— 原 著 —

N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG) によるイヌ胃癌および食道癌の誘発

長谷川 博一

日本医科大学第1外科学教室 (主任: 恩田昌彦教授)

Induction of canine gastric and esophageal cancers by N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG)

Hirokazu Hasegawa

The First Department of Surgery (Director: Prof. Masahiko Onda),

Nippon Medical School

ENNG was administered to 19 6-month-old male beagle dogs at a concentration of 50, 100, 150 or 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in drinking water for 3 to 9 months. Total doses of ENNG given were 3.0 to less than 30.0g per dog. In 17 out of the 19 dogs, gastric and/or esophageal cancers were induced and their properties were examined. The gross appearance, location, histological type and metastasis of gastric carcinomas and the incidence of esophageal carcinomas depended on the total dose of ENNG administration.

1) In 6 dogs given totalling 3.0 to 9.9g ENNG, solitary advanced gastric carcinomas of a depressed type were induced mainly in angulus ventriculi, most of which were poorly differentiated adenocarcinomas and partially composed of signet-ring cell carcinomas. All of these dogs showed lymph nodes metastasis. No esophageal cancers developed in any of these dogs.

2) In 7 dogs given 10.0 to 14.9g ENNG, protruded type carcinomas were frequently observed in the antrum. In nearly all these tumors well differentiated adenocarcinomas were observed, in addition to poorly differentiated and signet-ring cell carcinomas. Lymph nodes metastasis was found in one third of these dogs. Esophageal squamous cell carcinomas also developed in one third of these dogs.

3) In 4 dogs given 15.0 to 30.0g ENNG, depressed type carcinomas were often found in the pyloric gland region. In many of these tumors well differentiated adenocarcinoma was also partially observed along with poorly differentiated and signetring cell carcinomas. Lymph nodes metastasis was observed in 2 out of 4 dogs. Esophageal carcinomas were also induced in three fourths of the dogs under this condition.

4) Fifteen gastric polyps developed in 7 dogs associated with gastric carcinomas. The number of polyps tended to increase, with the increase of the total dose of ENNG. Poorly differentiated adenocarcinoma was partially observed in 7 of the 15 polyps.

The above results indicate that by setting up the total dose of ENNG in drinking water, experimental canine gastric and esophageal carcinomas, with the morphological features which satisfy experimental purposes, could be induced.

Key words: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG), stomach, esophagus, cancer, beagle

結 言

N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG) をラットに経口投与することにより実験胃癌を高率に誘発することに成功¹⁾して以来、ハムスター²⁾、イヌ³⁾、サル⁴⁾についても、MNNG を用いて実験胃癌を作製することができるようになった。その中でもイヌは、ラットやハムスターと異なり前胃を持たず、さらには、発癌剤投与後 X 線検査や内視鏡検査により胃癌発生を経時的に観察したり⁵⁾、選択的迷走神経切断術を施行し胃癌発生の修飾因子を探る⁶⁾のに十分な大きさの胃を持つ実験動物として有用であった。しかし、MNNG では胃癌とともに小腸肉腫が併発し、胃癌が十分に発育する前にこの肉腫が腸管狭窄または肝転移を起こし、イヌが死亡することが多かった⁷⁾。MNNG 誘導体である N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (ENNG) を用いると、小腸肉腫を併発することなく進行した胃癌が誘発され、さらに食道癌も発生することが知られた⁸⁻¹⁰⁾。この後イヌ誘発癌は優れた実験モデルとして、癌の初期の変化¹¹⁾や発達の過程¹²⁾、細胞異型度による DNA 量の違い¹³⁾などの基礎的研究から癌化学療法の効果判定¹⁴⁾といった臨床的研究にまで用いることができるようになった。

イヌへの ENNG 経口投与方法は主に三つの方法がある。一つは、ENNG 水溶液を飲料水として投与する方法¹⁰⁾で、種々の組織型を示す胃癌が主に幽門腺領域に発生する傾向がある。さらに ENNG 水溶液を固形飼料⁸⁾あるいはミルク¹⁵⁾と混ぜて与える方法があり、幽門腺領域に加え、胃底腺領域にも胃癌が発生する。さらにこれらの投与方法にて食道癌も誘発される^{9,10,16)}。ENNG 投与量および投与期間とイヌに誘発された腫瘍の形態学的関係を調べるために、われわれは 50~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の ENNG 水溶液を飲料水として 3~9 カ月間投与し、胃癌または食道癌が発生した 17 頭について主に病理学的に検索した。

研究材料および方法

(1) 実験動物および ENNG 投与

6 カ月齢、体重約 10 kg の雄ビーグル犬 19 頭を使用した。ENNG (Aldrich Chemical Co. Milwaukee, Wis.) を脱イオン水で 1 mg/ml の濃度に溶解し、遮光瓶に保存し 1 週間以内に使用した。使用直前に水道水で 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度に希釈し、飲料水として 3~9 カ月間自由飲水させた。ENNG 投与終了

後は水道水にて飼育した。各々のイヌの ENNG 投与濃度および投与期間は Table 1 に示した。

(2) 病理組織学的検索

著明な体重減少または衰弱を示したイヌは適時屠殺し剖検を行った。各臓器は 15% 中性ホルマリンで固定した。胃は大弯に沿って開き、5 mm 幅で全割した。食道も同様に全割し、これらを組織学的に検索した。

(3) 腫瘍の肉眼分類および組織分類

イヌ実験胃癌および食道癌の肉眼型と組織型分類は、胃癌取扱い規約¹⁷⁾および食道癌取扱い規約¹⁸⁾に従った。さらに、胃癌は肉眼的に、隆起型 (ボルマン 1, 2 型, I, IIa 型) および陥凹型 (ボルマン 3, 4, 5 型, IIc 型) に大別し、組織学的に高分化型腺癌 (乳頭腺癌または管状腺癌)、低分化型腺癌、印環細胞癌、肉腫の 4 型に分類した。

結 果

1. 胃腫瘍肉眼像

ENNG を投与されたビーグル犬 19 頭中 17 頭に胃腫瘍が誘発された。Table 1 に示すごとく腫瘍のほとんどが幽門腺領域に発生し、特に小弯側に好発した。50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG を 6~9 カ月間投与された 4 頭のイヌ (Dog Nos. 1~4) 各々に 3.5×4.5~4.0×6.5 cm 大のボルマン 3 型進行胃癌が誘発された (Photo 1)。これらは全周性に幽門腺部胃壁の著明な肥厚を伴い、幽門狭窄の像を呈した。

100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG を 3 カ月間投与されたイヌ 3 頭中 2 頭 (Dog Nos. 5, 6) にも 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG 投与群でみられたのと同様の肉眼像を示す胃癌が誘発された。

100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG を 6~9 カ月間投与されたイヌには、陥凹型や隆起型を示す胃癌が多発性または単発性に幽門部や胃角部に誘発された。Dog Nos. 8, 11, 12 では早期胃癌が、Dog Nos. 9, 12, 13 では進行胃癌がみられた。

150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG を 5~6 カ月間投与された 4 頭のうち Dog No. 14 は胃角部にボルマン 2 型進行胃癌が発生し、Dog No. 15 では幽門部に浅い潰瘍を伴うポリポイド癌がみられた。Dog No. 16 では、IIa 型早期胃癌が 3 ヶ誘発された。150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG に Tween 60 を混ぜた水溶液を与えられた Dog No. 17 は、幽門部にボルマン 1 型進行胃癌が、胃体部にはボルマン 1 型様の腫瘍がみられた。

200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG を 3 カ月間投与されたイヌ 2 頭に胃癌が発生し、Dog No. 18 には幽門部前壁大弯側

Table 1 Canine gastric and esophageal cancers induced by ENNG

Dog No.	Concentration of ENNG ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Period of administration (months)	Experimental period (months)	Gross feature of gastric cancerous lesion			Gross feature of esophageal cancer
				Corpus	Angulus	Antrum	
1	50	6	37	—	Borrmann 3	—	—
2	50	6	45	—	Borrmann 3	—	—
3	50	9	28	—	Borrmann 3	—	—
4	50	9	37	—	Borrmann 3	—	—
5	100	3	46	—	—	Borrmann 3	—
6	100	3	50	—	Borrmann 3	—	—
7	100	3	18	—	—	—	—
8	100	6	40	—	Ila, Ilc	I	—
9	100	6	32	—	—	Borrmann 2	—
10	100	8	48	—	—	—	—
11	100	9	21	—	Ilc	Ilc	Ulcerative
12	100	9	17	—	Ilc	Borrmann 3	Superficial
13	100	9	39	—	Borrmann 2	—	Superficial
14	150	5	34	—	Borrmann 2	—	—
15	150	5	37	—	—	Borrmann 5	—
16	150	6	20	—	—	Ila	Ulcerative
17	150 ^{a)}	6	92	Borrmann 1 like	—	Borrmann 1	—
18	200	6	27	—	—	Borrmann 3	—
19	200	6	35	—	—	Borrmann 1	Stenotic

^{a)}Tween 60 was added at a concentration of 0.4% to the ENNG solution.

にボルマン 3 型進行胃癌が発生し、Dog No. 19 では幽門部小弯側にボルマン 1 型進行胃癌(Photo 4)が誘発された。

2. 胃腫瘍光顕像

胃癌組織型および深達度を Table 2 に示す。腫瘍性病変の多くは、2 種または 3 種の組織型より成っていた。各々の病変にて低分化型腺癌が共通してみられ、著明なコラーゲン繊維の増生を伴うスキルス様浸潤を示すもの(Photo 2)もあった。印環細胞癌(Photo 3)は粘膜内にしばしば多発した。高分化型腺癌(Photo 5)は 100 または 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG を投与されたイヌの胃病変の中に多くみられ、ボルマン 1 型進行胃癌(Dog Nos. 17, 19)および I および IIa 早期胃癌(Dog Nos. 8, 16)では優位な組織型であった。Dog No. 19 では腺癌とともに、胃体部に肉腫もみられた。腸上皮化性は、正常胃粘膜および異型胃粘膜中にもほとんどみられなかった。

胃癌の所属リンパ節への転移は、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG 投与犬では 4 頭すべてに、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG 投与犬では 7 頭中 5 頭に、150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG 投与犬 4 頭中

1 頭に、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNG 投与犬 2 頭中 1 頭にみられた。転移したものはすべて低分化型腺癌であった。幽門部または胃角部に誘発されたボルマン 3 型胃癌では、十二指腸への癌の浸潤が観察され、幽門輪から 2~3 cm 以内のものが多かった。特に Dog No. 1 では、白色を呈するポリポイド様変化が、幽門輪直下から上部回腸に至るまで約 60 cm にわたり全周性に連続していた。胃壁内小リンパ管にみられたものと同じ様相を呈する低分化型腺癌が、小腸内リンパ管にび慢性にみられた。さらにこのイヌでは、肝、膵、脾、腎、肺および腹腔内リンパ節への広範な転移を認めた。

3. 胃ポリープ

胃癌が誘発された 17 頭中 7 頭のイヌに、胃ポリープも誘発された。Table 3 に示すごとく、主に幽門腺部に無茎状を呈するポリープが好発し、これらは過形成ポリープまたは腺腫様ポリープ(Photo 8)であった。大きさは 0.3×0.4×0.3~1.5×1.0×1.0 cm のものであった。3 頭では単発性に 4 頭では多発してみられ、多くが癌病変の近傍にみられた。ポリープ周囲の粘膜は、正常腺管構造が失われ上皮の過形性が主にみられ

Table 2 Microscopic features of canine gastric cancers

Dog No.	Concentration of ENNG ($\mu\text{g/ml}$)	Histologic type and depth of invasion of gastric cancer			Metastasis of gastric cancer
		Corpus	Angulus	Antrum	
1	50	—	sig ^{a)} (m), por ^{b)} (s)	—	Lymph nodes and other organs ^{c)}
2	50	—	por(s)	—	Lymph nodes
3	50	—	sig(m), por(pm)	—	Lymph nodes
4	50	—	sig(m), por(s)	—	Lymph nodes
5	100	—	—	sig(m), por(sm)	Lymph nodes
6	100	—	sig(m), por(pm)	—	Lymph nodes
7	100	—	—	—	—
8	100	—	sig(m), por(sm), well(sm)	well(m)	—
9	100	—	—	sig(pm), por(sm), well(pm)	Lymph nodes
10	100	—	—	—	—
11	100	—	sig(m), por(sm), well(m)	sig(m), por(m), well(m)	—
12	100	—	sig(pm), por(s), well(sm)	por(pm), well(sm)	Lymph nodes
13	100	—	sig(pm), por(s), well(sm)	—	Lymph nodes
14	150	—	sig(s), por(s), well(sm)	—	Lymph nodes
15	150	—	—	sig(sm), por(sm), well(m)	—
16	150	—	—	sig(sm), por(m), well(m)	—
17	150	sarcoma	—	well(pm)	—
18	200	—	—	por(s)	Lymph nodes
19	200	—	—	well(pm)	—

^{a)}The abbreviations used are : sig ; signet-ring cell carcinoma, por ; poorly differentiated adenocarcinoma, well ; well differentiated adenocarcinoma.

^{b)}The abbreviations used in parentheses are : m ; mucosa, sm ; submucosa, pm ; muscularis propria, s ; serosa.

^{c)}Metastases to the liver, pancreas, spleen, renal pervers, lung, duodenum and jejunum were also observed.

Table 3 Morophological features of canine gastric polyps

Dog No.	Concentration of ENNG ($\mu\text{g/ml}$)	Gross feature			Cancer in polyps		
		Corpus	Angulus	Antrum	Corpus	Angulus	Antrum
2	50	—	sessile(1) ^{a)}	—	—	por ^{b)} (m) ^{c)}	—
6	100	—	sessile(1)	—	—	—	—
9	100	—	—	sessile(2) pedunculated(1)	—	—	por(m) por(sm)
11	100	—	—	sessile(1)	—	—	por(m)
12	100	sessile(1)	—	sessile(2)	—	—	por(m)
16	150	—	—	sessile(3)	—	—	—
19	200	—	—	sessile(3)	—	—	—

^{a)}Number of polyps observed in each dogs. ^{b,c)}The abbreviations used are the same in the Table 2.

た。無茎性ポリープでは低分化腺癌が粘膜内に局限してみられ、有茎性ポリープ内にみられた低分化腺癌は粘膜下層まで浸潤していた。Dog No. 19のポリープ内には、異形腺管巢が上皮上部に多発していた(**Photo 9**)。

4. 食道癌

食道癌は、胃癌が誘発された17頭中5頭に併発した

(**Table 1**)。組織型はいずれも扁平上皮癌であった。

100 $\mu\text{g/ml}$ ENNG を9カ月間投与された3頭のイヌに食道癌が発生した。Dog No. 11は潰瘍型を呈し、扁平上皮癌は外膜まで浸潤していた。他の2頭(Dog Nos. 12, 13)では、癌が粘膜内または粘膜下層に局限するポリープ様腫瘍が多発した。この2頭には転移はみられなかった。

Table 4 Relation between canine gastric and esophageal carcinomas and total dose of ENNG

Group No.	1	2	3
Total dose of ENNG (g)	3.0~9.9	10.0~14.9	15.0~30.0
No. of dogs	6	7	4
Gastric carcinoma			
No. of total cancerous lesion	6	12	7
Location			
Angulus	5 ^{a)} (83) ^{b)}	3(25)	4(57)
Antrum	1 (17)	9(75)	3(43)
Gross finding			
Depressed type	6 (100)	1(8)	6(76)
Protruded type	0 (0)	11(92)	1(14)
Histological type			
Por/sig	6 (100)	2(17)	1(14)
Well/por	0 (0)	10(83)	6(76)
No. of dogs with metastasis	6 (100) ^{c)}	2(29)	3(75)
No. of dogs with esophageal carcinoma	0 (0) ^{c)}	2(29)	3(75)
Experimental period (month)	45.5±8.2 ^{d)}	33.0± 6.9	26.0± 9.6

^{a)}No. of cancerous lesions. ^{b)}No. in parentheses is percentage of total cancerous lesions in each group. ^{c)}No. in parentheses is percentage of total dogs in each group. ^{d)}Values are mean±SD.

150 $\mu\text{g/ml}$ ENNG を 6 カ月間投与された Dog No. 16 には食道下部に潰瘍を伴う進行癌が誘発され、扁平上皮癌は気管支まで浸潤し、所属リンパ節および肺への転移を示した。

200 $\mu\text{g/ml}$ ENNG を投与された Dog No. 19 には全周性に多発したポリポイド様病変を示す進行癌 (Photo 6) が食道下部に発生した。癌真珠を伴う分化型扁平上皮癌 (Photo 7) が外膜まで浸潤し所属リンパ節への転移を示した。

5. ENNG 総投与量と誘発癌の形態との関係

以上の結果より、ENNG 投与濃度および投与期間に基づいた総投与量が、この発癌剤投与条件下では、イヌ誘発癌の形態学的特徴を決定しているようにみえた。そこで、Table 1, 2 より 17 頭のイヌを ENNG 総投与量により以下の 3 群に分けた。Group 1: ENNG 総投与量 3.0~9.9 g の群 (Dog Nos. 1~6), Group 2: ENNG 総投与量 10.0~14.9 g の群 (Dog Nos. 8, 9, 14~17, 19), Group 3: ENNG 総投与量 15.0~30.0 g の群 (Dog Nos. 11~13, 18) である。胃癌肉眼像は、隆起型および陥凹型の 2 群に分類した。組織学的に胃癌は二つに分け、一つは低分化型腺癌または印環細胞癌より成るもの (por/sig), もう一つは同一腫瘍病変内に高分化型腺癌のみが、または高分化型腺癌に加え低分化型腺癌が併発したもの (well/por) とした。

3 グループ各々における胃癌の発生部位、肉眼像、

組織像、転移の頻度および食道癌発生頻度を Table 4 に示す。胃癌はすべて幽門部に誘発されたが、Group 1 では胃角部に Group 2 では幽門部に好発 ($p<0.05$) し、Group 3 では胃角部および幽門部に同頻度であった。Group 1 および 3 ではほとんどが陥凹型の像を示し、Group 2 では Group 1 または 3 に比較し凸型胃癌発生頻度が高かった ($p<0.01$)。組織学的に、Group 1 の胃癌はすべて低分化型腺癌または印環細胞癌よりなり、Group 2 および 3 では Group 1 に比し分化型腺癌の発生頻度が高かった ($p<0.01$)。リンパ節への転移は Group 1 ではすべてのイヌに、Group 2 では約 1/3 のイヌに、Group 3 では 3/4 のイヌに認めた。食道癌は Group 1 ではみられなかったが、Group 2 では 6 頭中 2 頭に、Group 3 では 4 頭中 3 頭と Group 1 に比し高率に ($p<0.05$) 誘発された。これら各 3 グループの平均実験期間は、Table 4 に示すごとく総投与量が増すに従って短くなった。

考 察

ENNG 投与量および投与期間と誘発腫瘍の関係を調べるために、19 頭のイヌに 50~200 $\mu\text{g/ml}$ ENNG を 3~9 カ月間飲料水として投与し、そのうち 17 頭に発生した胃癌および食道癌の形態像について検索を行った。

胃腺癌はすべて幽門腺領域である胃角部または幽門部に誘発された。これらの部位はヒト胃癌の好発部位

でもある¹⁹⁾。

イヌの胃癌病変の多くは、2種または3種の分化度の異なる組織型を示す癌により構成されていた。低分化型腺癌が優位な組織型である病変は、共通して陥凹型の像(ボルマン3型, IIc)を示し、高分化型腺癌が優位な組織型である病変は、隆起型の像(ボルマン1, 2型, IIa)を呈した。ENNGによりイヌに誘発された胃癌の組織型と肉眼像との関係は、ヒト胃癌における関係¹⁹⁾と相似していた。

腸上皮化生および萎縮性胃炎と胃癌との関係については、数多くの研究がなされているがその証拠はいまだ明白ではない。実験的には発癌剤の総投与量および発癌性の程度が、ラット腺胃における腸上皮化生の頻度と相関することが報告されている^{20,21)}。ところがENNGを投与されたイヌの胃では、癌周囲の局所にわずかに腸上皮化生がみられるだけであった。しかし、胃粘膜の萎縮性変化はENNGを投与されたどのイヌにも共通してみられ、発癌との関係が強く示唆された。

胃癌の転移は約70%のイヌに観察され、このうちでは胃所属リンパ節への転移が最も多かった。胃癌腫症を示すイヌもみられた。組織学的には、転移部はすべて低分化型腺癌であった。胃の高分化型腺癌が肝へ転移した例も以前に報告されている¹⁰⁾。このようにしばしば転移を示す実験イヌ胃癌は、1%以下にしか転移を示さないラット実験胃癌²²⁾と相違する点の一つである。さらに胃癌の十二指腸への直接浸潤も17頭中5頭(約30%)のイヌにみられこのような浸潤性の強い低分化型腺癌はラット²²⁾ではほとんどみられない。さらにイヌ実験食道癌もまた外膜を越えて浸潤し、リンパ節への転移を示す。このような高頻度に転移を示し、かつ浸潤性の強い胃癌および食道癌は、癌細胞の悪性な動態を研究するのに有用であると考えられる。

過形成性および腺腫性ポリープも胃癌と関連して誘発された。7頭のイヌに萎縮性胃粘膜のなかに単発または多発してみられた。低分化腺癌が6コの過形成性ポリープ中に局在し、そのうち無茎性を示す5コのポリープでは癌は粘膜内に局限し、有茎状を示す1コでは粘膜下層まで浸潤していた。イヌに発生した胃ポリープ内に癌が発生する頻度は、ヒトの胃ポリープ^{23,24)}に比し高かった。

さらにイヌに誘発された胃癌および食道癌をENNG総投与量との関連から分析した。総投与量は、投与期間、投与濃度およびイヌの発癌剤摂取量の3因子を含む。そこで総投与量に従って、17頭のイヌを3

群に分けた。Group 1 (ENNG総投与量3.0~9.9g)では、ボルマン3型進行胃癌が胃角部に好発し、組織型は一部粘膜内に印環細胞癌を伴う低分化型腺癌が主であり、幽門腺部胃壁全周性にスキルス様浸潤を示すものがほとんどであった。リンパ節転移がこの群では全例に認められた。これらの腫瘍の組織像は、ENNGとgastrinを混ぜて投与されたイヌに発生したスキルス様胃癌²⁵⁾と類似していた。また、イヌ自然発生胃癌の多くが低分化型腺癌であることが知られているが、その発生頻度は実験胃癌に比しはるかに低い²⁶⁾。Group 2 (ENNG総投与量10.0~14.9g)では、隆起型を呈する胃癌が幽門部に好発し、各病変内には低分化型腺癌および印環細胞癌に加え、高分化型腺癌が誘発された。Group 3 (ENNG総投与量15.0~30.0g)では、陥凹型を示す胃癌が胃角部および幽門部に発生し、これらの組織像はGroup 2と同様であった。食道癌は、Group 1にはみられなかったが、Group 2の1/3のイヌに、Group 3の3/4のイヌに胃癌と併発してみられた。このことは、ENNG総投与量が多くなると食道癌発生率も高くなることを示す。食道癌はすべて扁平上皮癌であったが、各群の中で腫瘍発生部位および肉眼像に共通性はみられなかった。また、胃癌または食道癌が、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNGを9ヵ月または150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ENNGを5~9ヵ月投与された計7頭のビーグル犬に発生したという報告がある^{10,12)}。これらの誘発胃癌腫瘍の形態像および食道癌発生の頻度は、今回の実験におけるGroup 3に相当していた。ニトロソ化合物の一つであるENNGにより誘発された胃癌の形態像および食道癌の発生する頻度は、その総投与量に従って変化することが示された。

今回の実験的研究成績よりENNG経口投与によりイヌ胃癌および食道癌を、高率に誘発することができ、さらにENNG総投与量を規定することにより実験目的にかなった形態像を呈する胃癌を作製することができることが示された。さらに、これらの腫瘍を癌の基礎研究や臨床研究に広く応用することが可能となった。

結 論

ヒト上部消化器癌の実験モデルとして有用なイヌ実験胃癌および食道癌の形態像と発癌剤投与条件の関係を調べる目的で、ENNGを50~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で3~9ヵ月間飲料水としてビーグル犬に投与し、次の結果を得た。

1) ENNG総計3.0~30.0g投与されたイヌ19頭

中 17 頭に胃癌が, 5 頭に食道癌が発生した。胃癌に随伴して 7 頭のイヌに計 15 コの胃ポリープが発生した。ENNG 総投与量が多いほど多発する傾向にあった。そのうち 7 コのポリープ内に低分化型腺癌が局在してみられた。

2) ENNG 総投与量 3.0~9.9 g のイヌ 6 頭には, 陥凹型を呈する単発性の進行胃癌が主に胃角部に誘発され, これらの多くは一部に印環細胞癌を伴う低分化型腺癌であった。すべての胃癌はリンパ節転移を示した。この群では, 食道癌は発生しなかった。

3) ENNG 総投与量 10.0~14.9 g のイヌ 7 頭では, 隆起型を示す胃癌が幽門部に好発し, 低分化型腺癌および印環細胞癌に加え, 高分化型腺癌が高頻度に誘発された。リンパ節転移は約 30% のイヌにみられた。食道扁平上皮癌が 2 頭に併発した。

4) ENNG 総投与量 15.0~30.0 g のイヌ 4 頭では, 陥凹型を呈する胃癌が幽門腺領域に好発し, 各病変には印環細胞癌とともに分化型腺癌も発生した。半数のイヌにリンパ節転移を認め, 3 頭に食道扁平上皮癌が併発した。

以上より, 胃癌の肉眼像, 発生部位, 組織像および転移の頻度, 食道癌の発生頻度は ENNG 総投与量により変化することが示された。したがって, 飲料水として経口投与する ENNG の総投与量を規定することにより, 実験目的にかなった形態像を呈するイヌ実験腫瘍を高率に誘発することが可能となった。

稿を終えるに際し, 本研究に御助言御校閲を賜った国立がんセンター研究所佐藤茂秋部長に深く感謝いたします。

なお, 本論文の一部は第 43 回日本癌学会総会(1984 年 10 月)で報告した。

文 献

- 1) Sugimura, T. and Fujimura, S.: Tumor production in glandular stomach of rat by MNNG. *Nature*, 216, 943, 1967.
- 2) Fujimura, S., Kogure, K., Oboshi, S. and Sugimura, T.: Production of tumors in glandular stomach of hamsters by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res.*, 30, 1444~1448, 1970.
- 3) Sugimura, T., Tanaka, N., Kawachi, T., Kogure, K. and Fujimura, S.: Production of stomach cancer in dogs by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann*, 62, 67, 1971.
- 4) Ohgaki, H., Hasegawa, H., Kusama, K., Morino, K., Matsukura, N., Sato, S., Maruyama, K. and Sugimura, T.: Induction of gastric carcinomas in nonhuman primates by N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *JNCI*, 77, 179~186, 1986.
- 5) Saito, T., Sasaki, O., Tamada, R., Iwamatsu, R. and Inokuchi, K.: Sequential studies of development of gastric carcinoma in dogs induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer*, 42, 1246~1254, 1978.
- 6) Fujita, M., Usugane, M., Nampai, S. and Taguchi, T.: Enhancement of gastric carcinogenesis in dogs given N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res.*, 39, 811~816, 1979.
- 7) Koyama, Y., Omori, K., Hirota, T., Sano, R. and Ishihara, K.: Leiomyosarcomas of the small intestine in dogs by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann*, 67, 241~251, 1976.
- 8) Kurihara, M., Shirakabe, H., Murakami, T., Yasui, A. and Izumi, T.: A new method for producing adenocarcinomas in the stomach of dogs with N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann*, 65, 163~177, 1974.
- 9) Sekizuka, H., Doi, H., Sunagawa, M., Nagai, S. and Kojima, S.: Induction of esophageal cancer associated with gastric cancer in a dog by N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann*, 66, 683~688, 1975.
- 10) Sasajima, K., Kawachi, T., Sano, T., Sugimura, T. and Shimosato, Y.: Esophageal and gastric cancers with metastases induced in dogs by N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *JNCI*, 58, 1789~1794, 1977.
- 11) Takubo, K., Shisa, H., Futatsuki, K. and Sasajima, K.: Early changes of dog esophageal mucosa induced by N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann*, 72, 880~885, 1981.
- 12) Kurihara, K., Shirakabe, H., Izumi, T., Miyasaka, K., Maruyama, T., Yasui, A. and Kamano, T.: Follow-up studies on adenocarcinoma production in the dog stomach by X-ray, endoscopy and biopsy. *Tumor of Early Life in Man and Animals*, 41, 627~636, 1978.
- 13) Sasaki, O., Saito, T., Tamada, R., Iwamatsu, M., Matsukuchi, T. and Inokuchi, K.: DNA cytophotometry on atypical glands in stomach carcinogenesis of dogs induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 109, 93~102, 1985.
- 14) Matsukura, N., Aoyagi, M., Kawachi, T., Uchida, E., Yoshida, S., Hirashima, T., Takasugi, T., Ushio, K., Hirota, T. and Sugimura, T.: Chemotherapeutic study on canine gastric cancer induced by N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Gann*, 71, 349~355, 1980.
- 15) 小島心一, 関塚宏巳, 土居弘明: 実験胃癌の研究. 第 1 報 ENNG 投与法に対する検討. 日本癌学会総会記事, p. 32, 1975.
- 16) 竹下公矢, 砂川正勝, 杉原国扶, 中嶋昭, 越智邦明, 羽生丞, 毛受松寿: ENNG 投与による食道癌の発生: 実験胃癌の研究 (31報). 日本癌学会総会記事, p. 53, 1982.
- 17) 胃癌研究会: 胃癌取扱い規約. 金原出版, 東京, 1985.
- 18) 食道疾患研究会: 臨床・病理: 食道癌取扱い規約. 金原出版, 東京, 1984.
- 19) Nagayo, K. and Yokoyama, H.: Recent changes in the morphology of gastric cancer in Japan. *Int. J. Cancer*, 21, 407~412, 1978.
- 20) Matsukura, N., Kawachi, T., Sasajima, K., Sano, T., Sugimura, T. and Hirota, T.: Induction of intestinal metaplasia in the stomachs of rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *JNCI*, 61, 141~144, 1978.
- 21) Sasajima, K., Kawachi, T., Matsukura, N., Sano, T. and

- Sugimura, T.: Intestinal metaplasia and adenocarcinoma induced in the stomach of rats by N-propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 94, 201~206, 1979.
- 22) Fujimura, S., Kogure, K., Sugimura, T. and Takayama, S.: The effect of limited administration of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine on the induction of stomach cancer in rats. *Cancer Res.*, 30, 842~848, 1970.
- 23) Ming, S. and Goldman, H.: Gastric polyps; A histogenic classification and its relation of carcinoma. *Cancer*, 18, 721~726, 1965.
- 24) Monaco, A.P., Roth, S.I., Castleman, B. and Welch, C.E.: Adenomatous polyps of the stomach; A clinical and pathological study of 153 cases. *Cancer*, 15, 456~467, 1962.
- 25) Kurihara, M., Shirakabe, H., Yamaya, F., Miyasaka, K., Maruyama, T., Izumi, T., Yasui, A. and Kamano, T.: Gastric carcinoma in dogs produced by the combined use of N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; With special reference to development of schirrhous carcinoma. *Acta Pathol. Jpn.*, 29, 171~176, 1979.
- 26) Lingman, C.H., Garner, F.M. and Taylor, D.O.N.: Spontaneous gastric adenocarcinomas of dogs; A review. *JNCI*, 47, 137~153, 1971.
- with a hyperplastic polyp in angulus ventriculi.
- Photo 2 Poorly differentiated adenocarcinoma showing schirrhous infiltration into the submucosa (HE stain, $\times 100$).
- Photo 3 Signet-ring cell carcinoma in the mucosa (HE stain, $\times 100$).
- Plate 2 Dog No. 19
- Photo 4 Borrmann type 1 advanced gastric cancer in the antrum.
- Photo 5 Well differentiated adenocarcinoma infiltrating into the submucosa (HE stain, $\times 200$).
- Photo 6 Endoscopic picture of the esophagus at the experimental month 24, showing the stenosis of the esophageal lumen by developing of the tumor.
- Photo 7 Squamous cell carcinoma in the esophagus showing keratin peal formation (HE stain, $\times 200$).
- Plate 3
- Photo 8 Adenomatous polyp of the stomach in dog No. 16 (HE stain, $\times 4$).
- Photo 9 Sessile hyperplastic polyp in dog No. 19, showing multifocal atypical glands in the mucosa (HE stain, $\times 200$).

Legends

Plate 1 Dog No. 2

Photo 1 Borrmann type 3 advanced gastric cancer

(受付: 1987年1月7日)

Plate (1)

Plate (2)

Plate (3)