



Histogenesis of rat colon carcinoma induced by N-Methyl-N-nitrosourea

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 瀬野尾, 一孝 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/912

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 59号	学位授与年月日	昭和63年 3月25日
氏 名	瀬野尾 一 孝		
論文題目	Histogenesis of rat colon carcinoma induced by N-Methyl-N-nitrosourea (MNU 誘発ラット大腸癌の発生様式に関する研究)		

Histogenesis of rat colon carcinoma induced by N-Methyl-N-nitrosourea
(MNU誘発ラット大腸癌の発生様式に関する研究)

論文の内容の要旨

大腸癌の組織発生には、adenoma-cancer sequence及びde novoの発生が知られているが、これに加えてprogressionによる発生も重要なpathwayと考えられる。今回、成沢らの方法でラットにN-methyl-N-nitrosourea(以下MNU)を経肛門的に投与し、大腸腫瘍を作成した。そして腫瘍の発生過程を経時的に観察するとともに、発生過程における腫瘍の細胞レベルでの変化をみるために、 ^3H -thymidine投与による標識率や、核DNA量の測定を行い検討した。

〔材料及び方法〕

雌ドンリューラットに成沢らの方法で、MNUを経肛門的に1匹当たり1回2mg、週3回5週間にわたり計30mgを投与し、経時的に屠殺した。

1. 腫瘍の経時的観察と組織学的検索

MNU投与開始より20週(以下group I)5匹、40週(group II)12匹において、腫瘍を異型度により分類しその割合を比較した。腫瘍は粘膜内病巣を軽～中等度異型病巣、高度異型病巣の2つに分け、sm以下に浸潤しているものを浸潤癌とした。

また、各群において、腫瘍を1mm以下、1mm以上2mmまで、2mm以上5mm以下、5mm以上の4群に分け、それぞれの群において、大きさと異型度の関係を調べた。

2. 腫瘍の細胞動態

屠殺1時間前に ^3H -thymidineをラット体重当り1.0 $\mu\text{Ci/g}$ 腹腔内投与し、Autoradiographyの作成を行い、それぞれの腫瘍において、標識率を算定した。

3. 腫瘍細胞のDNA量分布

未固定の腫瘍を用いスタンプ標本を作成した。スタンプ標本はアルコール固定後、蛍光色素、すなわち4'-6-diamidino-2-phenylindole(以下DAPI)で染色した後、蛍光測光装置を用い1標本当り150～200個の細胞のDNA量を測定し、ヒストグラムを作成した。又、2C controlに正常粘膜上皮細胞を用いた。

〔結果ならびにまとめ〕

病巣はすべて肛門縁から11cm以内の大腸に生じ、それより近位の大腸には発生しなかった。病巣は肛門縁より2cmから6cmの間に多発し、肉眼的には、殆どが、無茎性の隆起性病変であった。最大のものは、長径が2cmで漿膜下まで浸潤がみられた。リンパ節を含め、他臓器への転移は認められなかった。

MNU投与開始から、時間がたつにつれ、また、腫瘍の大きさが増すにつれ、軽～中等度異型病巣が少なくなり、高度異型病巣、浸潤癌の割合が増してきた。

標識率に関しては、腫瘍から十分はなれた異型のない、背景粘膜の標識率は7.9%であった。腫瘍性病変では有意に標識率が増加しているばかりでなく、軽～中等度異型病巣 $11.7 \pm 1.28\%$ 、高度異型病巣 $15.5 \pm 2.32\%$ 、浸潤癌 $17.4 \pm 1.90\%$ と、異型が進むにつれ増加した。

DNA分布パターンでは、軽～中等度異型病巣のヒストグラムパターンは、2C付近に幅の狭いピークがみられ、正常粘膜のそれと類似のパターンを示した。また、粘膜内高度異型病巣と浸潤癌は、幅の広い分布を示し、diploid areaとtetraploid areaの間に1つかそれ以上のピークがみられた。すなわち、粘膜内高度異型病巣は浸潤癌と同様のDNA分布パターンを呈することから、粘膜内癌とみなされた。

以上、経時的観察、そして細胞レベルでの変化をみる限り、MNU誘発ラット大腸癌は、早期に存在する異型の低い病巣が、高度異型病巣となり、浸潤癌へと発展するという、果進的癌化、或いはprogressionによる癌化、の過程を示すモデルとなりうると考えられる。

論文審査の結果の要旨

大腸癌の組織発生には、adenoma-cancer sequence及びde novoの発生が知られている。これに加えてprogressionによる発生も重要なpathwayと考えられてきたが、これを証明するよいモデルがなかった。本申請者は成沢らの方法でドンリュウラットにN-methyl-N-nitrosourea (MNU) を経肛門的に投与し、大腸腫瘍の発生過程を従来の組織学的に、更に³H-thymidine 投与による腫瘍細胞への標識率の算出、核DNA量の測定によって、progression pathwayを検討し、以下の結果を得た。

1. 病巣は全て肛門縁から11 cmの大腸に生じ、2 cmから6 cmの間に多発、それより近位の大腸には発生しなかった。肉眼的には殆どが無茎性の隆起性病変で、最大のものは長径が2 cmで漿膜下まで浸潤がみられた。しかし、リンパ節を含め他臓器への転移は認められなかった。
2. MNU投与開始から時間が経過し、腫瘍の増大につれ、40週で軽～中等度異型病巣が55.6% (20週) から15.4%と少なくなり、高度異型病巣、浸潤癌は44.4% (20週) から84.6%とその割合が増した。
3. ³H-thymidineの標識率は異型のない背景粘膜の7.9%に比し、軽～中等度異型病巣 $11.7 \pm 1.28\%$ 、高度異型病巣 $15.5 \pm 2.32\%$ 、浸潤癌 $17.4 \pm 1.90\%$ と異型が進むにつれ増加した。
4. 腫瘍細胞のDNA量を測定し、ヒストグラムパターンを検討したところ、軽～中等度異型病巣では2C付近に幅の狭いピークがみられ、正常粘膜のそれと類似していた。粘膜内高度異型病巣と浸潤癌は、幅の広い分布を示しdiploid areaとtetraploid areaの間に1つかそれ以上のピークがみられた。すなわち、粘膜内高度異型病巣は浸潤癌と同様のDNA分布パターンを呈したことから粘膜内癌とみなされた。

これらの結果より、MNU誘発ラット大腸腫瘍はその大部分が、早期に異型の低い病巣から高度異型病巣となり、浸潤癌へと発展するという累進的癌化、或いはprogressionによる癌化の過程を呈した。そこでこの系はprogressionを研究するよきモデルとなり得ると考えられた。

これらの発癌過程の解析とMNU誘発ラット大腸腫瘍系の有用性が高く評価され、今後の研究の進展が期待された。

本論文内容に対し審査の過程において、以下のような質疑がなされた。

1. 用いたドンリュウラットは近交系か。
2. MNU投与後20週、40週目のデータのみを示しているが、それ以外に10, 15, 25, 30の各週も検索したか。
3. この癌組織を近交系のドンリュウラットに移植して、可移植性を検討したか。
4. progressionとはどのようなことをいうか。内視鏡でのぞいて、同一腫瘍より経時的に組織を採取し、検討したことがあったか。
5. この誘発大腸腫瘍とヒト大腸腫瘍を対比した場合の共通点と相違点について。
6. この場合のプロモーターは何を考えるか。
7. ヒトの大腸癌では性差があるが、このラット大腸腫瘍ではどうか。

これらの諸質問に対して申請者は学位授与に値する水準の応答を行った。

以上の審査の結果、本論文は学位授与に値する十分な内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 吉 田 孝 人

副査 教授 一 瀬 典 夫 副査 教授 松 下 寛

副査 助教授 金 子 栄 蔵 副査 助教授 馬 場 正 三