マウスの肝臓における腫瘍性病変

松沼尚史*，柳井徳磨**

三共（株）* 生物研究所，**安全性研究所

1.はじめに

実験動物を用いた化学物質に関する安全性試験で，その被験物質に起因した変化を抽出するために，使用した動物において，元来発症する，いわゆる背景病変に関する蓄積データを参照する場合がある。試験が長期間におよぶ癌原性試験では，さらに内的あるいは外的の様々な要因が変動する中で老化する。したがって，癌原性試験では，背景病変に関する蓄積データが特に重要な情報となる。そしてその場合，このデータがいつでも参照でき，しかも相互比較が可能な一定の基準に基づいて整理されている必要がある。

そこで，マウスを用いた癌原性試験の対照群に検出した肝臓の腫瘍性病変を材料として，その病理学的な診断基準の問題点について検討した。なお，C.H.Frith と J.M.Ward(1980)¹⁾ が提示した分類を参照基準として用いた (Table 1~4)。

Table 1

A Morphologic Classification of Proliferative and Neoplastic Hepatic Lesions in Mice

- I. Hepatocyte Lesions
 - A. Foci of Cellular Alteration
 - B. Intranuclear and Intracytoplasmic Inclusions
 - C. Cytomegaly and Karyomegaly
 - D. Neoplasms
 - 1. Hepatocellular Adenoma
 - 2. Hepatocellular Carcinoma
- II. Biliary and Related Lesions
- III. Sinusoidal-Lining Cell Lesions
- IV. Hematopoietic Lesions
- V. Metastatic Lesions

Table 2

Foci of Cellular Alteration

1. Acidophilic (eosinophilic) cell	
2. Basophilic cell	
3. Vacuolated cell	
4. Clear cell	No obvious disruption of the liver architecture
5. Mixed cell	Without compressing normal parenchyma

Table 3

Hepatocellular Adenoma

a. Basophilic	Solid cords of cells
b. Acidophilic (eosinophilic)	Resembling normal hepatocytes
c. Vacuolated cell	Compressing adjacent parenchyma
d. Mixed cell	Bulging from the liver surface
	Low mitotic index
	Usually less than 5 mm in size
	No invasion, no metastasis

Table 4

Hepatocellular Carcinoma

a. By differentiation	
(1) Well differentiated	Areas of necrosis
(2) Moderately-well differentiated	Wide irregular vascular channels
(3) Poorly differentiated	Variation in cell size
	Pleomorphism of nuclei
	Hyperchromasia
b. By cytology and pattern	High mitotic index
(1) Trabecular	Invasion
(2) Adenocarcinoma (adenoid)	Metastasis
(3) Solid	

2.材料および方法

B6C3F1マウス(C57BL × C3H: 日本チャールスリバー株式会社)を用いた癌原性試験の対照群雄60匹, 雌60匹の肝臓を検索した。最終解剖時マウスの週齢は110 週齢である。その間, 温度22-24 °C, 湿度45-55%, 照明は13時間/日に調節したバリア方式の飼育室で個別ケージにマウスを収容し, 水道水と粉末飼料(NM:オリエンタル酵母工業株式会社)を自由に摂取させた。

常法に従い肝臓のヘマトキシリン・エオジン染色病理組織標本を作製して観察した。

3.結果および考察

C.H.Frith らの基準に従って分類した結果をTable 5 にまとめた。

Table 5
INCIDENCE OF PROLIFERATIVE AND NEOPLASTIC
HEPATIC LESIONS IN B6C3F1 MICE

	MALE	FEMALE
Acidophilic cell foci	8/60	1/60
Basophilic cell foci	10/60	3/60
Clear cell foci	8/60	2/60
Vacuolated cell foci	3/60	0/60
Mixed cell foci	3/60	0/60
Hepatocellular adenoma	16/60	7/60
Hepatocellular carcinoma	32/60	10/60
(Pulmonary metastasis	6/32	1/10)
Hemangioma	8/60	1/60
Malignant lymphoma	3/60	10/60

B6C3F1マウスに関するJ.M.Wardら(1979)の報告²⁾と比較すると, 肝細胞腺腫(Fig.1) および肝細胞癌(Fig.2,3) の検出率の高い傾向を示した。すなわち, Table 3 および4 の基準に従った場合, 境界病変に関する記載が不足しているために, 肝細胞腺腫あるいは肝細胞癌に分類される病変が多く抽出される傾向がある。一方, いわゆる細胞変性巣であるacidophilic cell foci (Fig.4) , basophilic cell foci(Fig.5) あるいはclear cell foci (Fig.6) などが観察された。Table 2 の基準に従えば, 周囲を圧排しないことが特徴のひとつとなっているが, 厳密にこの基準を適用するとかなりの数の細胞変性巣が例外となってしまうであろう。

ところで、参照基準としたC.H.Frithらの分類では、過形成結節という用語を採用していない。ラットの肝臓の腫瘍分類において、R.A.SquireとM.H.Levit (1975)³⁾が採用したneoplastic noduleという用語は適切ではないにしても、肝臓に観察される病変を表現する上で過形成結節(hyperplasia, hyperplastic nodule)という用語は必要であろう。

4. おわりに

肝細胞の腫瘍は、B6C3F1老化マウスで比較的高率に検出されたが、核分裂の頻度は低く、細胞や核の異型性も比較的少なかった。肺へ転移する例があり、索状構造を示した肝細胞癌で比較的多く認められたが、solid型の腫瘍にも転移は観察された。

以上、マウスの背景病変を利用する場合、肝臓の腫瘍性病変については、腫瘍性増殖と非腫瘍性増殖あるいは、良性腫瘍と悪性腫瘍のそれぞれ境界を判定するための明確な基準を設定する必要がある。しかし、これは、形態学的な特徴にのみ依拠したのでは困難であろう。今後、癌原性物質による発癌実験の知見を参考に、前癌病変の解析を進めて、腫瘍が発現する過程での形態学的な特徴を明らかにするとともに、さらに簡便で的確な新しい指標を設定して実際の試験に応用できるようにすることが必要である。

5. 参考文献

- 1) C.H.Frith, J.M.Ward: A morphologic classification of proliferative and neoplastic hepatic lesions in mice. J.Environ.Pathol.Toxicol., 3, 329-351, 1980
- 2) J.M.Ward: Morphology of hepatocellular neoplasms in B6C3F1 mice. Cancer Letters, 9, 319-325, 1980
- 3) R.A.Squire, M.H.Levit: Report of a workshop on classification of specific hepatocellular lesions of rats. Cancer Res., 35, 3214-3233, 1975

A proposal on histopathological classification criteria of
proliferative and neoplastic liver lesions in mice

Naochika MATSUNUMA* and Tokuma YANAI**

- * Biological Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd., 1-2-58
Hiromachi, Shinagawa, Tokyo 140, Japan
- ** Laboratory Animal Science and Toxicology Laboratories, Sankyo
Co., Ltd., 717 Horikoshi, Fukuroi, Shizuoka 437, Japan

In the carcinogenicity test on chemical compound, spontaneous tumors are observed in the livers of untreated control mice under the tendency of age dependent increasing. These data, that is to say baseline, may give important informations to evaluate carcinogenic potential of the test compound. From this point of view, proliferative and neoplastic liver lesions in untreated control mice (B6C3F1, 60 males, 60 females) of a carcinogenicity test were classified to depend upon the useful criteria recommended by C.H.Frith and J.M.Ward (1980). Thereafter, we discussed on its availability.

Mice were maintained individually in cage of polycarbonate with bedding of wood chips. They were fed with powdered commercial feed and tap water ad libitum. Air temperature was maintained at 22-24°C and relative humidity at 45-55%.

During the test period, all dead mice or mice killed in poor condition were necropsied, and all surviving mice were sacrificed at 110 weeks of age. Tissues were fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin, sectioned, and stained with hematoxylin and eosin.

In the results, liver cell adenoma were seen in 16/60 of the males and 7/60 of the females. Liver cell carcinoma were noted in 32/60 of the males and 10/60 of the females. A little higher incidence was obtained using this criteria. Acidophilic and other cell foci were also observed. However, there are some problems in this recommended criteria to apply practically. Namely, the description on borderline lesions is not so clear, therefore, some discrepancy may take place in diagnosis by every pathologist. Another one is lack of the term hyperplasia which may be useful in practical carcinogenicity studies with experimental animals. So we will recommend to use the terms hyperplasia, adenoma, and carcinoma on the liver lesions in the carcinogenicity test with mice. Also we will propose to make more clear-cut descriptins on these terms including focal liver cell alterations under the consensus of pathologists in this field to refer to the results of recent experimental carcinogenicity studies.

Fig. 1, H-E
x130

Fig. 2, H-E
x260

Fig. 3, H-E
x260

Fig. 4, H-E
x260

Fig. 5, H-E
x260

Fig. 6, H-E
x260