膀胱腫瘍に関する実験的研究

第1報 N-Butyl-N-Butanol (4)-Nitrosamine 投与による ダイコクネズミの膀胱腫瘍発生について

	石	川	昌	義
奈良県立医科大学泌尿器科教室	岡	島	英	五郎
(主任: 石川昌義教授)	井	本		卓
	平	松		侃
第一病理学教室	伊	東	信	行
(主任: 北村旦教授)	小	西	陽	一
	日	浅	義	雄

EXPERIMENTAL STUDIES ON URINARY BLADDER TUMORS: I. ON THE DEVELOPMENT OF URINARY BLADDER TUMOR IN RATS INDUCED BY N-BUTYL-N-BUTANOL (4)-NITROSAMINE

Masayoshi Ishikawa, Eigoro Okajima, Takashi Imoto, Tadashi Hiramatsu, Nobuyuki Ito,
Yoichi Konishi, and Yoshio Hiasa

From the Department of Urology and the Department of Pathology, Nara Medical
University, Kashihara, Japan.

(Director: Prof. Masayoshi Ishikawa)

(Director: Prof. Hajime Kitamura)

In the present study, the urinary bladder tumors in male rats of Wistar strain were induced by oral administration of N-Butyl-N-Butanol (4)-Nitrosamine (BBN).

The results were as follow:

- 1) An incidence of urinary bladder and renal pelvic tumors were observed in rats by 0.05% BBN administration; All (100%) of the ten rats had tumors of urinary bladder, and two (20%) of the ten rats combined renal pelvic tumor.
- 2) BBN showed an organotropic effect on the epithelium of urinary tract, especially urinary bladder, with high incidence and short induction time.
- 3) Histologically and histochemically, there were transitional cell type tumors, resembling human bladder tumors.
- 4) The tumors of urinary bladder were classified as four grades according to the histological malignancy and the invading of tumor cells.
- 5) The results were discussed relating to human urinary bladder tumor, and the experimental studies of BBN induced tumor could be useful for the application to the clinical studies of the human urinary bladder tumor.

緒 言

膀胱腫瘍の実験的研究はその発癌機序の解明や、診断及び治療に対する臨床応用への基礎的資料を得るため、極めて重要なものであることはいままでもない。

実験的膀胱腫瘍の発生に関しては、従来より多くの報告があり、芳香族 amine¹⁻¹³⁾、azo 化合物¹⁴⁻¹⁸⁾ 2-acetoamidofluorene¹⁹⁻²⁷⁾、tryptophan の metabolites²⁸⁻³²⁾ や、最近では 3-methylcholanthrene³³⁻³⁶⁾ 及び 4-nitroquinoline 1-oxide³⁶⁾ などを用いて種々の動物に経口、或いは局所投与などの方法で膀胱腫瘍の発生が得られている。

最近、我々は膀胱腫瘍の診断及び治療に関して研究をおこなっているが、その裏づけとなる実験的膀胱腫瘍は、ヒト膀胱腫瘍に類似の腫瘍で、選択的に、且つ比較的容易に得られることが必要である。この観点から、最近の Druckrey 等³⁷⁾ が n-butyl-n-butanol (4)-nitrosamine を用いてダイコクネズミに膀胱腫瘍を選択的に発生せしめた報告は注目すべきものである。我々は Wistar 系雄性ダイコクネズミに n-butyl-n-butanol (4)-nitrosamine を投与し、従来の報告にくらべて短期間に尿路粘膜上皮腫瘍、殊に選択的に膀胱腫瘍を 100% 発生せしめ得た。しかも、その組織学的、組織化学的検索をおこない、ヒト膀胱腫瘍に極めて類似した腫瘍であることを明かにし得たのでその成績を報告する。

実験材料と実験方法

1 実験動物

体重 150 g 前後の Wistar 系雄性ダイコクネズミ (富士アニマル) 21匹を用いた。

2 発癌物質

N-Butyl-N-Butanol(4)-Nitrosamine (以下 BBN と略す)

化学式: $C_8H_{18}N_2O_2$

構造式: $O=N-N \begin{cases} CH_2-CH_2-CH_2-CH_3 \\ CH_2-CH_2-CH_2-OH \end{cases}$

LD50: 1,800mg/kg ダイコクネズミ (Druckrey 等による)

実験方法

BBN 10 g に Tween 80 を 0.2cc 混じて emulsion を作り、水を加えて 0.05% BBN 飲料水を調整し、次の 2 実験群を作製した。

(1) 0.05% BBN 飲料水を投与した実験群 12 匹

* NBBN は中外製薬株式会社にて合成。

Table 1. Composition of the diet (for 10 Kilo)

Sugar.....	7490 g
Salt mixture.....	400 g
Casein.....	1400 g
Casein vitamine mixture.....	200 g
Corn oil.....	500 g
Cod liver oil.....	10 g

(2) 基礎飲料水を投与した対照群 9 匹

実験群については 0.05% BBN 飲料水を全実験期間中自由に摂取せしめ、それぞれの飲用量を記録した。

実験群、対照群ともに、第 1 表の如き組成の一定の基礎食を投与した。体重は 1 週間毎に測定し、 $\pm 22^\circ C$ に保たれた飼育室にて飼育観察した。

実験開始後 20 週間以上生存したすべての動物について、死後剖検、或いは 23、24 及び 25 週の各週においてエーテル麻酔のもとに、各群 2—3 匹あて屠殺し、肉眼的に全身臓器の腫瘍の有無を検索した。膀胱は尿を排出し、膀胱頸部を結紮してその重量を測定し、両側腎、肝及び脾についても重量を測定した。全動物の平均生存日数は 24 週間である。

膀胱は内腔に 10% formalin を 0.5cc 注入して固定し、腎、肝、脾及び変化のある臓器はすべて formalin 及び Stive 液に固定後、パラフィン切片を作製し、hematoxylin-eosin 染色、必要な組織に関しては PAS, Sudan III 染色をおこない、病理組織学的に変化を追究した。

さらに、一部の膀胱、腎及び肝については新鮮凍結切片を用い、succinic dehydrogenase (Nachlas, Walker and Seligman 氏法)、monoamine oxidase (Glenner, Burtner and Brown 氏法)、alkaline phosphatase (Manheimer and Seligman 氏法)、acid phosphatase (Seligman and Manheimer 氏法)、glucose-6-phosphatase (Wachstein and Meisel 氏法)、 β -glucuronidase (Seligman, Tsuo, Rutenburg and Cohen 氏法) を組織化学的に検索し、それぞれの酵素活性の態度を検討した。

実験成績

1. BBN の投与量

第 3 表に示す如くである。即ち BBN 投与期間は平均 24 週間で、平均一日投与量は 11.5mg であった。

2. 体重及び臓器重量の変化

BBN 投与群においては、第 2 表に示す如く対照群にくらべて体重増加がやや目立つ。

膀胱重量は、BBN 投与群において著明な増加がみられる。

Table 2. Changes in body and organ weights in rats treated with BBN

Experimental group	No. of rats	Duration AV. of weeks	Body weight (gm)		Organ weight (gm)				
			Initial	Final	Bladder	Kidney Right Left	Liver	Spleen	
B B N	10	24.0± 1.0	161.8± 8.2	434.0±70.0	1.44± 0.8	1.7± 0.4	1.7± 0.5	12.7± 1.9	0.91± 0.4
Control	9	23.2± 1.2	156.5±10.5	374.3±25.7	0.15± 0.1	1.4± 0.3	1.2± 0.2	10.2± 1.4	0.90± 0.3

Table 3. Tumor incidence of urinary bladder in rats treated with BBN

Experimental group	No. of rats	Duration AV. of weeks	BBN dosis(mg) AV. of daily/rat	Tumor incidence				
				Bladder	Kidney Right	Left	Liver	Others
B B N	10	24.0±1.0	11.5±1.2	10/10	2/10	0/10	0/10	0/10
Control	9	23.2±1.2	none	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9

腎重量は腫瘍の発生のみられた2例において、腫瘍発生側の腎重量の増加がみられた。対側腎の重量は正常腎平均重量よりも増加しているが、これは代償性肥大が示唆される。

肝及び脾重量に著変は認められない。

3. 膀胱腫瘍

(1) 発生頻度

第3表は実験群における腫瘍発生頻度を示す。実験群で2例は第6週及び第8週において肺炎により死亡したが、これらには膀胱に腫瘍性変化を認めなかつた。20週以上生存した10例では100%に膀胱腫瘍の発生をみた。No. 7はBBN投与162日で、肉眼的血尿を持続して死亡したものである。

(2) 肉眼的所見

腫瘍発生の膀胱は示指頭大から拇指頭大に腫大し、膀胱壁血管の拡張及び充血が著明で、膀胱壁は膀胱内の腫瘍発生及び出血などのために暗赤色を呈していた。しかし、いずれも腫瘍の膀胱壁外浸潤或いは隣接臓器との癒着はみられなかつた。

膀胱を切開すると、内腔は多発性の乳頭状に発育した腫瘍が充満しているものが多く、腫瘍組織の先端では出血、或いは壊死状の変性を明らかに認めるものもあつた。しかし結石の形成は全くなかつた(第1, 2図)。

(3) 病理組織学的所見

発生した膀胱腫瘍はほぼ同一の組織像で、すべて移行上皮型の腫瘍細胞よりなり、間質組織に乏しく、乳頭状に発育しているのがみられる(第3, 4図)。腫瘍細胞

は全般に原形質に乏しく、核の大小不同がみられ核分裂像も散見された。さらに一部実験動物においては、腫瘍細胞の角化傾向を示す部分や、筋層へ浸潤性に増殖するものも認められた。間質組織は出血のほか軽度の炎症性細胞浸潤が認められたり、或いは間質が囊腫状となり明かな浮腫を示すところもみられた(第5, 6, 7, 8図)。膀胱粘膜上皮の腫瘍発生部以外の部位においても、移行上皮が膀胱内腔に向つて乳頭状に発育している像を示すのが認められ、さらにその粘膜下に円型細胞の集団をみるところもあつた。

(4) 膀胱腫瘍の組織学的分類

膀胱腫瘍の組織学的分類は腫瘍細胞の悪性度による分類と腫瘍細胞の浸潤度による分類が用いられ、これらを併用してその予後の判定がおこなわれている。従つて我々は今後の研究に備え、発生せしめ得た腫瘍の悪性度を一応次の如き規準のもとに分類した。

(0) 乳頭腫：増生した細胞が正常膀胱粘膜上皮細胞と区別出来ず、規則正しく配列して数層に乳頭状に増殖しているもの(第5図)。

(I) 移行上皮癌第I度：増生した上皮細胞が数層以上であるが、細胞の末分化傾向は強くなく、核分裂像の散見されるもの(第6図)。

(II) 移行上皮癌第II度：上皮細胞の増殖が著しく、細胞の末分化傾向も一応認められ、核分裂像のかかなり多数認められるもの(第7図)。

(III) 移行上皮癌第III度：末分化傾向の強い上皮細胞の増生が著しく、核分裂像の極めて多数認められるもの

Table 4. Histopathological findings of urinary bladder and kidney tumors

No. of rats	Duration weeks	Urinary bladder						Renal parenchyma			Renal pelvis			
		Cancer	Grade	Invasion	Metaplasia	Bleeding	Cystic degeneration	Cancer	Proliferation tubular cell	Cell infiltration	Cancer	Grade	Invasion	Epithelial proliferation
1	23	+	Ⅱ	—	—	±	—	—	±	—	—	—	—	—
2	23	+	I	—	—	±	—	—	+	+	—	—	—	+
3	25	+	Ⅱ	—	—	±	±	—	—	—	—	—	—	—
4	25	+	Ⅲ	—	+	+	±	—	+	+	—	—	—	—
5	25	+	Ⅱ	—	+	—	+	—	±	—	—	—	—	—
6	23	+	Ⅲ	+	+	+	—	—	+	+	+	Ⅲ	+	+
7	24	+	I	—	—	+	±	—	—	—	—	—	—	—
8	24	+	I	—	±	+	—	—	+	+	—	—	—	—
9	24	+	Ⅱ	—	+	+	±	—	+	+	+	Ⅱ	—	+
10	23	+	Ⅱ	+	—	±	±	—	±	±	—	—	—	±

(第8図).

浸潤度については、筋層まで達したものはわずかに2例にすぎず、それ以上に浸潤を示したものはなかつたので、今回は浸潤の有無だけを判定表示した。

この分類法に従つて分けると、その悪性度は、0度は0、第1度は3例、第Ⅱ度は5例、第Ⅲ度は2例であつた。なお浸潤の認められたものは2例であつた。その結果は第4表に示す如くである。

4. 他臓器の腫瘍

第3表に示す如く、10例中2例、20%の頻度で、右側腎に発生した腎盂腫瘍であつた。肉眼的に腫瘍の発生した腎はいずれも暗赤色を呈してやや腫大し、1例においては腎盂及び尿管の拡張がみられた。腎を切開すると、腎盂内は乳頭腫が多発した腎盂乳頭腫症の所見で、出血及び一部壊死状の変性が著明にみられ、腫瘍発生と水腎症のために腎実質は一般に菲薄であつた。尿管腫瘍の発生は認められなかつた。

病理組織学的所見は、腎盂粘膜移行上皮が乳頭状に腎盂内に増殖し、腫瘍細胞は原形質に乏しく、核の大小不同があり、核分裂像も多数みられ、浸潤性に増殖する像も認められた。間質組織には出血及び炎症性細胞浸潤が著明であつた(第9、10図)。

腎、膀胱以外他臓器には、肉眼的、組織学的に腫瘍発生はみられなかつた。

5. 膀胱腫瘍及び腎盂腫瘍の組織化学的所見

膀胱及び腎盂腫瘍ともに同一の粘膜上皮から発生するため、組織化学的にその酵素の分布はほぼ同一の所見を呈している。

Table 5. Histochemical activity of urinary bladder and kidney tumors in rats induced by BBN

	Bladder		Kidney	
	Tumor cells	Stroma	Tumor cells	Stroma
Succinic dehydrogenase	+	—	+	—
Monoamine oxidase	+	—	+	—
Alkaline phosphatase	±	+	±	+
Acid phosphatase	+	—	+	—
Glucose-6-phosphatase	+	—	+	—
β-Glucuronidase	+	±	+	±
Glycogen	±	±	±	±
Fat	—	—	—	—

酸化酵素系; monoamine oxidase が腫瘍細胞に強い活性を示し(第11図)、succinic dehydrogenase, glucose-6-phosphatase は弱いながら活性が認められた。

水解酵素系; β-glucuronidase が強い活性を示し、殊に乳頭状腫瘍の表層部に著明であつた。また間質組織にもごくわずかであるが活性を示す顆粒が認められた(第12図)。acid phosphatase は腫瘍細胞に中等度の活性、alkaline phosphatase は間質組織、殊に血管壁に強陽性を示した。以上の結果は第5表に示す如くである。

考 按

膀胱腫瘍は職業癌の代表的なものの一つで、Rehn³⁸⁾がフクシン工場の工員3名に膀胱腫瘍を発見して以来、膀胱腫瘍発生に関する多数の実験的研究が報告されてい

る。すなわち、膀胱腫瘍の癌原性化学物質として芳香族 amin, tryptophan 代謝産物、或いは 3-methylcholanthrene などが用いられ、その投与方法として経口投与、皮下投与、或いは局所投与などの方法によつて研究がおこなわれている。しかし、局所投与方法²⁸⁻³⁶⁾は膀胱腫瘍の発生に際し、尿中に癌原物質が排泄されて腫瘍が発生するという考えから、その癌原物質の膀胱への発癌性を確かめるためにはすぐれた実験方法であるが、実験時の動物への手術的浸襲及びそれによる感染、或いは Pellet などの膀胱内異物の存在など多くの問題がある。従つて、癌原性化学物質を経口、或いは皮下投与により、自然発生により近い発生方法が望ましい方法と考えられる。

一方、実験動物としてはイヌ⁵⁻¹¹⁾²⁷⁾、イエウサギ¹⁻⁴⁾、ダイコクネズミ¹²⁻²⁵⁾³⁷⁾⁵²⁾及びハツカネズミ²⁶⁾³⁹⁾⁴⁰⁾などが用いられているが、イエウサギは膀胱腫瘍発生に対する抵抗性があり、発生腫瘍の大多数は乳頭腫にとどまるため⁴¹⁾、イヌ或いはダイコクネズミを用いた膀胱腫瘍の実験が多い。

一般に、ダイコクネズミの膀胱腫瘍の自然発生は稀とされ、Hackmann¹³⁾は Wistar 系ダイコクネズミ 544 例中 1 例も認めなかつたと報告しており、その他多くの報告もほぼ同様である⁴²⁾。

また、発癌実験に際しては、その系統によつて同一癌原性化学物質を投与しても、膀胱腫瘍の発生頻度に著明な差のあることはすでに知られている事実である。すなわち、Wilson 等¹⁹⁾や Walpole 等¹²⁾は、2-acetamidofluorene や 3:2'-dimethyl-4-aminodiphenyl を投与して Slonaker 系ダイコクネズミにおいてのみ膀胱腫瘍の発生頻度が高く、また、Dunning 等⁴²⁾も 2 つの異つた系統のダイコクネズミに 2-acetamidofluorene を投与して、Copenhagen 系及び A×C 系には膀胱腫瘍を発生せしめ得たが、他系統のものにおいては膀胱腫瘍を発生せしめ得なかつたと報告している。

膀胱腫瘍の臨床統計的観察⁴⁴⁻⁴⁷⁾では、男性にその発生頻度が高いとする報告が多い。一方実験的研究報告では、ダイコクネズミの実験的膀胱腫瘍の雌雄別発生頻度は Fischer 系では雌に²²⁾、Slonaker 系では雄¹²⁾に高いことが知られている。Marschall 等⁴⁰⁾はイヌを用いての実験において、その発生頻度は雌雄差よりも膀胱粘膜の癌原物質に対する曝露期間が重要な関係をもつと述べている。本実験においても、従来より我々が尿路発癌実験に用いている Wistar 系ダイコクネズミの雄を使用した。

従来より実験的膀胱腫瘍の癌原性化学物質として報告されているものは多数あり、その代表的なものは、2-naphthylamine, 2-acetamidofluorene, 4-aminodiphenyl, n-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide や BBN などである。2-naphthylamine はイヌ及びイエウサギに、2-acetamidofluorene はイヌに膀胱腫瘍の発生がみられるが、ダイコクネズミにおいては主として肝腫瘍が発生し、特定系統においてのみ膀胱腫瘍の発生をみるにすぎない¹²⁾¹⁹⁾⁴⁸⁾。また 2-acetamidofluorene 投与の際に、DL-tryptophan²⁰⁻²²⁾や Indol²³⁾を添加したり、pyridoxin 欠乏餌²²⁾²⁴⁾を投与した場合、他臓器の腫瘍の併発もあるが、膀胱腫瘍の発生率が高くなることも知られている。4-aminodiphenyl はイヌに膀胱腫瘍を⁹⁾⁴⁹⁾、ダイコクネズミでは小腸腫瘍⁵⁰⁾を発生させるが、その derivatives の 3:2'-dimethyl-4-aminodiphenyl¹²⁾、或いは 2-amino-3-methoxybiphenylene oxide¹³⁾は膀胱腫瘍の発生は高率である。しかし小腸腺癌、胸部肉腫や外耳道扁平上皮癌を併発する。diButylNitrosamine は、ダイコクネズミに経口投与した場合に膀胱腫瘍が発生するが、同程度の頻度で肝や外耳道の腫瘍も発生する。n-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide⁵²⁾はこれをダイコクネズミに投与すると膀胱腫瘍を 100%発生するが、50%に乳腺腫瘍の併発をみる。しかし BBN は Druckrey 等³⁷⁾が報告している如く、また我々の実験結果においても、尿路粘膜上皮腫瘍、主として膀胱癌のみの発生が得られ、他臓器の腫瘍性変化は全く認められなかつた。

癌原性化学物質の投与による膀胱腫瘍の発生期間には、実験動物及び癌原性化学物質の種類により異なるが、一般にイヌやイエウサギを用いた場合、1年～5年の長期間を要し、ダイコクネズミにおいても 2-acetamidofluorene を投与した場合、Dunning 等²⁰⁾は DL-tryptophan を餌に添加して 320日～400日で 100%に、Morris 等²²⁾は 253日で 91.6%、Oyasu 等²³⁾は Indol を餌に添加して 336日で 58%に膀胱腫瘍の発生をみている。その他の癌原性化学物質をダイコクネズミに投与した場合では、Hackmann¹³⁾は 204日間、Ertürk 等⁵²⁾は 46週間といずれもかなりの長期間を要している。Druckrey 等³⁷⁾は BD VI, VIII, IX 系のダイコクネズミに BBN を 20mg/kg/day と 30mg/kg/day を投与して、前者で 275日±30日、後者で 225日間で膀胱腫瘍を 100%発生せしめ得るが、投与量を倍にしても腫瘍の発生期間に著明な差はなかつたと述べている。我々は Wistar 系ダイコクネズミに BBN を 1日平均 11.5mg、平均約 30mg/kg 投与して、平均 168日

間の短期間で膀胱癌を 100% 発生せしめ得たことは、使用ダイコクネズミの系統、癌原性化学物質の投与方法並びに基礎食の組成の差異による可能性はあるにしても、極めて注目すべき結果である。

以上、BBN は従来から知られている他の癌原性化学物質と比較して、特異的に尿路粘膜上皮腫瘍、殊に膀胱腫瘍発生を惹起し、その発生頻度の極めて高率で且つ発生までの期間の短縮を計り得たと言い得る。

人体に発生する原発性膀胱腫瘍は、乳頭腫、移行上皮癌、扁平上皮癌、腺癌、未分化癌、尿管癌や肉腫などであるが、このうち最も多いのは移行上皮癌で、本邦での報告⁴⁴⁾⁴⁶⁾や我々の報告⁴⁷⁾では膀胱腫瘍の70—80%を占めている。膀胱腫瘍の組織学的分類に関して、移行上皮癌については American Bladder Tumor Registry⁵³⁾の分類により細胞の分化度から、乳頭腫、移行上皮癌 grade I II, III 及びIVの分類を、扁平上皮癌については主として Broders⁵⁴⁾の分類がよく用いられるが、さらに予後判定に重要な因子として腫瘍細胞の浸潤度を考慮し Jewett 等⁵⁵⁾の分類が併用されている。一方、実験的膀胱腫瘍の組織学的特性については、ほとんどが癌原性化学物質の腫瘍発生率を検索することに実験の主目的があるために詳細な記載が少なく、実験動物や癌原性化学物質の種類による著明な差はないようである。ダイコクネズミにおいても乳頭状発育の多発した乳頭腫症で、腫瘍細胞は移行上皮型であるが、扁平上皮化生を示すものが多く、また移行上皮癌より扁平上皮癌の発生頻度が高い¹³⁾²⁴⁾³²⁾。しかし転移を示したものの報告はほとんどみない。BBN をダイコクネズミに投与した場合、Druckrey 等³⁷⁾は移行上皮癌、扁平上皮癌及び腺癌の発生を得たと報告しているが、その詳細な記載はない。さらに発生した膀胱腫瘍の組織学的分類についても画一的なものではなく、Bonser 等⁴⁰⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾は乳頭腫と癌に分け、癌については浸潤度に従って浸潤のないものを grade I、筋層への浸潤のあるものを grade II、膀胱壁外へ浸潤したものを grade III に分類しており、また Roe⁵⁸⁾は悪性度を腫瘍細胞の性格によつて移行上皮型、腺上皮型及び未分化型に分類し、さらに腫瘍細胞の筋層への浸潤をもとに stage 1 と stage 2 に分類している。我々が BBN を投与して発生し得た膀胱腫瘍は全例移行上皮癌で、若干の扁平上皮化生を認めたにすぎない。今回の観察においては、実験的膀胱腫瘍を用いて臨床応用への基礎的資料を得るといふ我々の目的からも日常臨床で用いられている膀胱腫瘍の分類に準ずるべきであると考え、我々は実験的膀胱

腫瘍を腫瘍細胞の悪性度によつて次の如く分類した。即ち、乳頭腫、移行上皮癌第I度、第II度及び第III度とし、浸潤度は別に分類した。第I度は3例、第II度は5例、第III度は2例で、浸潤のあつたものは第II度のものと、第III度のものがそれぞれ1例づつあつた。浸潤度については、今後の実験症例数の増加をまつて再検討するが、今回は組織学的にその浸潤の有無を記載した。

近年、ヒト及び動物の悪性腫瘍において、腫瘍組織、或いは体液の諸酵素値の変動を測定して腫瘍の診断に応用しようとの試みがある。

膀胱腫瘍においても血中、尿中及び腫瘍組織中酵素の生化学的研究は、 β -glucuronidase を中心に多くの報告⁵⁹⁻⁶⁴⁾がみられる。しかし膀胱腫瘍に関する組織化学的研究は比較的少なく、実験的膀胱腫瘍に至つてはほとんどその報告をみない。即ち、ヒト膀胱腫瘍については、森⁶⁵⁾、生駒等⁶⁶⁾によれば、腫瘍組織の腫瘍細胞に monoamine oxidase, β -glucuronidase が強陽性で、acid phosphatase, succinic dehydrogenase, glucose-6-phosphatase が弱陽性であり、alkaline phosphatase は間質組織に陽性であると報告している。我々の BBN による実験的膀胱腫瘍においても全く同様の酵素活性の分布状態を示したことは、組織化学的に我々の実験的膀胱腫瘍はヒト膀胱腫瘍に極めて類似した腫瘍であると考えられる。

膀胱腫瘍の発癌機序に関して、Scott 等⁷⁾はイヌに sigmoid loop bladder を造設し、2-naphthylamine を投与した場合、sigmoid loop bladder には腫瘍が発生せずに尿管及び腎盂に腫瘍が発生したことから、2-naphthylamine 投与による尿中に排泄された物質は癌原物質として尿路粘膜に臓器特性があると述べ、また Mc-Donald 等⁸⁾はイヌに膀胱憩室を造設して 2-naphthylamine を投与し、全例に膀胱腫瘍の発生をみたが、尿と接触のなかつた憩室には腫瘍の発生を認めず、尿中への排泄物質の発癌性を示唆している。また ¹⁴C-2-naphthylamine を諸動物に投与すると80—90%が代謝産物として尿中に排泄されるが⁶⁷⁾⁶⁸⁾、生体内に吸収された 2-naphthylamine は肝で酸化されて 2-amino-1-naphthol、または 2-naphthylhydroxylamine となり、glucuron 酸と抱合して glucuronide として尿中に排泄され、膀胱内に長期間滞留中に β -glucuronidase により glucuronide が解離された o-aminophenol、または arylhydroxylamine が発癌物質として膀胱粘膜上皮に発癌作用をおこすものと考えられている⁶⁹⁾。従つて、ヒト膀胱腫瘍患者の尿中 β -glucuronidase の役割についての報告も⁶⁹⁻⁷⁴⁾ま

Fig. 1 Macroscopic finding of the urinary bladder tumor. Showing the papillary tumor.

Fig. 2 Macroscopic finding of the urinary bladder and kidney tumor.

Fig. 3 Low power magnification of the urinary bladder tumor

Fig. 4 Low power magnification of the urinary bladder tumor

Fig. 5 Papillomatous figure of the urinary bladder (Grade 0) (400 $\times$)

Fig. 6 Transitional cell carcinoma (Grade I) of the urinary bladder (400 $\times$)

Fig. 7 Transitional cell carcinoma (Grade II) of the urinary bladder (400 $\times$)

Fig. 8 Transitional cell carcinoma (Grade III) of the urinary bladder (400 $\times$)

Fig. 9 Transitional cell carcinoma of the renal pelvis (100 $\times$)

Fig. 10 Transitional cell carcinoma of the renal pelvis (400 $\times$)

Fig. 11 Monoamine oxidase of the urinary bladder cancer

Fig. 12 β -Glucuronidase of the urinary bladder cancer

た多数みられる。

nitrosamine 化合物の発癌機序については, nitrosamine そのものがtoxic actionを示すものではなく生体内で代謝され, その代謝産物のうち特に反応性の強いものが生じた部位, または特定の部位に運ばれて, 始めて発癌過程を発生すると考えられている⁷⁰⁾⁷¹⁾。BBNに関しては, dibutyl nitrosamine を大量投与してもすべて代謝されてほとんどが尿中に排泄されるという事実⁷²⁾から, Druckrey 等³⁷⁾は肝で代謝され ester 化—例えば glucuronide —した代謝産物が尿中に排泄され, 膀胱内貯留の間に解離して発癌性を発揮することが膀胱への臓器特性をもつ要因ではないかと考えている。我々の実験でも, 尿路粘膜上皮, 殊に膀胱に 100%腫瘍が発生し, 且つ, 肝その他の臓器に変化を認めなかつたことは, これらの事実を肯定しうる一つの成果と考えられる。

結 論

Wistar 系ダイコクネズミを用いて n-butyl-n-butanol (4)-nitrosamine を投与し, 次の結果を得た。

(1) 0.05%の BBN 経口投与により, 20週間以上生存した10例の全例に 100%の高率に膀胱腫瘍の発生をみた。また膀胱腫瘍発生の所要日数は平均 168日の短期間であった。

(2) 0.05%の BBN 経口投与により, 20週間以上生存した10例中の2例, 20%に腎盂腫瘍の合併をみたが, その他の臓器の腫瘍の合併は全く認められなかつた。我々のおこなつた BBN 投与実験では, BBN は尿路粘膜上皮に特異的に発癌作用があるものとする。

(3) 発生した腫瘍は移行上皮癌で組織学的, 組織化学的にヒトの膀胱腫瘍, または腎盂腫瘍に極めて類似した腫瘍であるとする。

(4) BBNにより発生した膀胱腫瘍を組織学的に腫瘍細胞の悪性度と浸潤度の2つを拠点として新しく分類した。浸潤度については, さらに検討し分類する考えである。

(5) 以上の結果, BBN投与によりヒトの膀胱腫瘍に極めて類似した実験的膀胱腫瘍が得られることから, その臨床応用への有用性が考えられる。

稿を終るに臨み, 御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた第一病理学教室北村旦教授に深甚なる謝意を表します。

なお本論文の要旨は, 第56回日本泌尿器科学会総会及び第57回日本病理学会総会において発表した。

文 献

1) Perlman, S. und Staehler, W.: Klin. Wsch.,

- 47, 1955, 1932.
- 2) 石川昌義: 日泌尿会誌, 30, 1, 1941.
- 3) 石川昌義: 日泌尿会誌, 30, 12, 1941.
- 4) 石川昌義: 日泌尿会誌, 30, 19, 1941.
- 5) Hueper, W.C., Wiley, F.H. and Wolfe, H.D.: J. industr. Hyg. Tox., 20, 46, 1938.
- 6) Bonser, G.M.: J. Path. Bact., 55, 1, 1943.
- 7) Scott, W.W. and Boyd, H.L.: J. Urol., 70, 914, 1953.
- 8) McDonald, D.F. and Lund, R.R.: J. Urol., 71, 560, 1954.
- 9) Walpole, A.L., Williams, M.H.C. and Roberts, D.C.: Brit. J. industr. Med., 11, 105, 1954.
- 10) Marshall, V.F., Green, J.L. and Harris, J.J.: Cancer, 9, 622, 1956.
- 11) 細川靖治: 日泌尿会誌, 58, 46, 1967.
- 12) Walpole, A.L., Williams, M.H.C. and Roberts, D.C.: Brit. J. Cancer, 19, 170, 1955.
- 13) Hackmann, Ch.: Z. Krebsforsch., 61, 45, 1956.
- 14) Yoshida, T.: Gann, 29, 295, 1935.
- 15) Otsuka, I. und Nagao, N.: Gann, 30, 561, 1936.
- 16) Nagao, N.: Gann, 31, 336, 1937.
- 17) 細田寿郎: 日泌尿会誌, 33, 93, 1942.
- 18) Tomatis, L., Porta, G.D. and Shubik, P.: Cancer Res., 21, 1513, 1961.
- 19) Wilson, R.H., DeEds, F. and Cox, A.J.: Cancer Res., 1, 595, 1941.
- 20) Dunning, W.F. and Curtis, M.R.: Cancer Res., 10, 544, 1950.
- 21) Dunning, W.F. and Curtis, M.R.: Cancer Res., 14, 299, 1954.
- 22) Morris, H.P., Sidransky, H. and Wagner, B.P.: Proc. Am. Assoc. for Cancer Res., 3, 136, 1960.
- 23) Oyasu, R., Miller, D.A., McDonald, J.H. and Hass, G.M.: Arch. Path., 75, 184, 1963.
- 24) Melicow, M.M., Uson, A.C. and Price, T.D.: J. Urol., 91, 520, 1964.
- 25) Veenema, R.J., Fingerhut, B. and Tannenbaum, M.: Invest. Urol., 1, 587, 1964.
- 26) Armstrong, E.C. and Bonser, G.M.: J. Path. Bact., 56, 507, 1944.
- 27) Morris, H.P. and Eyestone, W.H.: J. Nat. Cancer Inst., 13, 1139, 1953.
- 28) Allen, M.J., Boyland, E., Dukes, C., Horning, E.S. and Watson, G.J.: Brit. J. Cancer, 11, 212, 1957.
- 29) 金子興一: 日泌尿会誌, 51, 164, 1960.
- 30) Bryan, G.T., Brown, R.R. and Price, J.M.: Cancer Res., 24, 582, 1964.
- 31) Bryan, G.T., Brown, R.R. and Price, J.M.:

- Cancer Res., 24, 596, 1964.
- 32) Bryan, G.T., Morris, C.R. and Brown, R.R.: Cancer Res., 25, 1432, 1965.
 - 33) Jull, J.W.: Brit. J. Cancer, 5, 328, 1951.
 - 34) Brosig, W.: Brun's Beitr., 194, 278, 1957.
 - 35) 大江昭三: 日泌尿会誌, 50, 813, 1959.
 - 36) 岡島英五郎: 奈良医学雑誌, 15, 1, 1964.
 - 37) Druckrey, H., Preussmann, R., Ivankovic, S., Schmidt, C. H., Mennel, H. D. und Stahl, K.W.: Z. Krebsforsch., 66, 280, 1964.
 - 38) Rehn, L.: Arch. klin. Chir., 50, 588, 1895.
 - 39) Bonser, G.M. and Clayson, D.B.: Brit. J. Urol., 36, 26, 1964.
 - 40) Clayson, D.B. and Bonser, G.M.: Brit. J. Cancer, 19, 311, 1965.
 - 41) Bonser, G.M.: Acta Un. int. Cancr., 18, 538, 1962.
 - 42) Curtis, M.R., Bullock, F.D. and Dunning, W.F.: Am. J. Cancer, 15, 67, 1931.
 - 43) Dunning, W.F., Curtis, M.R. and Madsen, M.E.: Cancer Res., 7, 134, 1947.
 - 44) 市川篤二: 日泌尿会誌, 49, 602, 1958.
 - 45) 吉田 修: 泌尿紀要, 12, 1261, 1966.
 - 46) 吉田 修: 泌尿紀要, 12, 1374, 1966.
 - 47) 岡島英五郎他: 第18回日本泌尿器科学会中部連合地方会記事, 1967.
 - 48) Weisburger, E. K. and Weisburger, J. H.: Advanc. Cancer Res., 5, 331, 1958.
 - 49) Deichmann, W.B., Radomski, J.L., Anderson, W. A., Coplan, M. M. and Woods, F. M.: Industr. Med. Surg., 27, 25, 1958.
 - 50) Walpole, A.L., Williams, M.H.C. and Roberts, D.C.: Brit. J. industr. Med., 9, 255, 1952.
 - 51) Druckrey, H., Preussmann, R., Schmähel, D. und Müller, M.: Naturwissenschaften, 49, 19, 1962.
 - 52) Ertürk, E., Price, J.M., Morris, J.E., Cohen, S., Leith, R.S., Esch, A.M. and Crovetti, A.J.: Cancer Res., 27, 1998, 1967.
 - 53) Mostofi, F.K.: Symposium on cancer of the urinary bladder., S. Karger, Basel, 93, 1961.
 - 54) Broders, A.C.: Ann. Surg., 75, 574, 1922.
 - 55) Jewett, H.J. and Strong, G.H.: J. Urol., 55, 366, 1946.
 - 56) Bonser, G.M. and Jull, J.W.: J. Path. Bact., 72, 489, 1956.
 - 57) Clayson, D.B., Jull, J.W. and Bonser, G.M.: Brit. J. Cancer, 12, 222, 1958.
 - 58) Roe, F.J.C.: Brit. J. Urol., 36, 238, 1964.
 - 59) Boyland, E., Wallace, D.M. and Williams, D.C.: Brit. J. Cancer, 9, 62, 1955.
 - 60) Kerr, W.K., Barkin, M., D'Aloisio, J. and Menczyk, Z.: Cancer, 16, 633, 1963.
 - 61) 東 国雄: 日泌尿会誌, 49, 50, 1958.
 - 62) 園田孝夫: 日泌尿会誌, 50, 163, 1959.
 - 63) 今村一男: 日泌尿会誌, 53, 613, 1962.
 - 64) 米瀬泰行: 日泌尿会誌, 54, 211, 1963.
 - 65) 森 昌彦: 腫瘍酵素組織化学, 医学書院, 1966.
 - 66) 生駒文彦他: 第24回日本癌学会総会記事, 193, 1965.
 - 67) Henson, A.F., Somerville, A.R., Farquharson, M.E. and Goldblatt, M.W.: Biochem. J. 58, 383, 1954.
 - 68) Twombly, G.H., Zomzely, C. and Meislich, H.: Acta Un. int. Cancr., 13, 24, 1957.
 - 69) Boyland, E.: The biochemistry of bladder cancer, Thomas, C.C., Springfield, 1963.
 - 70) Emmelot, P., Mizrahi, I.J. and Kriek, E.: Nature, 193, 1158, 1962.
 - 71) Heath, D.F. and Magee, P.N.: Brit. J. industr. Med., 19, 276, 1962.
 - 72) Preussmann, R., Wulf-Lorentzen, G., Daiber, D. und Hengy, H.: Z. analyt. Chem., 202, 187, 1964.

(昭和43年8月12日受付)