N-nitrosomethylurea の動脈内投与による腫瘍発生実験

田代 英雄・松嶋 典彦・甲斐 貞子

The induction of tumors in the rat by an intraarterial injection of N-nitrosomethylurea

Hideo TASHIRO・Tsunehiko MATSUSHIMA・Sadako KAI

Abstract: Various neoplasms were reported to have occurred in many organs of experimental animals treated with N-nitrosomethylurea (NMU) administered in drinking water, by gastric intubation or injected intravenously or intraarterially. In the oral field, many investigators have reported that NMU induced odontogenic tumors or carcinomas of the oral cavity by such means. The authors tried to induce maxillofacial tumors in rats by injecting NMU intraarterially because this agent was known to have a topical carcinogenic activity and a considerably high incidence of tumor was found even with a single dose of NMU.

70 mg/kg of NMU as 2.5% physiological saline solution was singly injected into the left common carotid artery of 14 Sprague-Dawley rats (male 7, female 7) in the intraarterial injection (IA) group. While in the intravenous injection (IV) group, the same dose of NMU was injected into the left jugular vein of 8 rats (male 5, female 3).

After 8 months, an ameloblastic odontoma in the left mandible occurred in a female rat of IA group, while another one female rat in IA group developed a sarcoma in the left cheek about 9 months after treatment. Five female rats, 3 in IA group and 2 in IV group, developed mammary adenocarcinomas. Three male rats in IA group died in the early stage, however, the remaining male rats in both groups never showed any signs of neoplastic change.

These results mentioned above suggest the possibility that the administration of some carcinogenic agent by i.a. route may provide an experimental model intending to examine the tumorigenesis in various target organs, especially those located in the deep regions. However, a further study will be required in order to make this model more reliable.

Key words: nitrosomethylurea, intraarterial carcinogen, odontoma

緒 言

N-nitrosomethylurea (以下 NMU)は、強い発癌性を有することが知られており、実験的には飲料水への混入、チューブによる胃内投与、静脈内や門脈内投与、あるいは腹腔内投与により、マウス、ラットあるいはハムスターなどの種々の臓器に腫瘍を発生している。口腔領

域においても、NMU によって口腔粘膜癌や歯源性腫瘍が発生することが知られている¹⁻⁹⁾

NMU が局所発癌性を有すること、および上記の報告では1回の静脈内投与によっても、かなりの高頻度に腫瘍が発生していることから、著者らは実験動物の総頸動脈内に NMU を1回注入することによって、選択的に顎顔面領域に腫瘍を発生せしめることができるのではないかと考えて実験を行った。その結果1例ずつながら歯源性腫瘍と肉腫が注入動脈の流注領域に発生したので報告する。

実 験 方 法

実験動物として生後4、5週の Sprague-Dawley 系

九州大学歯学部第1口腔外科学教室
(主任：田代英雄教授)

First Department of Oral Surgery, Faculty of
Dentistry, Kyushu University (Chief: Prof. Hideo
Tashiro)

受付日：昭和58年9月1日

図 1 剥皮した状態における左下顎部の膨隆

図 3 腫瘍中心部 (H-E 染色, $\times 42$)

図 2 下顎骨側方 X 線像

図 4 腫瘍辺縁部 (H-E 染色, $\times 200$)

ラット22頭を使用し、動注群と静注群の2群に分け実験に供した。動注群は14頭(雄7, 雌7)からなり, Nembutal 腹腔内投与による全身麻酔下に頸部を切開し, 左側総頸動脈内に八光製30G翼付針を用いて, N-nitrosomethylurea (K & K Lab. Inc.) 7 mg/100 g 体重を2.5%生理的食塩水溶液として注入した。ただし, NMUは注入直前に常温生理的食塩水に溶解したが, 完全には溶解せず, 一部は沈査として残ったので, 実際の投与量は上記よりも少ない。静注群8頭(雄5, 雌3)では, ほぼ同様に頸部皮切を加え, 左側頸静脈に NMU を同量1回注入した。

実験動物は毎日観察し, 腫瘍の発生を認めた時点で屠殺し, 腫瘍形成の認められなかったものは実験開始12か月後にすべて屠殺した。屠殺した動物の全臓器は, 10%ホルマリン固定後, 肉眼的に腫瘍形成を認めた組織は必要であれば脱灰のうえ, パラフィンに包埋, 切片として, H-E 染色をほどこし検鏡した。

結 果

動注群の雄ラット3頭は早期に死亡し, 他の4頭も観察期間中には何らの腫瘍発生も認めなかった。動注群の雌ラット7頭中, 3頭は乳腺に, 1頭は頬部に, さらに1頭は下顎部に腫瘤を形成した。乳腺の腫瘍はいずれも腺癌であった。

頬部腫瘍は, NMU 動注後約9か月のラットの動注側すなわち左側の頬部に発生したものであって, 弾性硬の半球状膨隆として認められた。断面は灰白色で均質な充実性の腫瘍で, 組織学的には線維組織増生を伴う紡錘形細胞, 一部未分化な類円形細胞の増殖からなる肉腫であった。肉眼的, 組織学的に上顎骨と連続していたが, 発生源地は明らかにできなかった。

下顎部腫瘤形成例は, NMU 動注後約8か月のラットで, 動注側である左側の下顎骨体部の腫瘤として認められた。腫瘤は径10 mm, 高さ5 mm の半球状膨隆を示

し、骨様硬で、周囲との境界は比較的明瞭であった。X線写真では、左側下顎骨臼歯部の境界明瞭なX線不透過像としてみられた。X線不透過物は放射状の配列を示し、辺縁はX線透過帯により周囲健全組織とは明瞭に分画されていた。皮質骨は圧排されていたが、浸潤像、破壊像は認められなかった。肉眼的に腫瘍断面は灰白色、放射状のパターンを示し、一部には嚢胞様変化のみられる部分もあり、そのような部分の内腔は、血餅様物質で満たされていた。

組織学的には、病巣中心部は多数の小さな歯牙様構造物の集合塊で構成されていた。個々の歯牙様構造物は、エナメル質、象牙質、象牙質、歯髓組織からなり、これらの組織は比較的規則正しく配列していた。病巣辺縁部には石灰化物が全く認められず、この部分は石灰化前のエナメル器に酷似していた。このようにこの腫瘍は歯原性上皮組織と歯髓、象牙質、エナメル質類似の成分からなり、従来エナメル上皮歯牙腫として報告されているものに一致する。

静注群においては、雌2頭に乳腺の腺癌の発生をみたのみであった。

考 察

NMU 投与による顎口腔領域の実験的腫瘍発生について、はじめて詳しく報告したのは Herrold¹⁾ で、ハムスターを用い、NMU を3, 4か月間毎月1回静脈内に投与した群、週2回チューブにより胃内投与した群いずれにおいても、きわめて高率に歯原性腫瘍や口腔類表皮癌が発生したことを報告している。NMU の1回投与によるものでは、この報告よりも少し前に Druckrey ら²⁾ が NMU を1回静脈内に投与した16頭のラットの種々の器官に腫瘍が発生したことを報告したなかで頭頸部領域では、脳の肉腫、舌の腺癌、下顎と上顎の扁平上皮癌がそれぞれ1例ずつ発生したと述べている。後に Leaver ら³⁾ は、NMU の経口1回投与により、40頭のラットのうち2頭に下顎の腫瘍を生じ、それらは歯牙腫であったとしている。NMU をはじめ、N-ニトロソ化合物による歯原性腫瘍や口腔癌の誘発については、その後も多くの研究者によって報告されている⁴⁻¹¹⁾。

Herrold¹⁾ が述べているように NMU には直接的な発癌作用も期待されるので、著者らは本剤を動脈内に注入することによって、選択的にその流注領域の臓器に腫瘍を発生せしめることができるのではないかと考えて、本実験を行った。その結果は、注入した総頸動脈の流注領域に歯原性腫瘍と肉腫がそれぞれ1例ずつ発生した。しかしながら、より発生頻度が高かったのは乳腺の腺癌であって、静脈内に投与した場合と同様の全身的な効果の方がむしろ著明であった。発生した1例の歯原性腫瘍は従来 NMU の静脈内投与などにより発生しているエ

ナメル上皮歯牙腫の組織所見と一致するものであったが、近年の WHO の分類ではエナメル上皮歯牙腫の名称はなく、複雑性歯牙腫とみなすべきものであるかもしれない。このような歯原性腫瘍の発生は、静脈内投与によっても同じ位の頻度でみられるので、動脈内投与の意義はないようにも思われるが、乳腺腫瘍以外の2つの腫瘍がいずれも投与動脈の流注領域に発生したことは、注目すべきことであると思われる。

もし発癌剤の動脈内投与によって、目標とする臓器に腫瘍を高率に発生せしめることができれば、発癌剤の適用が容易でない深部臓器においては、従来行われてきた薬剤の直接注入やペレットの留置のような方法よりも、より正常に近い状態で目的を達することができて、新しい手法になりうるのではないかと期待される。しかし、それにはなお発癌剤の種類、投与方法、あるいは協力的発癌作用を示す薬剤の併用など、より確実に腫瘍を発生させるための検討が必要である。

結 語

ラット14頭の総頸動脈内に N-nitrosomethylurea を1回注入したところ、その流注領域では1頭の下顎骨にエナメル上皮歯牙腫が、1頭の頬部に肉腫が発生した。3頭では流注領域外である乳腺に腺癌が発生した。発癌剤の動脈内投与は、発癌の1つの手段となるかもしれないが、高率に腫瘍を発生させるには、さらに検討が必要である。

本論文の要旨は1979年第24回日本口腔外科学会総会(名古屋)において報告した。

引 用 文 献

- 1) Herrold, K. McD.: Odontogenic tumors and epidermoid carcinomas of the oral cavity. An experimental study in Syrian hamsters. Oral Surg 25: 262-272 1968.
- 2) Druckrey, H., Steinhoff, D., et al.: Erzeugung von Krebs durch ein einmalige Dosis von Methylnitroso-Harnstoff und verschiedenen Dialkylnitrosoaminen an Ratten. Z Krebsforsch 66: 1-10 1964.
- 3) Leaver, D.D., Swann, P.F., et al.: The induction of tumors in the rat by a single oral dose of N-nitrosomethylurea. Br J Cancer 23: 177-187 1969.
- 4) 向後隆男: N-nitrosomethylurea による歯原性腫瘍の実験的研究. 口病誌 39: 191-212 1972.
- 5) Ebling, H., Barbachan, J.J.D., et al.: N-methyl-N-nitrosourea-induced odontogenic neoplasms in rats. J Dent Res 52: 177 1973.

- 6) Edwards, M.B.: Some effects of N-methylnitrosourea on the oral and odontogenic tissues of the Syrian golden hamster. Arch Oral Biol 23: 515-524 1978.
- 7) Edwards, M.B.: Effects of N-methylnitrosourea on oral and dental tissues in the inbred Lewis rat. Arch Oral Biol 25: 59-65 1980.
- 8) Berman, J.J. and Rice, J.M.: Odontogenic tumors produced in Fischer rats by a single intraportal injection of methylnitrosourea. Arch Oral Biol 25: 213-220 1980.
- 9) Eisenberg, E., Murthy, A.S. K., et al.: Odontogenic neoplasms in Wistar rats treated with N-methylnitrosourea. Oral Surg 55: 481-486 1983.
- 10) Wang, H., Terashi, S., et al.: Ameloblastic odontoma in rats induced by N-butyl nitrosourea. Gann 66: 319-321 1975.
- 11) Pearl, G.S. and Takei, Y.: Transplacental induction of ameloblastoma in rat using ethylnitrosourea (ENU). J Oral Pathol 10: 60-62 1981.
- 12) Pindborg, J.J., Kramer, I.R.H., et al.: Histological Typing of Odontogenic Tumours, Jaw Cysts, and Allied Lesion. WHO, Geneva, 1971, p 29.