアルキル化することが最近見出された⁶⁶⁾。しかし前記の様に DNA の一次構造の変化を伴わないで癌が発生するとする考えがないわけではない。すなわち DNA 内の塩基配列によらないで、DNA をとりまく物質の質的、量的、或は部位的变化にもとづく染色体内の DNA のおかれている状態変化が細胞を癌化させるという考え方、すなわち Jacob-Monad⁵²⁾ の理論を適用した考え方⁴¹⁾⁵⁹⁾⁶⁸⁾、又発癌化学物質と蛋白との結合体についての Miller, Heidelberger 等による研究によって DNA と芳香族炭化水素或はアゾ色素との強固な共有結合体の生成の否定等がそれである³³⁾⁵⁰⁾。しかし現在最も確かな実験的及び理論的根拠に立って発癌物質との相互作用の研究が出来るのは DNA であり、又遺伝その他の生命の営みに於いて DNA の占める位置を考えると、DNA と発癌物質の相互作用を追跡するのは当然であると思われる。その意味で私は DNA 前駆物質である ^3H -Thymidine を用い、

20-MC 投与後の発癌経過と DNA の変化について観察を行った。

20-MC 注入後 3～4 日に於ては間質の浮腫が強くなり、核が基底部より浮き上がった様になり、好塩基性がやや減退して来る。その様な場合の Autoradiography では核の標識はむしろやや減少している。これは DNA を合成すべき細胞が、そこにある Thymidine を利用し得なかったことを意味し、20-MC が DNA を合成に必要な酵素を障害するのか⁸⁾⁹⁾、又は直接に DNA に作用してその合成を障害するのかのどちらかではないかと推定した。20-MC 注入後10日頃より扁平上皮化が認められる様になりその部の TI の増加が認められる様になって来る。しかし粒子の分布の状態は10～14個の部位に集中し、正常の場合の正規分布に近い分布又は Dithizone 投与による単なる再生の場合とはその DNA の構成に変化があるのではないかとと思われる。平均粒子数は正常に比して少ない。15日後の所見に於いてもほとんど同様の所見を示している。両者共に 20-MC に接しない部位の腺様構造の正常に保たれている部位に於ける取込の減少がみられるが、Kiljunen⁴⁴⁾ は皮膚への発癌剤塗布の場合、塗布部のみならず、非塗布部にもその影響があることを観察しており、20-MC によって DNA 合成に関係する何等かの因子に障害が生じた為ではないかと考えている。50日となると扁平上皮化生は著明となり、一部乳嚢状の増殖を示す部位も見られる様になる。この場合標識は基底部に一致して認められるが、これは 20-MC によって細胞に特有の RNA 並びに蛋白が障害されて DNA 倍化に対する抑制作用が失われ、為にその部の細胞は未分化の細胞と同様 DNA 合成能を有する様になった為で、上皮に於ける基底層の細胞の DNA 新生と同様のメカニズムがここに見られる。DNA 合成が増加するとその部での多くの細胞が一定時間に作られ、脱落が一定であると Hyperplasia が生じて来る。150～200 日となると明らかな癌化が認められる様になって来る。すると核あたりの銀粒子数の増加及びその分布が一層性になるという特異的な変化を示し

て来る。粒子の分布の変化は高山⁷⁴⁾ のニトロキノリン-1 オキサイドの表皮への塗布実験に於ても認められており、高山は正常細胞が癌化するには頻発する核分裂も必要であるが黒化した銀粒子の分布の不規則性から、何か質的に異った DNA 合成の機序が存在するのではなかろうかと云っている。この様に DNA が腫瘍細胞の特異性に直接関連する物質という考えから、正常細胞の DNA と腫瘍細胞の DNA との質的な相違を見出だそうとする試みが多くなされて来た。例えば腫瘍細胞 DNA の沈降定数を正常細胞の DNA と比較した研究がいくつかあるが今のところ有意の差は認められていない¹⁸⁾²⁴⁾。細胞内の DNA 含量の優れた定量法¹⁹⁾²³⁾²⁵⁾²⁶⁾ が考案された結果腫瘍細胞の DNA 含量が異常であることは一般に認められている。癌に於いては DNA 量が正常より増加するとの論文もみられる⁷⁸⁾。私の場合、正常と扁平上皮化生の間ではむしろ銀粒子の数は後者で低値を示すが、20-MC 投与後 150 日と癌化して来ると銀粒子数の増加がみられる。又 Dithizone 投与の例に於いてはその分布が正常の細胞の増殖に近い粒子の分布を示し、20-MC 投与では扁平上皮化生を生じる頃よりすでに銀粒子数の分布に差のあることから、何か DNA に質的差が生じているのではないかと考えた。¹⁴C-メチールコラントレンを用いた放射性物質による実験では、DNA を非常に純粋に夾雑物を含まない様に抽出、精製してみると、DNA には発癌性物質が全く認められない。又表皮に於ける 20-MC の塗布実験で Büchner¹⁵⁾ は ³H-Cytidin, ³H-Leucin を用いて構造蛋白の変化を認めており、もしそうだとすると私の場合一時的に Ergastoplasma, Ribosome の様な構造蛋白の破壊の為にそれに対応する細胞の一つの適応の結果としてその様な変化が生じて来たという解釈も可能である。しかしどちらにしても、私の実験からだけでは直接 DNA に変化が生じたのか、20-MC の他の物質への影響の結果 DNA に変化が生じて来たのかは論ずることは出来ない。Morton⁵⁵⁾ は腫瘍では細胞分裂の速度の増加があるとし、Baserga 等³⁾ は腹水肝癌で ³H-Thymidine を使

用しての実験より、腫瘍細胞の増殖はむしろ普通より遅いぐらいで、腫瘍では分裂した娘細胞のおのおのが分裂能を有する為に幾何級数的に増加を行い、それで腫瘍全体の生長は早いと云っている。私の例についてみると癌化した細胞では癌巣全体にわたる様な標識のみられるところにより、後者の云う様に娘細胞の両者に分裂の存在するというともあり得ると思える。しかしこの頃より細胞分裂像に標識が見られる様になったこと（正常の腺上皮細胞にあっては2時間では核分裂像の標識はみられない。）、又細胞一世代の時間とDNA合成期との比を表わすTIの増加があることは細胞一世代の短縮もあり本実験腫瘍には両者の併存があるのではないかと考えた。又組織像と20-MCの作用期間との関係をみてみると基礎実験、及び ^3H -Thymidine併用の実験の両者に於いて正常細胞→扁平上皮化生→癌の経過をたどると推測された。この様な事実は皮膚の実験癌、又は実験子宮頸癌の発生に於いて見られている。

間質の変化についてみるとOrr⁵⁸⁾は発癌物質がその支配領域にある支持組織、栄養組織をも含めて全ての要素を変化させた結果代謝過程に変動をもたらした細胞の質的变化をおこさせ、正常な生成の規制に応じきれなくなり腫瘍の発生があると説明している¹⁶⁾。私の実験では円柱上皮→扁平上皮化生→癌の過程に於いて扁平上皮化生が乳嘴状に変化するまでは間質の細胞の標識が増加し、癌化した場合その標識が減少した事実は認められたが、間質細胞の増殖が、上皮細胞の癌化に何か関係しているとの推論は本実験からは下し得なかった。永田⁵⁹⁾は癌化した部分の間質の標識細胞の減少を、上皮細胞の増殖のみ著るしく亢進し、間質細胞の増殖がこれに伴わない為とし、滝沢⁷⁶⁾のMesenchymodystrophia, Mesenchymolysisの所見と一致するとし、生体の癌に対する反応の疲労期の問題と結びつけて興味深いと云っている。

結 語

1. ラット前立腺前葉に20-MCを注入すると腺上皮→扁平上皮化生→癌の順序に変化した。
2. Autoradiography では 20-MC 投与後

3～4日では Tritium Index 平均銀粒子数共に減少した。

3. 10～50日では10日目より扁平上皮化生を生じ、同時に Tritium Index も増加して来る。50日迄は癌化は認められない。標識は基底層のみに局限してみられる。このことは分裂した娘細胞の一方は基底層に残り分裂能を有し他方は分裂能を失って上方に押しやられ剥脱することを示している。平均銀粒子数は正常に比して少く、10～14を中心として狭い範囲の分布を示す

4. 150～200日となると Tritium Index も増加、同時に所によっては癌巣全体にわたる標識もみられる様になって来る。これは分裂した娘細胞のおのおのに分裂能があることを意味している。

平均銀粒子数も増加、その分布は2層性で分布の範囲も広くなり、正常とは異なった質的、量的のDNAの変化を推定せしめるが、それが20-MCの直接作用か、二次的作用による変化かは断定出来なかった。

5. 本実験腫瘍の分裂様式は細胞の一世代の短縮と分裂した娘細胞のおのおのが又分裂能を有するという分裂能の異常の二つの様式を有するものの様である。

6. 間質に於いては扁平上皮化生を生じるまでは標識細胞は増加するが、癌化した場合は著減する。

本論文の要旨は第52回日本泌尿器科学会総会の宿題報告の一部としてまた第53回日本泌尿器科学会総会に於いて演述した。

稿を終るに臨み、御教示、御校閲賜った恩師、加藤篤二教授、病理学的な御指導を賜った第1病理、飯島宗一教授並びにあらゆる協力を惜しまれなかった竹中生昌博士に深謝する。

参 考 文 献

- 1) Bachmann, W. E. and Kloetzel, M. C. : J. Am. Chem. Soc., **60**: 481, 1938.
- 2) Barnard, R. D. and Oppenheim, A. : Brit. Med. J., **1**: 943, 1962.
- 3) Baserga, R. and Kisielewski, W. E. : Scientific American., **209**: 103, 1963.
- 4) Bautz, E. and Freese, A. : Proc. Natl. Acad. Sci., **46**: 1585, 1960.

- 5) Bergman, F. : *Cancer Research*, **2** : 660, 1944.
- 6) Bhagava, P. M. and Heidelberger, C. : *J. Am. Chem. Soc.*, **77** : 2887, 1955.
- 7) Birks, J. B. : *Nature*, **190** : 232, 1961.
- 8) Bollum, F. J. and Potter, V. R. : *Cancer Research*, **19** : 561, 1959.
- 9) Bollum, F. J. and Potter, V. R. : *Cancer Research*, **20** : 138, 1960.
- 10) Boyland, E. : *Cancer Research*, **12**: 77, 1952.
- 11) Boyland, E. and Green, B. : *Brit. J. Cancer*, **16** : 507, 1963.
- 12) Bruce, W. F. and Todd, F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **61** : 157, 1939.
- 13) Bruce, W. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, **63** : 304, 1941.
- 14) Büchner, F., Oehlert, W. and Cote, J. : *Beitr. Path. Anat.*, **125** : 280, 1961.
- 15) Büchner, F. : *Verh. Dtsch. Ges. Path.*, **45** : 370, 1961.
- 16) Bun-Hoi, N. P. : *Arzneimittelforsch.*, **11**: 813, 1961.
- 17) Burch, P. R. : *Nature*, **197** : 1145, 1963.
- 18) Busch, H. : *An Introduction to the Biochemistry of the Cancer Cell*, Academic Press, New York, 49, 1962.
- 19) Ceriotti, G. : *J. Biol. Chem.*, **198** : 297, 1952.
- 20) Cook, J. W., Hieger, I., Kennaway, F. L. and Mayneord, W. V. : *Proc. Roy. Soc.*, **129** : 439, 1940.
- 21) Craddock, C. G. : *Am. J. Med.*, **28**: 711, 1960.
- 22) Craddock, C. G. and Nakai, G. S. : *J. Clin. Invest.*, **41** : 360, 1962.
- 23) Culling, C. and Wassar, P. : *Arch. Path.*, **71** : 76, 1961.
- 24) diMayorca, G. H., Rosenkranz, H. S., Polli, E. E., Konngold, G. C. and Bendich, A. : *J. Nat. Cancer Inst.*, **24**: 1309, 1960.
- 25) Dische, Z. : *Microchemie*, **8** : 4, 1930.
- 26) Dische, Z. : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **55** : 217, 1944.
- 27) Dunning, W. F., Curtis, M. R. and Segaloff, A. : *Cancer Research*, **6** : 256, 1946.
- 28) Gavasto, F., Maraini, G. and Pileri A. : *Blood*, **16** : 1555, 1960.
- 29) Fieser, L. F. and Herzberg, E. B. : *J. Am. Chem. Soc.*, **59** : 1082, 1937.
- 30) Fieser, L. F. and Campbell, W. P. : *J. Am. Chem. Soc.*, **60** : 1142, 1938.
- 31) Fieser, L. F. and Hartwell, J. L. : *J. Am. Chem. Soc.*, **60** : 2555, 1938.
- 32) Fuson, N. and Josien, M. L. : *J. Am. Chem. Soc.*, **78** : 3049, 1956.
- 33) Heidelberger, C. : *A Ciba Found. Sym. on Carcinogenesis*, 179, 1959.
- 34) Heidelberger, C. : 東京医学会にて講演1964.
- 35) Hieger, I. : *Biochem. J.*, **24**: 505, 1930.
- 36) Hoffmann, T. A. and Ladik, J. : *Cancer Research*, **21**: 474, 1961.
- 37) 一色孝 : *電気化学*, **23** : 512, 1955.
- 38) Johnson, H. A. and Bond V. P. : *Cancer*, **14** : 639, 1962.
- 39) Jones, R. N. : *J. Am. Chem. Soc.*, **62** : 148, 1940.
- 40) Jones, R. N. : *Chem. Rev.*, **32** : 1, 1943.
- 41) 亀山忠典 : *日本臨床*, **21** : 2359, 1963.
- 42) Karremann, G. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **96** : 1029, 1962.
- 43) Kennaway, E. L. : *Biochem. J.*, **24** . 97, 1930.
- 44) Kiljunen, A. : *Acta Path. Mikrobiol. Scand.*, **34** : 112, 1956.
- 45) Lettré, H. : *Z. Physiol. Chem.*, **280**: 28, 1944.
- 46) Magee, P. N. and Farber, E. : *Biochem. J.*, **83** : 114, 1962.
- 47) Mason, R. : *Brit. J. Cancer*, **12** : 469, 1958.
- 48) McCoy, G. W. : *J. Med. Research*, **16** : 285, 1909.
- 49) Miller, E. C. and Miller, J. A. : *Adv. in Canc. Res.*, **1**: 339, 1953.
- 50) Miller, J. A. and Miller, E. C. : *Cancer Research*, **23** : 229, 1963.
- 51) Mirand, E. A. : *Exp. Med. Surg.*, **14** : 318, 1956.
- 52) Monad, J. and Jacob, F. : *Cold Spring Harbor Sym. on Quantitative Biology.*, **26**:

- 389, 1961.
- 53) Moodie, H. M. and Reid, C. : J. Chem. Phys., **22** : 252, 1954.
- 54) Moore, R. A. and Melchiona, R. H. : Am. J. Cancer, **30** : 731, 1937.
- 55) Morton, R. K. : Nature, **181** : 540, 1958.
- 56) 永田一郎・須藤弘毅 : 第16回日本産婦人科学会宿題報告要旨, 69, 1964.
- 57) 永田親義 : 蛋白質核酸酵素, **9** : 1067, 1964.
- 58) Orr, J. W. : Brit. Med. Bull., **14** : 99, 1958.
- 59) Pitot, H. C. and Heidelberger, C. : Cancer Research, **23** : 1694, 1963.
- 60) Pullman, A. : Compt. Rend., **139** : 1056, 1946.
- 61) Pullman, A. : Bull. Cancer, **33** : 120, 1946.
- 62) Pullman, A. and Pullman, B. : Rev. Sci., **84** : 145, 1946.
- 63) Pullman, A. : Ann. Chim., **2** : 5, 1947.
- 64) Pullman, B. and Pullman A. : Adv. in Canc. Res., **3** : 117, 1955.
- 65) Reagan, J. W., Wenz, W. B. and Machiao, N. : A. M. A. Arch. Path., **60** : 451, 1955.
- 66) Roberts, J. J. and Warwick, G. P. Nature, **197** : 87, 1963.
- 67) Robinson, R. : Brit. Med. J., **1** : 943, 1946.
- 68) 直良博人 : 科学, **34** : 209, 1964.
- 69) Savartholm, N. V. : Arkiv. Kemi. Mineral. Geol., **13** : 15, 1938.
- 70) Scarpelli, D. G. and von Haarn, E. : Am. J. Path., **33** : 1059, 1957.
- 71) Schabad, L. M. : Cancer Research, **5** : 405, 1945.
- 72) Stich, H. F. and Emson, H. E. : Nature, **184** : 290, 1959.
- 73) 高木康敬・穴井三昭 : 腫瘍生化学, 朝倉書店 156, 1964.
- 74) 高山昭三 : 実験治療, **383** : 63, 1964.
- 75) 滝一郎・飯島宏・那須健治 : 第12回日本癌学会 (東京) 1962.
- 76) 滝沢延次郎 : 第22回癌学会総会 (岡山) 1963.
- 77) 竹中生昌 : 泌尿紀要, **10** : 745, 1964.
- 78) Thiery, M. : Am. J. Obst. and Gynec., **15** : 1089, 1962.
- 79) Wieland, C. and Dane, E. : Z. Physiol. Chem., **219** : 240, 1933.

(1966年1月17日特別掲載受付)



写真 1

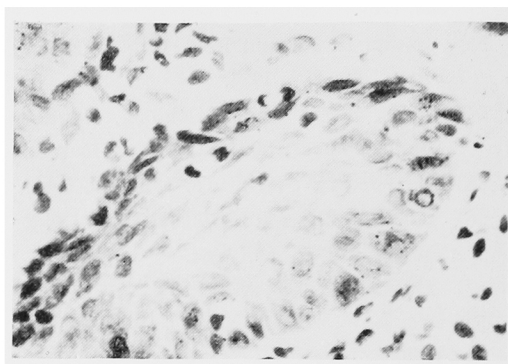


写真 5

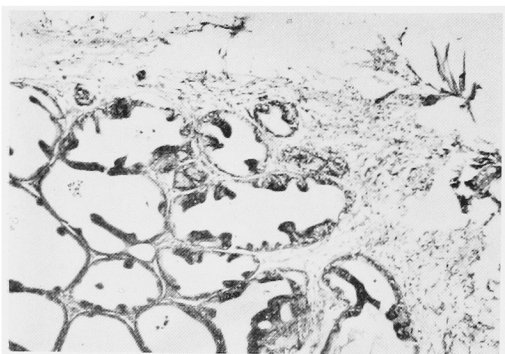


写真 2

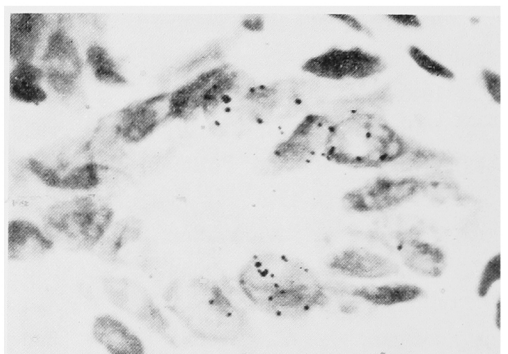


写真 6

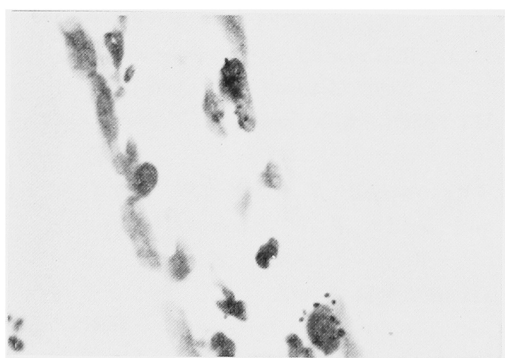


写真 3

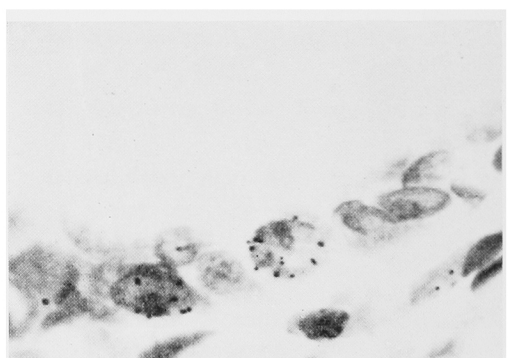


写真 7

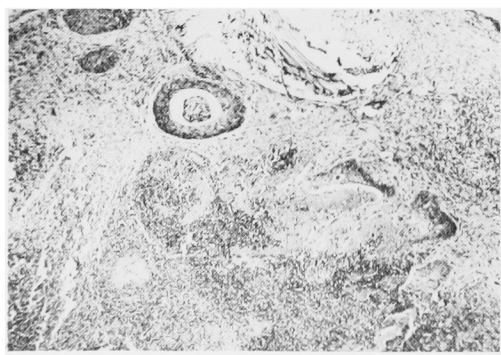


写真 4

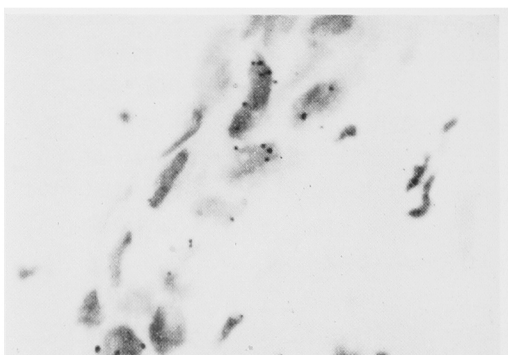
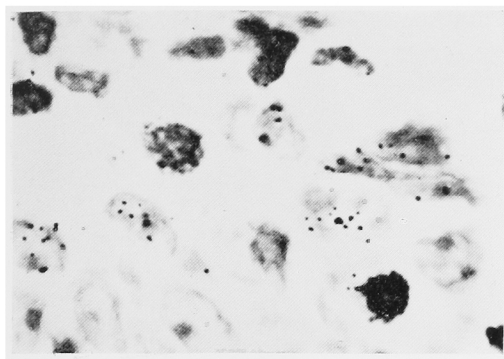
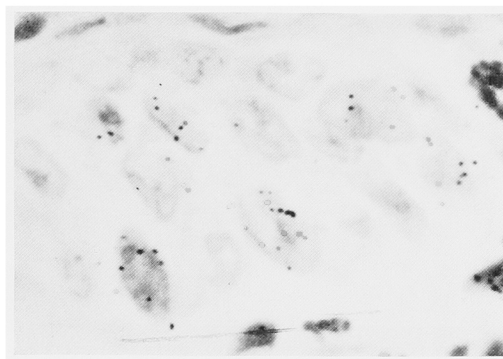


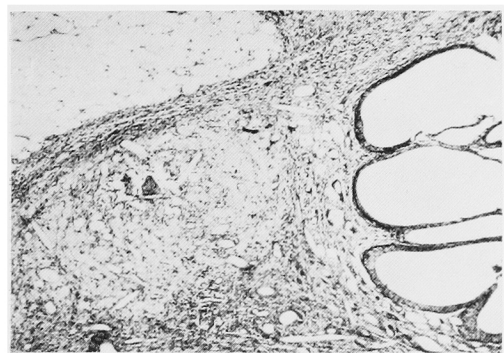
写真 8



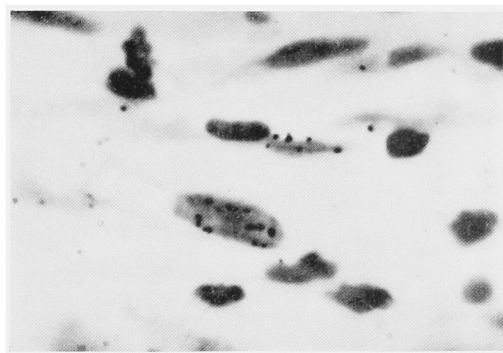
写 真 9



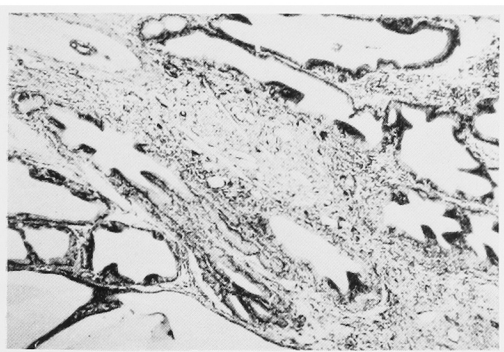
写 真 13



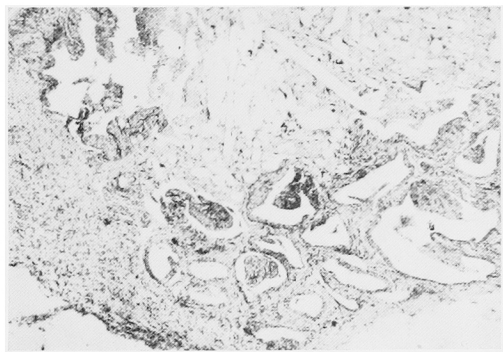
写 真 10



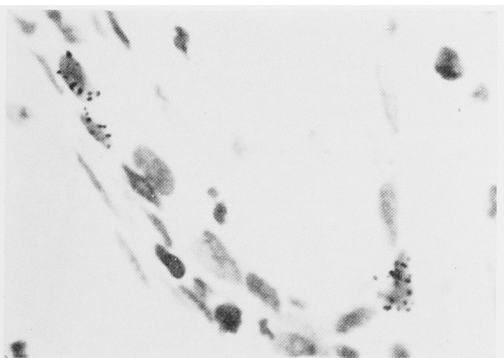
写 真 14



写 真 11



写 真 15



写 真 12



写 真 16

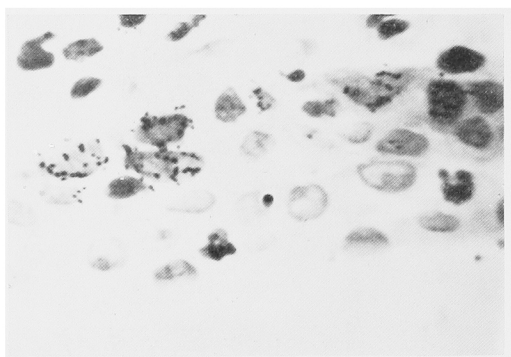


写真 17

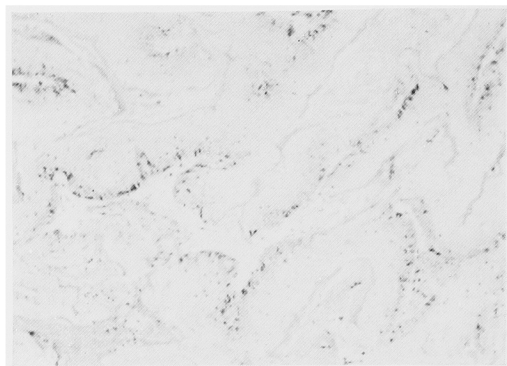


写真 21

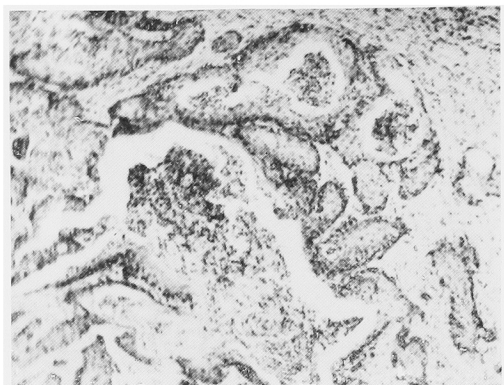


写真 18

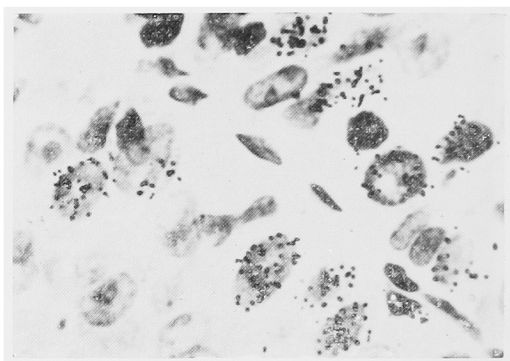


写真 22

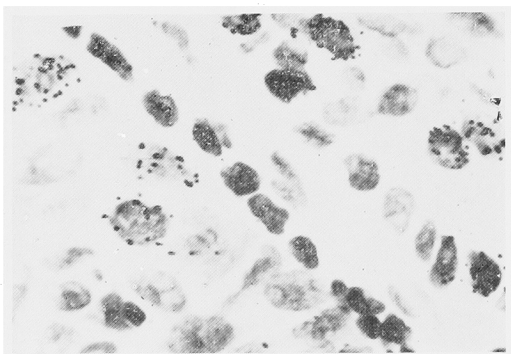


写真 19

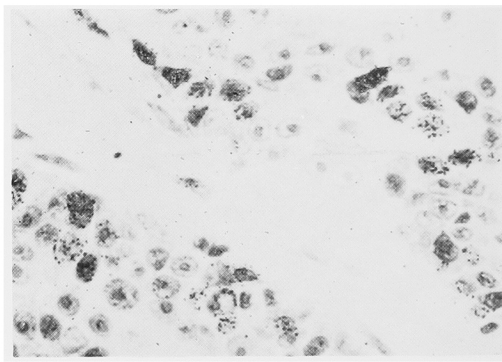


写真 23

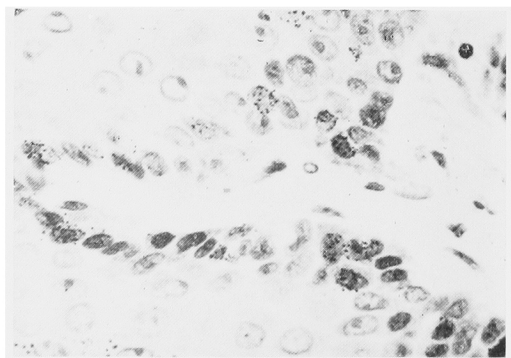


写真 20

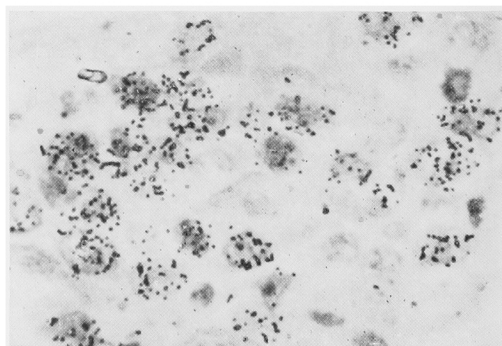


写真 24