

# X線及び 20-Methylcholanthrene により惹起せしめた RF 系マウス白血病の無細胞濾液移植に関する研究

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

入野 昭三, 太田 善介  
岡田 耕一, 三好 勇夫  
瀬崎 達雄, 川村 範夫  
国定 岑生, 池尻 孝治  
佐藤 昌信, 宗田 範  
須崎 正則

[昭和38年2月14日受稿]

## 緒 言

白血病のウィルス起因説は1908年 Ellermann および Bang<sup>1)</sup> が家鶏白血病をその無細胞濾液接種によつて発症せしめた実験に端を発したが, マウスでは1951年 AKR マウスの自然発生淋巴球性白血病の無細胞濾液の移植に成功した Gross<sup>2)</sup> の劃期的な実験を期としてこの分野における研究は急速な進歩をとげ現在 AKR, C<sub>58</sub> 及び SL マウス等の自然白血病の発生にウィルスが関与していることは一般に認められている所である<sup>3)4)</sup>. 1956年 Graffi<sup>5)</sup> ら<sup>6)</sup>, 続いて Friend<sup>6)</sup> は夫々独立に可移植性マウス腫瘍組織より, Schwartz<sup>7)</sup> は Swiss マウス或は C<sub>3</sub>H マウス白血病の脳より, 更に Moloney<sup>8)</sup> はマウスの Sarcoma 37 腫瘍組織より夫々白血病ウィルスを分離し, マウス白血病のウィルス説は益々拡大されつつある。

一方, 或る種の白血病嫌発系純系マウスにおいて, X線照射或は発癌性化学物質によつて, かなり高率に白血病が惹起されることが, Furth & Furth<sup>9)</sup> および Mider & Morton<sup>10)</sup> らの研究以来既に知られている。これら外的因子によつて誘発される白血病の発生機構については現在尚不明のままであるが, 上述の知見と考え合せて, 潜在せる濾過性因子乃至不活性型ウィルスがX線或は発癌性化学物質によつて活性化され, 白血病を惹起せしめるのではないかという興味ある問題が提起される。著者らはかかる想定のもとに, RF系マウスにおいて, X線照射或は 20-methylcholanthrene 塗布によつて惹起せしめた白血病の無細胞濾液の同系新生児マウスへの移植

を試み, これに成功し更にこの白血病細胞から電子顕微鏡によりウィルス粒子を証明したので報告する。

## 実験方法

実験動物: 使用せる動物はすべて RF 系純系マウスで, 1958年 Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory (U. S. A.) より分譲され, 爾来当教室にて兄妹交配により繁殖飼育せるもので, 白血病の自然発生は殆んどみられない所謂白血病嫌発系マウスである。マウスはすべて 24°C 前後の恒温純系マウス室にて, オリエンタル固形飼料 CMF 及び水を自由に与えて飼育した。

X線照射条件: 生後30~40日のマウスに, 200 KVP, 15 mA, 3 mmAl 濾過板, 照射距離 84 cm, 33.5 r/分の条件で総量 350 r の1回全身照射を行つた。

20-methylcholanthrene 塗布方法 (図1): 発癌物質として20-methylcholanthrene の0.5% Benzol 溶液を用い, 生後30~40日より開始し約4ヶ月間に亘つて背部皮膚に週2回塗布した。尚皮膚癌の発生を出来る丈少くするために背部皮膚を4区劃に等分し, これに順番に塗布した。

白血病マウスの細胞移植: 白血病マウスの肝, 脾, 淋巴腺, 胸腺を細切して10%リンゲル浮游液とし同系成熟マウスの腹腔内に注射した。又1部の実験では, その細胞浮游液 0.2 cc を生後1~2日の同系新生児マウスの腹腔内に注射した。

白血病マウスの無細胞濾液接種 (図2, 3): a) X線照射及び 20-methylcholanthrene によつて惹起せ

しめた白血病マウスをエーテル麻酔にて殺し、可及的速かにその肝、脾、胸腺、リンパ腺を剔出、乳鉢にて細砕磨潰し、その10~20%リンゲル氏液浮游液を3,000~4,000回転15分及び10,000回転20分遠沈し、その上清を日本陶器製 Chamberland L<sub>3</sub> 陶製フィルターにより濾過し、その0.1~0.2ccを生後24時間以内の同系新生児マウス背部皮下に接種した。

b) 白血病マウスの脳を乳鉢ですりつぶし、リンゲル氏液 5cc を加えて浮游液とした後、前述の如く遠沈、Chamberland L<sub>3</sub> で濾過後、その0.05~0.07ccを生後約3週間の同系幼若マウスの脳内に接種した。

c) 白血病マウスの肝、脾、リンパ腺を乳鉢ですりつぶし、その10%リンゲル氏液浮游液を-30°C冷凍室に2時間放置し、室温にて速かに融解、同様の凍結融解操作を計3回行い前述と同様に遠沈濾過後、その濾液 0.2cc を同系新生児マウス背部皮下に接種した。

濾液作成操作はすべて4°Cで行い、接種に際しては手術用ゴム手袋を用いて人の臭気がマウスに移らぬ様努めた。対照としては白血病マウスと同じ月令の正常マウスを使用し上記と全く同じ操作を行った。使用した陶製フィルター Chamberland L<sub>3</sub> は *Escherichia Coli* を通過させなかつた。

電子顕微鏡の観察には 20-methylcholanthrene 誘発白血病マウスの腫大したリンパ腺を用いた。マウスを屠殺開腹後可及的速かに細切、Palade の方法に準じてオスミウム酸固定、アルコール脱水後メタクリレートに包埋し、超薄切片製作後ウラニールアセテートにより電子染色を行つて観察した。

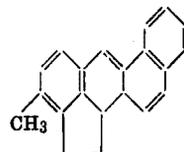
### 実験成績

1. 白血病発生率：著者ら(1)(2)は既にX線照射により惹起される RF 系マウス 淋巴球性白血病には胸腺の著明な腫脹を伴う所謂胸腺腫型と、胸腺は殆んど腫脹しない非胸腺腫型があり、両者は白血病性変化の初発部位、末梢血液像、肝臓内白血病細胞の浸潤様式等に表1の如き明らかな相違のあることを報告した。350γ 1回全身照射による照射後1年間の白血病発生率は表2の如く53例中41例(77.3%)で、その中胸腺腫型20例、非胸腺腫型20例であり、又1例の骨髓性白血病の発生を認めた。

20-methylcholanthrene 塗布による白血病発生率(表3)は25例中22例(88%)で、その中淋巴球性白血病12例(48%)、骨髓性白血病10例(40%)で

塗布材料：20-methylcholanthrene

C<sub>21</sub>H<sub>16</sub> の 0.5% Benzene 溶液



塗布方法：毎週2回4ヶ月間に亘つてマウス背部皮膚に塗布

図1 20-methylcholanthrene の化学構造式とその塗布方法

誘発白血病マウスの

肝、脾、リンパ腺、胸腺又は脳

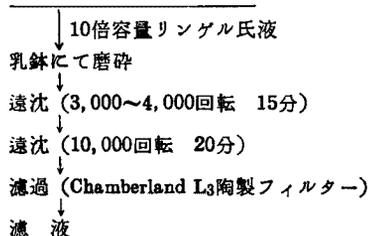


図2 無細胞濾液作成方法

- 白血病マウス肝、脾、リンパ腺無細胞濾液の新生児マウス背部皮下接種
- 白血病マウス脳の無細胞濾液の幼若マウス脳内接種
- 白血病マウス肝、脾、リンパ腺の凍結融解後の無細胞濾液の新生児マウス背部皮下接種

図3 無細胞濾液接種方法

あり、X線照射の場合に比し、骨髓性白血病が多いことが注目される。淋巴球性白血病では胸腺腫型5例(20%)、非胸腺腫型7例(28%)の発生を認めた(図版II, 2, 3)。雌雄別の発生率には差を認めなかつた。淋巴球性白血病は塗布開始後約2ヶ月、骨髓性白血病では約3.5~4ヶ月で発症し、生存期間は前者では2~3週間、後者では2~3ヶ月であつた。

### 2. 白血病マウス細胞移植

A. X線誘発白血病の場合：X線照射によつて惹起せしめた淋巴球性白血病マウスの肝、脾、リンパ腺、胸腺の細胞浮游液の同系成熟マウスへの移植(表4)では83例中59例、移植率71.0%で移植から死亡迄の平均日数は20日から78日であつた。胸腺腫型及び非胸腺腫型淋巴球性白血病の細胞浮游液による継代移植では(図4)非胸腺腫型は大部分は非胸腺腫型

表 1 胸腺腫型淋巴球性白血病と非胸腺腫型淋巴球性白血病の比較

病 型	非 胸 腺 腫 型	胸 腺 腫 型
発 生 率	37.7% (53例中20例)	37.7% (53例中20例)
胸 腺	殊 ん ど 腫 大 せ ず	腫 大 著 明
貧 血	高 度	軽 度 ~ 中 等 度
白血球数 (per cu mm)	100,000 或はそれ以上	30,000~40,000或はそれ以下
白血病初発臓器	淋 巴 腺 或は脾	胸 腺
肝における白血病細胞の浸潤様式	主にグリソン氏鞘内血管周囲に結節状に浸潤	主に洞内に散在性彌漫性に浸潤

表 2 350γ1 回全身照射による RF 系マウス白血病発生率

例 数	淋巴球性白血病		骨髄性白血病	計
	胸腺腫型	非胸腺腫型		
♂ 28	10	12	0	22(41.5%)
♀ 25	10	8	1	19(35.3%)
計 53	20 (37.7%)	20 (37.7%)	1 (1.8%)	41 (77.3%)

表 3 20-メチルコラントレン塗布による RF 系マウス白血病発生率

例 数	骨髄性白血病	淋巴球性白血病		合 計
		胸腺腫型	非胸腺腫型	
♂ 14	6	1	4	11
♀ 11	4	4	3	11
計 25	10 (40%)	5 (20%)	7 (28%)	22 (88%)

表 4 X線照射により惹起された淋巴球性白血病 RF 系マウスの白血病細胞浮游液の同系成熟スへの移植成績

白血病種類	例 数	白 血 病 発 生 率	移植から死亡迄の平均日数
胸腺腫型 淋巴球性白血病	32	16 (19.2%) { 胸腺腫型 8 (9.6%) 非胸腺腫型 8 (9.6%)	34 78
非胸腺腫型 淋巴球性白血病	51	43 (51.8%) { 胸腺腫型 6 (7.2%) 非胸腺腫型 37 (44.5%)	20 33
総 計	83	59 (71.0%)	—

となるが、ごく少数例においてではあるが、その継代移植中胸腺腫型白血病となるものもあつた (RF no. 48 ♀)。胸腺腫型白血病の移植では継代するにつれて次第に非胸腺腫型白血病に移行する傾向が強かつた (RF no. 123 ♀)。

B. 20-methylcholanthrene 誘発白血病の場合 (表 5): 生後約 1 ヶ月の同系マウスへの腹腔内移植では、移植率は淋巴球性白血病 16.6%、骨髄性白血病 15.3% で、発症迄の日数は前者では 4.9 ヶ月、後者では 9.9 ヶ月であり、骨髄性白血病は淋巴性白血病に比し移植率は略同様であるが、発症迄の日数は可成り長く、両型間に明瞭な差異を認めた。又、生後 1~2 日の同系マウス背部皮下接種では移植率は淋巴球性白血病、骨髄性白血病共に 33.3% で、発症迄

表 5 20-メチルコラントレンによる RF 系白血病マウス細胞移植成績

白血病種類	方 法	例数	発症	移植率	発症迄の平均日数
淋巴球性白血病	経 腹 腔 (生後約 1 ヶ月)	18	3	16.6%	149日
	経 皮 下 (生後1~2日)	12	4	33.3%	47日
骨髄性白血病	経 腹 腔 (生後約 1 ヶ月)	26	4	15.3%	297日
	経 皮 下 (生後1~2日)	3	1	33.3%	229日
総計		59	12	20.3%	180日

の日数は前者では 1.5 ヶ月、後者では 7.6 ヶ月であり、同系成熟マウス腹腔内接種に比し高率且短期間で発症することを認めた。

表6 X線照射により惹起せしめた RF 系リン球性白血病マウス (RF no. 107♀) の末梢血液像

照射後日数	白血球数	赤血球数	全身状態	白血病期
27	13,375	—		
118	4,750	1145×10 <sup>4</sup>		前白血病期
134	21,750	1060×10 <sup>4</sup>		
154	12,125	—	鼠径部リン腺觸知	白血病初期乃至早期
169	16,000	—		
244	148,375	345×10 <sup>4</sup>	頸部リン腺腫大羸瘦, 全身衰弱	白血病進展期

表7 X線誘発白血病マウス (RF no. 107♀) の末梢白血球分類 (照射後244日)

赤血球数	435×10 <sup>4</sup>
白血球数	148,375
淋芽球	57(%)
幼若リン球	18
大リン球	13
小リン球	8
好中球	4
好酸球	0
単球	0

表8 X線誘発白血病マウス (RF no. 107♀) の無細胞濾液接種により惹起された白血病マウス (RF no. 11♀) の末梢血液像

白血球数	20,625
淋芽球	11(%)
幼若リン球	26
大リン球	24
小リン球	28
好中球	7
好酸球	0
単球	0

### 3. 白血病マウスの無細胞濾液接種

#### A. X線誘発白血病の場合：

a. 無細胞濾液作成に使用する, X線照射によつて惹起された白血病マウス (RF no. 107♀) は表6の如き末梢血液像の変化を示し, 照射後245日即ち白血病進展期にエーテル麻酔にて屠殺した。屠殺前日に行つた末梢血液像では貧血著明で, 白血球数は148,375に達し, その中淋芽球が57%, 幼若リン球18%であつた (表7)。剖検所見 (図版I, 1) で目立つ点としては各臓器は全般的に著しく貧血様で, 脾, リン腺, 肝が著明に腫脹していることである。脾は赤桃色の中に白血病細胞浸潤巣と思われる灰白色小斑点が散在し, 極めて著しい腫脹を示し, 全身リン腺の腫大も著しく, 特に頸部及び腸間膜リン腺の腫脹が著明で, 肝は淡黄褐色でやはり強度の腫大を示した。胸腺は乳淡黄色でごく軽度の腫脹を示すに過ぎなかつた。肺は全肺野に亘つて半粟粒大の白血病細胞浸潤によると思われる乳白色の斑点がみとめられた。教室考案の臨床組織培養法<sup>13)</sup>により, 脾, リン腺の培養を試みた所, 典型的な急性白血病の増生様式を示した (図版II, 1)。組織学的所見としては, 脾, リン腺共に濾胞は殆んど完全に消失し, 白血病細胞で置換され胸腺も白血病細胞の浸潤

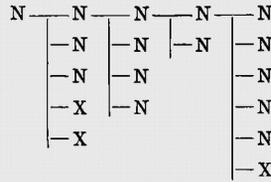
著明で濾胞は殆んど消失していた。骨髄では顆粒球系の細胞は殆んどなく, 淋芽球と思われる白血病細胞によつて強度の浸潤を示した。これら諸臓器の浸潤細胞の細胞学的検索には, すべてスタンプ標本を作成して検討した。肝では主に Glisson 氏鞘の血管周囲に結節状に浸潤し, Sinusoid への浸潤はごく軽度で, 我々の所謂非胸腺腫型リン球性白血病の浸潤様式を示した (図版I, 3)。肺では血管及び気管支周囲に結節状に浸潤し, 実質内へは少く, 腎では血管周囲及び被膜下に浸潤著しく, この他卵巣, 脳その他の全身諸臓器に白血病細胞の浸潤が認められた。以上の所見から RF no. 107♀ マウスは非胸腺腫型リン球性白血病である事は明らかである。

b. 無細胞濾液接種により惹起された白血病マウス (RF no. 11♀) の血液像, 剖検所見及び組織学的所見：X線照射によつて惹起された白血病マウス (RF no. 107♀) の肝, 脾, リン腺, 胸腺の無細胞濾液を同系新生児マウス7例に接種しその中1例 (RF no. 11♀) に接種後357日目に白血病の発生を認めた。即ち, このマウスは接種後350日頃よりい瘦著しく, 立毛を来し, 末梢血液像を検査した所, 表8の如く白血球数20,625で淋芽球が11%を占め,

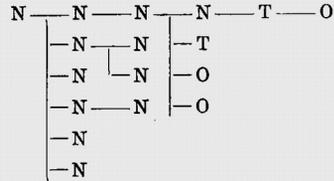
剖検 (図版 I, 2) にて胸腺は乳淡黄色で著明に腫大し, 胸腔の大部分を占め胸廓内には乳様の胸水貯溜が認められた。脾は貧血様, 淡桃色で著明に腫脹し, 全身淋巴腺は中等度の腫脹がみられた。淋巴腺, 脾, 胸腺の臨床組織培養では何れも辺縁鋭利に区劃された定型的な急性白血病増生様式を示した (図版 II, 1)。組織学的所見では, 胸腺, 淋巴腺, 脾共に濾胞は消失し, 殆んどすべて白血病細胞で置換され, 骨髓も殆んど淋巴球系幼若細胞の浸潤がみられた。肝では Sinusoid に瀰漫性に著明な浸潤をみとめ, 胸腺腫型淋巴球性白血病の浸潤様式をしめた (図版 I, 4)。その他, 肺, 腎, 卵巣, 腸壁, 脳等全身諸臓器に白血病細胞の浸潤が認められた。以上の所見から非胸腺型淋巴球性白血病マウス (RF no. 107♀) の無細胞濾液接種により, RF 系マウス (RF no. 11♀) に胸腺腫型淋巴球性白血病が惹起された事が明らかである。

c. 無細胞濾液接種による移植成功率 (図5): 上述の RF no. 107♀マウスの他, X線照射によつて惹起せしめた胸腺腫型淋巴球性白血病マウス (RF no. 188♂) をX線照射後230日目にエーテル麻酔にて屠殺し, その無細胞濾液を同系新生児マウス6匹に接種した所, 1例は2週間以内に死亡, 残りの5例中1匹 (RF no. 3♀) に接種後374日に非胸腺腫型淋巴球性白血病が発生した。このX線照射を受けたマウス (RF no. 188♂) 及びその無細胞濾液を接種されたマウス (RF no. 3♀) は例れも末梢血液像, 剖検所見, 造血臓器の臨床組織培養法, 組織学的検索等により検討した結果, 淋巴球性白血病であることが確認されたものである。尚同月令の正常マウスの無細胞濾液接種では, 接種された新生児マウス12例中, 1年以上の観察で1例も白血病の発生をみていない。

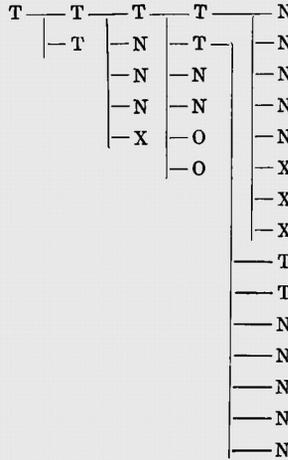
RF No. 135♂ (非胸腺腫型白血病)



RF No. 48♀ (非胸腺腫型白血病)



RF No. 123♀ (胸腺腫型白血病)



- N 非胸腺腫型リンパ球性白血病
- O 生存中
- T 胸腺腫型リンパ球性白血病
- X 未発症のまま死亡

図4 胸腺腫型及び非胸腺腫型淋巴球性白血病の継代移植の態度

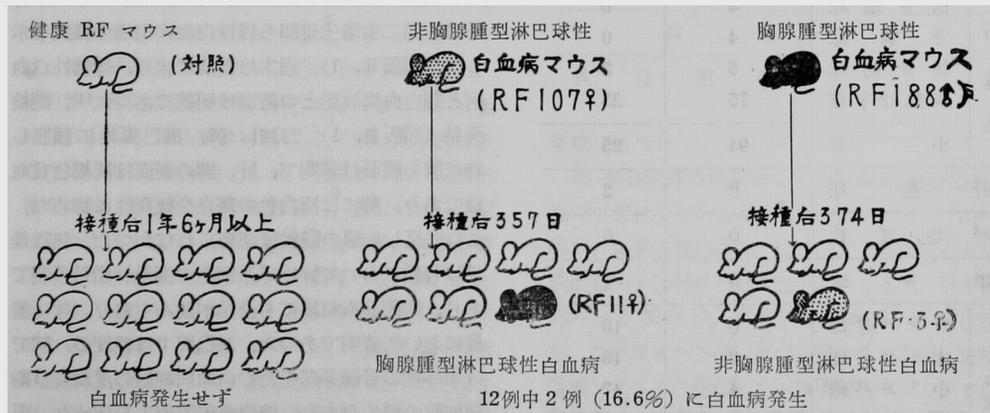


図5 X線誘発白血病マウスの無細胞濾液接種による移植成功率

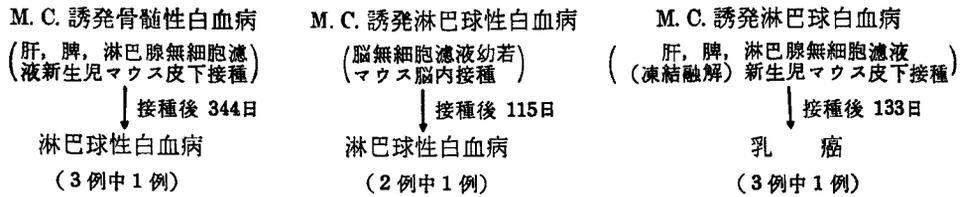


図6 20-methylcholanthrene (M.C.) 塗布により惹起されたマウス白血病  
無細胞濾液接種とその移植成功率

即ち無細胞濾液接種による移植成功率は(図5)RF 107♀ の場合は7例中1例, RF 188♂ の場合は5例中1例であり, 平均12例中2例61.7%である。唾腺腫瘍は12例中1例も発生しなかつた。又, RF no. 11♀ マウスについて無細胞濾液の接種による継代移植を行った所, 10例中1例に, 接種後11ヶ月で白血病が発生した。

B. 20-methylcholanthrene 誘発白血病の場合:

a. 白血病マウス肝, 脾, 淋巴腺無細胞濾液の背部皮下接種(図6)

i) 原発マウス(図版Ⅲ, 1~4): 20-methylcholanthrene 塗布により発症した骨髄性白血病(RF no. 18)では塗布開始後161日において末梢白血球数約11万, 好中球系細胞百分率94%に達し, 骨髄芽球6%の出現を認め(表9), 骨髄像では好中球系

表9 20-メチルコラントレンによる骨髄性白血病(RF No. 18)及び同白血病マウスの無細胞移植により惹起せしめた淋巴球性白血病の末梢血液像

		メチルコラントレン惹起白血病	無細胞移植による白血病
白血球数		114,000	16,250
好中球系	骨髄芽球	6(%)	0(%)
	前骨髄球	4	0
	骨髄球	4	0
	後骨髄球	5	2
	成熟好中球	75	23
小計		94	25
好酸球		0	2
好塩基数		0	0
単球		0	1
リンパ球系	リンパ芽球	0	10
	大リンパ球	2	15
	小リンパ球	4	47
	小計	6	72

表10 20-メチルコラントレンによる骨髄性白血病マウス(RF No. 18)の骨髄像

		10.4(%)
好中球系	骨髄芽球	24.4
	前骨髄球	12.4
	骨髄球	16.6
	後骨髄球	18.6
	成熟好中球	13.6
	核分割像	0.4
小計		86.0
好酸球		0.4
好塩基球		0
単球		0
リンパ球系	リンパ芽球	0
	大リンパ球	0
	小リンパ球	0.8
	核分割像	0
小計		0.8
細網細胞		1.6

細胞百分率86.0%を占め, 骨髄芽球は24.4%であつた(表10)。教室考案の臨床組織培養<sup>13)</sup>により骨髄は所謂二重増生帯即ち慢性白血病型増生様式を示した(図版Ⅱ, 1)。尚本培養法により, 骨髄性白血病と類白血病反応との鑑別は明確であつた<sup>14)</sup>。剖検所見(図版Ⅲ, 1)では肝, 脾, 淋巴腺共に腫脹し, 特に脾の腫脹は著明で, 肝, 脾の表面は灰褐色貧血様であり, 脾には灰白色の斑点を散在性に認めた。これに反し胸腺の腫脹は認められなかつた。組織像では骨髄において好中球系細胞の瀰漫性増殖著明であり, 周囲筋肉組織にも浸潤が及んでおり, 殊に腰椎において著明であつた。淋巴腺では軽度の, 脾では中等度の骨髄芽球を含む白血病細胞の浸潤及び細網細胞の増生があり, 濾胞の萎縮消失を認めた。更に肝では Glisson 氏鞘及び特に洞様毛細血管内, 中

心静脈周囲にも高度の好中球系細胞の浸潤があり、肝実質細胞の萎縮変性を認めた(図版Ⅲ, 4)。腎においても血管周囲に好中球系細胞の浸潤が著明であつた。以上の所見より、このマウス白血病は骨髄性白血病であることは明らかである。

ii) 無細胞濾液接種マウス(図版Ⅳ, 1~4): 20-methylcholanthrene 塗布により惹起せしめた白血病マウス(RF no. 18)の前述の a. の方法による無細胞濾液を同系新生児マウス4例の背部皮下に接種した所、1例は接種後約1ヶ月にて原因不明の疾患により死亡、残りの3例中1例において接種後344日で淋巴球性白血病の発生を認めた(図版Ⅳ)。この無細胞濾液接種により発生した白血病マウスでは末梢白血球数16,250、淋巴球系細胞百分率72%、淋巴芽球10%の出現をみると、脾臓像では淋巴球系細胞90.8%、淋巴芽球30.4%の出現を認めた(表9, 表11)。又、臨床組織培養法<sup>13)</sup>では脾、淋巴腺において周囲が鋭利に区割された急性白血病型増生様式を示した(図版Ⅱ, 1)。剖検所見(図版Ⅳ, 1)では、肝は軽度、脾、淋巴腺は著明に腫脹するが、脾の腫脹は原発マウスに比し更に高度であり、黄赤色を呈し、表面は顆粒状の凹凸を示した。胸腺の腫脹は軽度であつた。組織所見では脾淋巴濾胞腫大し骨髄にも淋巴芽球の浸潤を著明に認め(図版Ⅳ, 3)、肝では特に Sinusoid 及び Glisson 氏鞘に淋巴球系細胞の浸潤が高度に認められ(図Ⅳ, 4)、肺及び腎においても血管周囲に同様の結節性浸潤が認められた。即ち、この無細胞濾液接種によつて惹起されたマウス白血病は淋巴球性白血病であることは明確である。

b. 白血病マウス脳は無細胞濾液脳内接種(図6)

i) 原発マウス: 20-methylcholanthrene 塗布によつて惹起せしめた淋巴球性白血病(RF no. 67)では、塗布開始後63日目に白血球数954,000に達し、淋巴球系細胞百分率99%、淋巴芽球30%の出現を認めた(表12)。臨床組織培養により脾、淋巴腺は急性白血病型増生様式を示した(図版Ⅱ, 1)。剖検所見では脾、淋巴腺は著明に腫脹し、脾は暗赤色を呈し充血性であるが、胸腺の腫脹は認めず、非胸腺腫型淋巴球性白血病であつた。組織像でも、脾、淋巴腺の淋巴濾胞著明に腫大し、脾の皮膜下にも淋巴芽球の浸潤を認め、骨髄においては、高度の淋巴芽球の浸潤増殖があり、殊に腰椎骨端部において浸潤著明であつた。肝では洞様毛細血管及び Glisson 氏鞘内に、腎においても血管周囲に淋巴球系細胞の浸潤

表11 20-メチルコラントレン誘発骨髄性白血病マウス(RF No. 18)の無細胞移植により惹起せしめた淋巴球性白血病マウスの脾臓像

赤芽球系	原赤芽球		0 (%)
	大	塩基性	4.4
		多染性	0
		正染性	0
	正	塩基性	0
		多染性	0
正染性		0	
核分割像		0	
小計		4.4	
好中球系	骨髄芽球		0
	前骨髄球		0
	骨髄球		0
	後骨髄球		0
	成熟好中球		2.0
小計		2.0	
好酸球		0	
好塩基球		0	
単球		0	
リンパ球系	リンバ芽球		30.4
	大リンバ球		12.8
	小リンバ球		47.6
	小計		90.8
形質細胞		1.6	
細網細胞		1.2	
巨核球		0	
核分割像		0	

著明であつた。

ii) 無細胞濾液接種マウス: 20-methylcholanthrene により惹起せしめた淋巴球性白血病マウス(RF no. 67)の脳から前述の b. の方法により作成した無細胞濾液を生後19日の同系幼若マウス6例、内4例は脳内に0.05cc宛、2例は腹腔内に0.5cc宛接種した。接種後4~5日に脳内接種マウス2匹、腹腔内接種マウス1匹死亡したが接種後76日において脳内接種マウス2匹中1匹に鼠径部淋巴腺が豌豆大に腫大し、115日後白血球数30,120、淋巴球系細胞78%、

淋巴芽球5%の出現を認め、淋巴球性白血病であることが確かめられた(表12)。腹腔内接種マウスでは、現在淋巴腺の腫脹を認めず、末梢血液像にも著変を認めていない。又、20-methylcholanthreneにより惹起せしめた他の淋巴球性白血病マウス(RF no. 65)の肝、脾、淋巴腺の無細胞濾液0.07ccを生後7日目の同系マウス5例の脳内に接種したが、接種後5ヶ月を経過するも白血病の発生を認めていない。

表12 20-メチルコラントレンによる淋巴球性白血病(RF No. 67)及び同白血病マウスの無細胞濾液の脳内接種により惹起せしめた淋巴球性白血病マウスの末梢血液像

		メチルコラントレン惹起白血病	無細胞移植による白血病
白血球数		954,000	30,120
好中球系	骨髓芽球	0(%)	0(%)
	前骨髓球	0	0
	骨髓球	0	0
	後骨髓球	0	0
	成熟好中球	1	22
小計		1	22
好酸球		0	0
好塩基球		0	0
単球		0	0
リンパ球系	リンパ芽球	30	5
	大リンパ球	23	59
	小リンパ球	46	14
	小計	99	78

c. 白血病マウス肝、脾、淋巴腺の凍結融解後の無細胞濾液背部皮下接種(図6)

20-methylcholanthrene塗布により惹起せしめた白血病マウス(RF no. 63)は末梢血液像(表13)、組織培養所見、組織像等が前述のRF no. 67に類似し、定型的な非胸腺腫型淋巴球性白血病であつたが、この白血病マウスの前述のc.の方法による無細胞濾液0.2ccを同系新生児マウスの背部皮下に移植した。この中3例は接種後43日に原因不明の疾患により死亡したが、接種後133日目に3匹中1匹に右側胸部に拇指頭大の固い腫瘤を触知し次第に大きくなり、乳癌の発生を認めた。末梢血液像では白

表13 20-メチルコラントレンにより惹起せしめた淋巴球性白血病(RF No. 63)及び同白血病マウスの無細胞移植により惹起された乳癌マウスの末梢血液像

		メチルコラントレン惹起白血病	無細胞移植による乳癌
白血球数		448,000	27,200
好中球系	骨髓芽球	0(%)	0(%)
	前骨髓球	0	0
	骨髓球	0	3
	後骨髓球	0	3
	成熟好中球	2	62
小計		2	68
好酸球		0	0
好塩基球		0	0
単球		0	0
リンパ球系	リンパ芽球	38	0
	大リンパ球	31	11
	小リンパ球	29	21
	小計	93	32

血球数27,200、好中球系細胞68%を占め、骨髓球、後骨髓球各々3%の出現を認めた(表13)。

C. 20-methylcholanthrene誘発白血病の無細胞濾液による継代移植(図7)。

新生児期に20-methylcholanthrene 1mg注射を受け、注射後3ヶ月で、淋巴球性白血病となつたRF系マウスの肝、脾、淋巴腺より作成した無細胞濾液を、生後24時間以内の同系マウス2匹へ接種した所、生後4ヶ月でその中1匹に淋巴球性白血病が

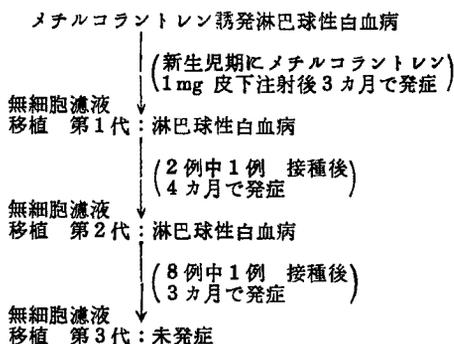


図7 20-methylcholanthrene誘発白血病マウス無細胞濾液接種による継代移植

発生した。更にこの白血病マウスの肝、脾、リンパ腺より fluorocarbon 抽出液を作り、この無細胞濾液を 8 匹の同系新生児マウスへ接種した所、3 ヶ月後にその中 1 匹に淋巴球性白血病が発生した。現在第 3 代移植経過観察中である。

D. 自然発生白血病 RF 系マウスの無細胞濾液接種：

RF 系マウスは白血病の自然発生は極めて稀で、過去 4 年間、300 例以上の長期観察例中僅か 2 例において淋巴球性白血病の発生を認めたとすぎない。その中 1 例(♀)、即ち、生後 1 年 2 ヶ月で自然発生淋巴球性白血病となつたマウスのリンパ腺、脾、肝より無細胞濾液を作り、生後 24 時間以内の 12 匹の同系新生児マウスへ接種した所、生後 7 ヶ月でその中 1 匹(♂)に淋巴球性白血病の発生を認めた。更にこの無細胞濾液の次代移植を行つているが未だ発症をみていない。

#### 4. ウィールスの電子顕微鏡的観察 (図版 V)：

Methylcholanthrene 誘発白血病マウスのリンパ腺ではウィールス粒子は白血病細胞膜、細胞間隙特に細網細胞の附近に認められることが多く、又細網細胞の貪喰空胞内にもかなり多数見られた。

ウィールス粒子は超薄切片上楕円形で、平均直径 100  $\mu$ m、内外 2 重の膜構造が認められ、粒子の中央部にはやや電子密度の高い楕円形の核様体を認める。核様体の平均直径は 60  $\mu$ m である。

ウィールス粒子は白血病細胞表面層部で形成せられ、細胞膜をかぶつて胞体外に放出されるとともに、いわゆる成熟ウィールスの形態をとり核様体が明瞭となる。内外二重の膜構造はウィールス粒子形成途上においても明瞭にみとめられ、内側の膜は電子密度が極めて大である。2 重膜の間には更に一層の膜構造らしきものがみられる。

これらの所見は Moloney 白血病、Friend 白血病、SL 系マウス白血病等のウィールス粒子及び著者らが C<sub>58</sub> 系マウス白血病で観察したウィールス粒子と形態、大きさ、発生様式、分布等において殆んど一致している。

### 考 察

X 線照射および発癌性化学物質等によつてマウスに白血病が惹起されること<sup>9)10)</sup>、又、AKR、C<sub>58</sub> 或は SL マウスの自然発生白血病の無細胞濾液接種によつても白血病が惹起されるということはよく知られている<sup>2-4)</sup>、これら多くの異つた白血病誘発因子

はお互いに極めて類似した疾病像を惹起せしめるため、これらがその白血病誘発機序において何か共通のものをもつのではないかという想定は容易に考えられることである。そしてこれら外的発癌因子が潜在性腫瘍ウィールスに“Trigger”として作用し、宿主に既存している潜在性ウィールスを活性化して病原性を帯びさせ、腫瘍を惹起せしめるという考えは非常に魅力あり且尤もらしく思われる。我々の今回の実験は、かかる想定に対する 1 つの実験的証拠をうけるために行われたものである。

Gross (1958, 1959)<sup>15)16)</sup> は X 線全身分割照射 (150r×4, 週 1 回) によつて C<sub>3</sub>H 或は C<sub>57</sub> Brown マウスに惹起せしめた淋巴球性白血病の胸腺、リンパ腺、肝、脾の無細胞濾液を同系新生児マウスに接種し、124 例中 15 例 (12%) において平均 9 ヶ月で白血病を起させ、5.6% に唾液腺腫瘍の発生を認めている。健康な C<sub>3</sub>H マウスの正常組織より作成した無細胞濾液を接種した 186 例に及ぶ対照実験では僅か 1 例 (0.5%) に白血病の発生をみたのみであり、唾液腺腫瘍は 7.5% に認められている。Gross と同じ実験が Lieberman & Kaplan (1959)<sup>17)</sup> により C<sub>57</sub> black/ka マウスについて行われた。彼等は X 線分割全身照射 (168r×4; 週 1 回) によつて惹起せしめた淋巴球性白血病の無細胞濾液を同系新生児マウスに接種し、59 例中 10 例 (17%) に 8.4 乃至 23 ヶ月の潜伏期を経て白血病の発生することを観察し、対照実験では、1 例の白血病もみとめていない。著者らは RF 系マウスにおいて、X 線 1 回全身照射 (350r) によつて惹起せしめた淋巴球性白血病の無細胞濾液接種により 12 例中 2 例 (17.5%) において、夫々 357 日および 374 日に白血病の発生を認めた。X 線照射をうけていない健康な RF マウスの正常組織より作成した無細胞濾液の同系新生児マウスへの接種においては白血病は 1 例も認められていない。ごく最近 Parsons ら (1962)<sup>18)</sup> は X 線照射により RF 系マウスに惹起せしめた骨髓性白血病の無細胞濾液の移植について報告している。これらの知見を考えると、C<sub>3</sub>H、C<sub>57</sub> brown、C<sub>57</sub> black 或は RF マウスの如き白血病発癌系純系マウスは、本来白血病誘発力をもつ因子を、マスクされた型或は provirus の型でもつており、正常状態では病原性を示さず、従つて白血病化することなく正常の寿命を全うするものと思われる。この不活性因子に対して放射線は“Trigger”として作用し、X 線照射によつて活性化された因子は病原性を発揮し、白血病を惹起せ

しめるものであろう。そして一度活性化された因子は濾過板通過によつて細胞と分離され、感受性をもつ同系新生児マウスへの接種によつて移植されるものであろう。かかる現象はX線による bacteriophage の誘導現象に極めて類似している。即ち bacteriophage は正常状態では latent な無害な状態で存在し、prophage<sup>19-21)</sup> と名付けられている。この prophage は紫外線或は X 線<sup>22)</sup> によつて活性化され病原性を帯びるに到ることが知られている。

一方、化学物質による発癌にもウイルスが関与しているのではないかという考えはかなり古くからあつたが、近年 Gross<sup>2)</sup> の研究に端を発したマウス白血病ウイルス起因説の著しい発展によつて、この問題は新に多くの研究者の注目を引くに到つた。即ち、1939年 McIntosh 及び Selbie<sup>23)</sup> はタールにより惹起せしめた家鶏肉腫から活性濾過性因子を分離したと報告、Murphy<sup>24)</sup>、Peacock<sup>25)</sup> はこれに否定的な成績を発表している。その後 Obering 及び Guérin (1950)<sup>26)</sup> は 20-methylcholanthrene により惹起せしめた家鶏肉腫が、最初は細胞接種のみ移植可能であつたが第5代より第7代移植の間においてのみ無細胞接種による移植も可能であつたと報告している。更に近年に到り Thiery (1959)<sup>27)</sup> は 3-4-Benzopyrene によつて惹起せしめた C<sub>3</sub>H/A マウスの子宮頸癌組織中に電顕的にウイルス様小体を見出し、又、Granboulan (1960)<sup>28)</sup> は methylcholanthrene によるマウス肉腫の細胞移植による腫瘍組織中にウイルス様小体を見出しているが、彼等は何れもその無細胞濾液による移植は試みていない。発癌性化学物質によつて惹起せしめた白血病の無細胞濾液による移植の試みは Salaman (1959)<sup>29)</sup>、Graffi (1960)<sup>30)</sup>、Miller (1961)<sup>31)</sup> によつてなされたが、彼等はすべてそれに成功していない。即ち Salaman<sup>29)</sup> は発癌性炭化水素により 101系マウスに淋巴球性白血病を惹起せしめ、その細胞移植は可能であつたが、無細胞移植には成功せず、Graffi<sup>30)</sup> は 9, 10-Dimethyl-1, 2-benzanthracene (DMBA) により Agnes Bluhm マウスに惹起せしめた白血病について、Miller<sup>31)</sup> は Graffi と同じく DMBA を用いて DBA/2 マウスに惹起せしめた淋巴球性白血病について夫々無細胞濾液接種を試み失敗している。著者らの知つている範囲では、この問題に一応陽性の成績を報告しているものに、Hardin (1961)<sup>32)</sup> と Svec (1961)<sup>33)</sup> がある。Hardin<sup>32)</sup> は 20-methylcholanthrene 塗布による DBA 白血病マウスの無細胞

濾液を McCoy 細胞の試験管内培養液の無細胞濾液を CFW 系マウスに接種し、10例中1例に白血病の発生をみているが、in vitro の培養細胞を通過させている点に問題が残されている。Svec (1961)<sup>33)</sup> は X 線と methylcholanthrene の併用によるラット白血病の無細胞濾液接種に成功したと報告しているが、これは X 線と併用している点に問題がある。即ち Svec<sup>33)</sup> の実験においては、その無細胞移植が X 線によつて惹起されたものか、methylcholanthrene によるものかは断ぜられない。20-methylcholanthrene によつて惹起せしめた白血病マウスの無細胞濾液を直接マウスに接種することによつて白血病を惹起させることに成功し且その白血病細胞から電子顕微鏡によりウイルス様小体を証明したのは著者らが始めてである。

Methylcholanthrene 誘発白血病マウスの肝、脾、淋巴腺等の無細胞濾液皮下接種では、白血病発生迄に 11.4ヶ月を要しているのに対し、白血病マウス脳の無細胞濾液の脳内接種によつて僅か 3.8ヶ月で白血病が発生したことは、この種の実験に脳から脳への移植が適切であることを示している。肝、脾、淋巴腺の無細胞濾液脳内接種では接種後約 5ヶ月では白血病の発生は認められていない。

第2の問題は、methylcholanthrene により惹起せしめた骨髓性白血病マウスの無細胞濾液接種により淋巴球性白血病が発生したこと、又、methylcholanthrene により惹起せしめた淋巴球性白血病マウスの肝、脾、淋巴腺の凍結融解後の無細胞濾液を生後19日の同系マウスの背部皮下に接種して乳癌が発生したことである。平木<sup>34)</sup> は C<sub>58</sub> および AKR 系マウス自然発生淋巴球性白血病の無細胞濾液による継代移植中、そのいずれにも骨髓性白血病への変異を認め、更にその変異株の無細胞濾液接種により、骨髓性白血病の継代されるものと、淋巴球性白血病への復帰の認められるものとの両者があるという病型変異の現象を観察し、種々の免疫学的方法を駆使して、これらウイルスは、マウスの種類と白血病の種類とを問わず、それらの抗原性に共通部分があるが、それらは少しづつ抗原性の異なるところがあり、一応別種のウイルスと思われると結論している。白血病マウスの無細胞濾液接種による乳癌の発生は、丁度 AKR マウスの無細胞濾液接種における唾液腺腫瘍の発生を連想せしめるものである<sup>3)</sup>。これら一連の事実から、RF 系マウスには一種以上の互いに類似してはいるが夫々少しづつ特性を異にするウ

ウィールスが潜在している事が推測される。白血病ウィールスにも、他の一般ウィールスと同様、種々の点で特徴を異にする株があつても何等不思議ではない。

第3の問題はもし RF 系マウスに腫瘍ウィールスが潜在しているとすれば、如何なる型で存在し、化学物質によつて如何なる機序によつて病原性をおびるに至るのであろうかということである。先づ第1の可能性は RF 系マウスにおいては、ウィールスがマスクされた型或は Provirus の型で存在し、化学物質によつて活性化され病原性を発揮し、白血病を惹起せしめるということである(図8)。RF 系マウスに自然発生した白血病マウスの無細胞濾液移植の成功はこの可能性を強く示唆するものである。

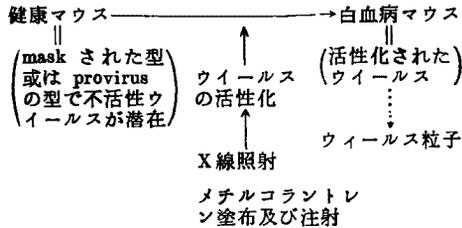


図8 X線及び 20-methylcholanthrene によるマウス白血病の発生機序

第2に、ウィールスに対する宿主細胞の感受性が高められるため、第3は遺伝的な或は maternal resistance factor のような抵抗因子が存在していて、これが化学物質により破壊されるためということも考えられる。それはそれとして、化学物質による白血病の発生、ひいては発癌におけるウィールスの関与乃至その意義を明確ならしめるためには今後尚行わねばならない実験が多いが、兎に角ウィールス性腫瘍として最初に知られるに至つた家鶏白血病の研究の端緒をなしたのは、有名な Ellermann 及び Bang<sup>1)</sup> の行つた無細胞濾液の移植の成功であり、又、マウス白血病のウィールス起因説に対して今日の如き確信がもたれるに至つたのも、白血病マウス無細胞濾液を新生児マウスに移植発症せしめた Gross<sup>2)</sup> の実験に始つたこと等を考え合せて、今回の我々の無細胞濾液移植の成功は、X線或は化学物質による発癌にもウィールスが関与していることを証明するための実験の端緒として重要な意義をもつものと考えている。

## 結 論

RF 系マウスにおいて、350γ 1回全身照射により77.4% (53例中41例、その中淋球性40例、骨髄性1例)に、20-methylcholanthrene では88% (25例中22例、その中淋球性12例、骨髄性10例)に白血病を惹起せしめた。かかるX線及び20-methylcholanthrene (以下M.C.と略)誘発白血病マウスの無細胞濾液接種により、次の結果が得られた。

1) X線誘発白血病マウスの無細胞濾液を生後24時間以内の同系新生児マウス12例に接種し、その中2例(16.7%)において、夫々接種後357, 374日目に白血病の発生を認めた。非照射正常マウスの無細胞濾液接種群では、白血病の発生は1例も認められなかつた。

2) M.C.誘発白血病マウスの無細胞濾液の同系新生児マウスへの移植に成功し、同時に骨髄性白血病マウスの無細胞濾液による淋球性白血病の発生という病型変異の現象を観察した。

3) M.C.誘発白血病マウスの脳より作成した無細胞濾液の脳内接種による白血病の発生にも成功した。

4) M.C.誘発白血病マウスの無細胞濾液接種により、乳癌の発生を認めた。

5) M.C.誘発白血病マウスの無細胞濾液接種によつて惹起せしめた白血病マウスの肝、脾、リンパ腺より、更に無細胞濾液を作成して、第2代移植を試み、その継代移植に成功した。

6) RF系マウスでは自然発生白血病は僅か2例経験したのみであるが、その中1例において無細胞濾液移植も可能であつた。

7) M.C.誘発白血病マウスのリンパ腺から電子顕微鏡によりウィールス粒子を証明した。

以上の実験結果から、X線及び20-methylcholanthreneの如き発癌性化学物質によるマウス白血病の発生は、20-methylcholanthrene或はX線によるウィールスの活性化に起因するのではないかと考えた。

終りにご篤懇なるご指導とご校閲をいただいた恩師平木教授並びに大藤助教授に深謝いたします。

(本論文の要旨は昭和38年2月9日、第72回岡山医学会総会で発表した。)

## 文 献

- 1) Ellermann, V., and Bang, C., *Centralbl. f. Bakt., Abt. 1*, 46, 595, 1908.
- 2) Gross, L., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 76, 27, 1951.
- 3) Gross, L., *Oncogenic viruses*, New York, Pergamon Press, 1961.
- 4) 市川康夫, 実験白血病 C. ウィルス, 日本血液学全書 5. 白血病, 丸善株式会社, 560, 1962.
- 5) Graffi, A., Bielka, H., and Fey, F., *Acta Haemat.*, 15, 145, 1956.
- 6) Friend, C., *J. exp. Med.*, 105, 307, 1957.
- 7) Schoolman, H., Spurrier, W., Schwartz, S. O., and Szanto, P. B., *Blood*, 12, 694, 1957.
- 8) Moloney, J. B., *J. Nat. Cancer Inst.*, 24, 933, 1951.
- 9) Furth, J., and Furth, O. B., *Am. J. Cancer*, 28, 54, 1936.
- 10) Mider, G. B., and Morton, J. J., *Am. J. Cancer*, 37, 355, 1939.
- 11) 入野昭三, 小塚 堯, 宗田 範, *日血会誌* 24, 283 §, 1961.
- 12) Hiraki, K., Irino, S., and Sota, S., *Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haemat.*, 347, 1962.
- 13) Hiraki, K., *Acta Med. Okayama*, 12, 84, 1958.
- 14) 平木 潔, 類白血病反応 B. 診断, 日本血液学全書 5. 白血病, 丸善株式会社, 18, 1962.
- 15) Gross, L., *Acta Haemat.*, 19, 353, 1958.
- 16) Gross, L., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 100, 102, 1959.
- 17) Lieberman, M., and Kaplan, H. S., *Science*, 130, 387, 1959.
- 18) Parsons, D. F., Upton, A. C., Bender, E. S., and Johnson, R. R., *Cancer Res.*, 22, 728, 1962.
- 19) Lwoff, A., Siminowitch, L., and Kjeldgaard, N., *Ann. Inst. Pasteur*, 79, 815, 1950.
- 20) Lwoff, A., *Ann. Inst. Pasteur*, 84, 225, 1953.
- 21) Lwoff, A., *Bacteriol. Rev.*, 17, 269, 1953.
- 22) Latarjet, R., *Ann. Inst. Pasteur*, 81, 389, 1951.
- 23) McIntosh, J., and Selbie, F. R., *Brit. J. Exp. Path.*, 20, 49, 1939.
- 24) Murphy, J. B., and Sturm, E., *Cancer Res.*, 1, 609, 1941.
- 25) Peacock, P. R., *Am. J. Cancer*, 24, 49, 1935.
- 26) Obering, C., and Guérin, M., *Bull. Cancer*, 37, 5, 1950.
- 27) Thiery, M., de Groodt, M., de Rome, F., Sebrnyns, M., and Lagasse, A., *Nature*, 183, 694, 1959.
- 28) Granboulan, N., Rievière, M. R., and W. Bernhard, *Bull. Cancer*, 1, 291, 1960.
- 29) Salaman, M. H., *Brit. J. Cancer*, 13, 76, 1959.
- 30) Graffi, A., and Krischke, W., *Acta biol. med. germ.*, 5, 299, 1960.
- 31) Miller, J. F. A. P., *Adv. Cancer Res.*, 6, 291, 1961.
- 32) Hardin, A. C., Werder, A. A., and Schmidt, C., *Surgery*, 49, 768, 1961.
- 33) Svec, F., and Hlavay, E., *Acta haemat.*, 26, 252, 1961.
- 34) 平木 潔, 大藤 真, 癌の臨床, 8, 212, 1962.

## 図 版 設 明

## 図版 I

## 1—2: 白血病 RF 系マウスの剖検像

1: X線照射により惹起された白血病マウス (RF no. 107♀) 非胸腺腫型: 胸腺は腫大せず, 肝, 脾及びリンパ腺腫大.

2: RF no. 107♀ マウスの無細胞濾液接種により惹起された白血病マウス (RF no. 11♀) 胸腺腫型: 胸腺は著明に腫大, 肝, 脾及びリンパ腺腫大.

## 3—4: 白血病 RF 系マウスの肝における白血病細胞浸潤像

3: X線照射により惹起された白血病マウス (RF no. 107♀)

非胸腺腫型: 白血病細胞は主にグリソン氏鞘内の血管周囲に結節状に浸潤

4: RF no. 107♀マウスの無細胞濾液接種により惹起された白血病マウス (RF no. 11♀)

胸腺腫型: 白血病細胞は主に洞内に散在性瀰漫性に浸潤

図版 II

1: 骨髓組織培養増生様式模型図<sup>13)</sup>

(平木式培養盤による)

2-3: 20-methylcholanthrene により惹起せしめた白血病 RF 系マウスの剖検像

2: 胸腺腫型淋巴球性白血病: 胸腺の著しい腫大; 肝, 脾, 淋巴腺腫脹

3: 非胸腺腫型淋巴球性白血病: 胸腺は腫大せず; 肝, 脾, 腫大著明, 淋巴腺腫大

図版 III

1-4: 20-methylcholanthrene により惹起せしめた骨髓性白血病マウス (RF No. 18)

1: 剖検像, 肝, 脾の腫大著明

2: 末梢血液像

3: 骨髓スタンブ標本 (May-Grünwald-Giemsa 染色)

4: 肝組織像, 肝グ鞘血管周囲に骨髓芽球の著明な浸潤

図版 IV

1-4: 20-methylcholanthrene による骨髓性白血病マウス (RF No. 18) の無細胞接種により惹起せしめた淋巴球性白血病マウス

1: 剖検像, 脾, 淋巴腺腫大著明

2: 末梢血液像

3: 骨髓スタンブ標本 (May-Grünwald-Giemsa 染色)

4: 肝組織像, 肝 Sinusoid 及びグ鞘血管周囲の淋巴芽球浸潤

図版 V

1-2: 20-methylcholanthrene 誘発白血病マウスの淋巴腺にみられたウイルス粒子の電子顕微鏡像

1: ウィールス粒子の発生像, 白血病細胞膜上より細胞間隙に突出している。

倍率: 125,000×

2: 細網細胞空胞内のウィールス粒子。

倍率: 50,000×

## Studies on the Cell-free Transmission of X-ray and 20-Methylcholanthrene-induced RF Mouse Leukemia

By

Shozo IRINO, Zensuke OTA, Koichi OKADA, Isao MIYOSHI,  
Tatsuo SEZAKI, Norio KAWAMURA, Mineo KUNISADA,  
Koji IKEJIRI, Masanobu SATO, Susumu SOTA,  
and Masanori SUZAKI

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School  
(Director: Prof. Kiyoshi HIRAKI)

Incidence of leukemia in RF mice exposed to a single whole body irradiation of 350 r X-rays was 77.4%, 41 out of 53 animals. Of them, 20 developed the thymic and other 20 the non-thymic lymphocytic leukemia, while only one developed myelogenous leukemia.

Incidence of leukemia by 20-methylcholanthrene painting was 88%, 22 out of 25 animals. Of them, 12 developed lymphocytic leukemia and other 10 myelogenous leukemia.

Experiments of inoculating cell-free filtrate prepared from these X-ray and 20-methylcholanthrene-induced leukemic RF mice revealed the following facts.

1) Cell-free filtrates from the leukemic mice which were induced by a single whole body X-irradiation were inoculated to the newborn mice of the same strain less than 16 hours old. Two (16.7%) of the twelve inoculated animals developed leukemia 357 th and 374 th days, respectively, after the inoculation. Inoculation of the cell-free filtrates from normal mice to the newborn mice of the same strain did not produce leukemia.

2) Attempts to inoculate cell-free filtrate from 20-methylcholanthrene-induced leukemic RF mice to newborn mice of the same strain were successful.

3) Cell-free filtrate from myelogenous leukemic mouse caused lymphocytic leukemia in one of three inoculated mice. This is suggestive of the possibility of transformation of the type of leukemia during cell-free transmission.

4) Intracerebral inoculation of cell-free filtrate from the brain of a mouse with lymphocytic leukemia also produced lymphocytic leukemia in one of two inoculated mice.

5) Inoculation of cell-free filtrate from the leukemic mice developed mammary carcinoma in one of three inoculated female mice.

6) Serial cell-free passage in two generations of 20-methylcholanthrene-induced leukemic mouse was possible. One of two inoculated mice developed leukemia in the first transmission and one of eight inoculated mice in the second transmission.

7) Only two cases of spontaneous lymphocytic leukemia were observed in RF mice during the past four years and the cell-free transmission of one leukemic mouse was also successful.

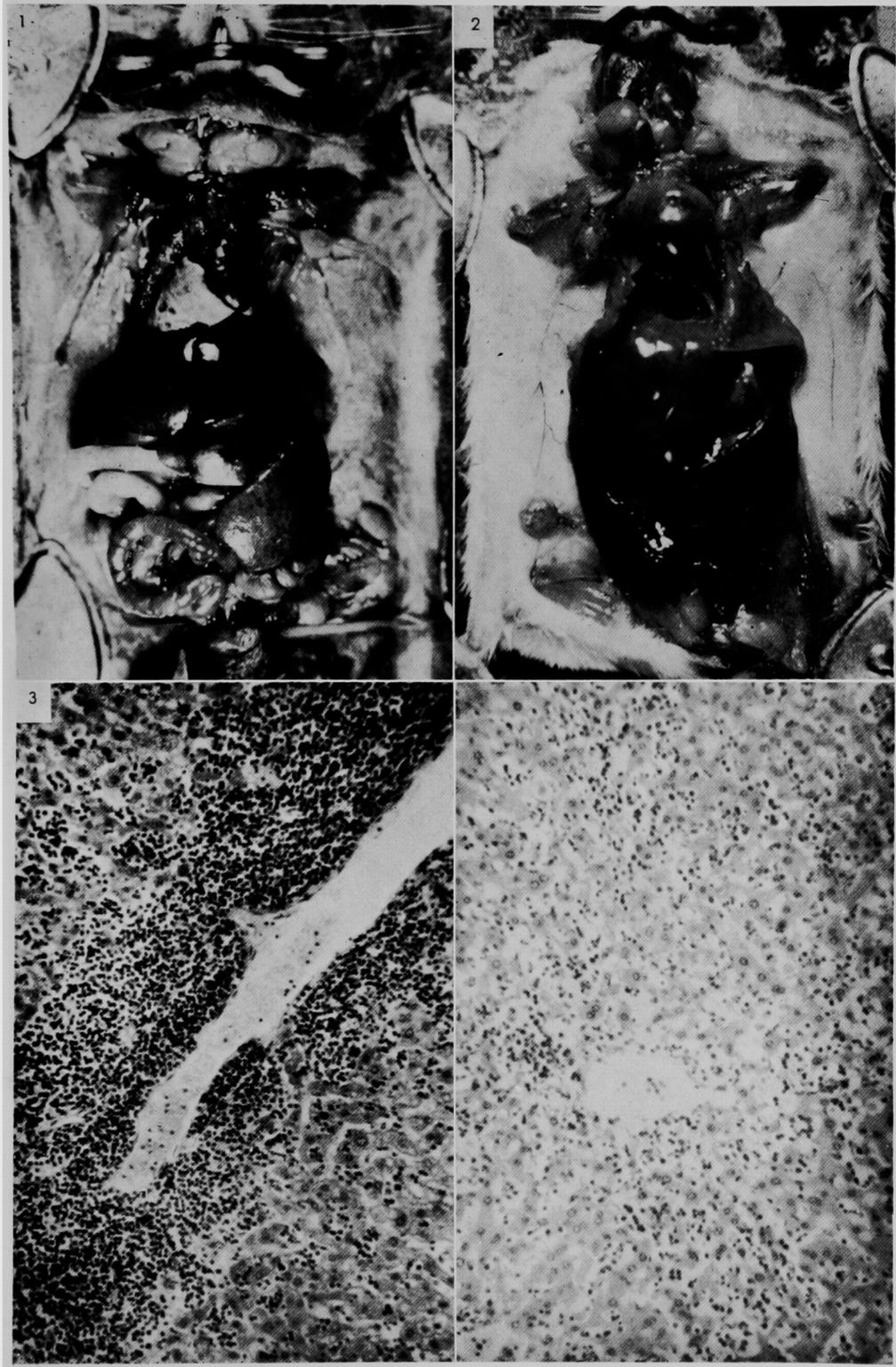
8) Virus-like particles were demonstrated by electron microscope in the lymph nodes of 20-methylcholanthrene-induced leukemic mouse.

These facts suggest that the X-ray and chemical carcinogens may act to induce leukemia or mammary carcinoma by the "activation" of a latent virus naturally resident in the RF mouse.

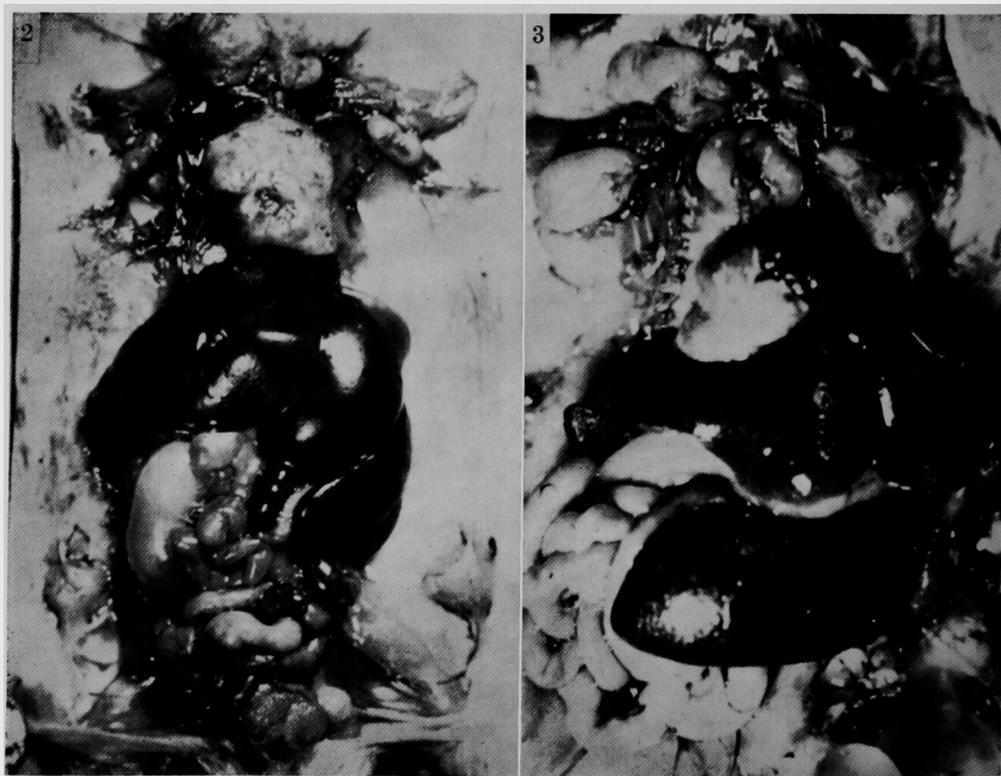
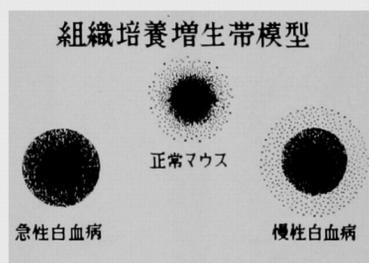
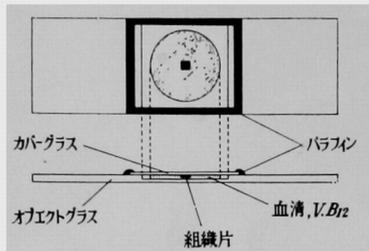
---

図版 I

入野他論文附図

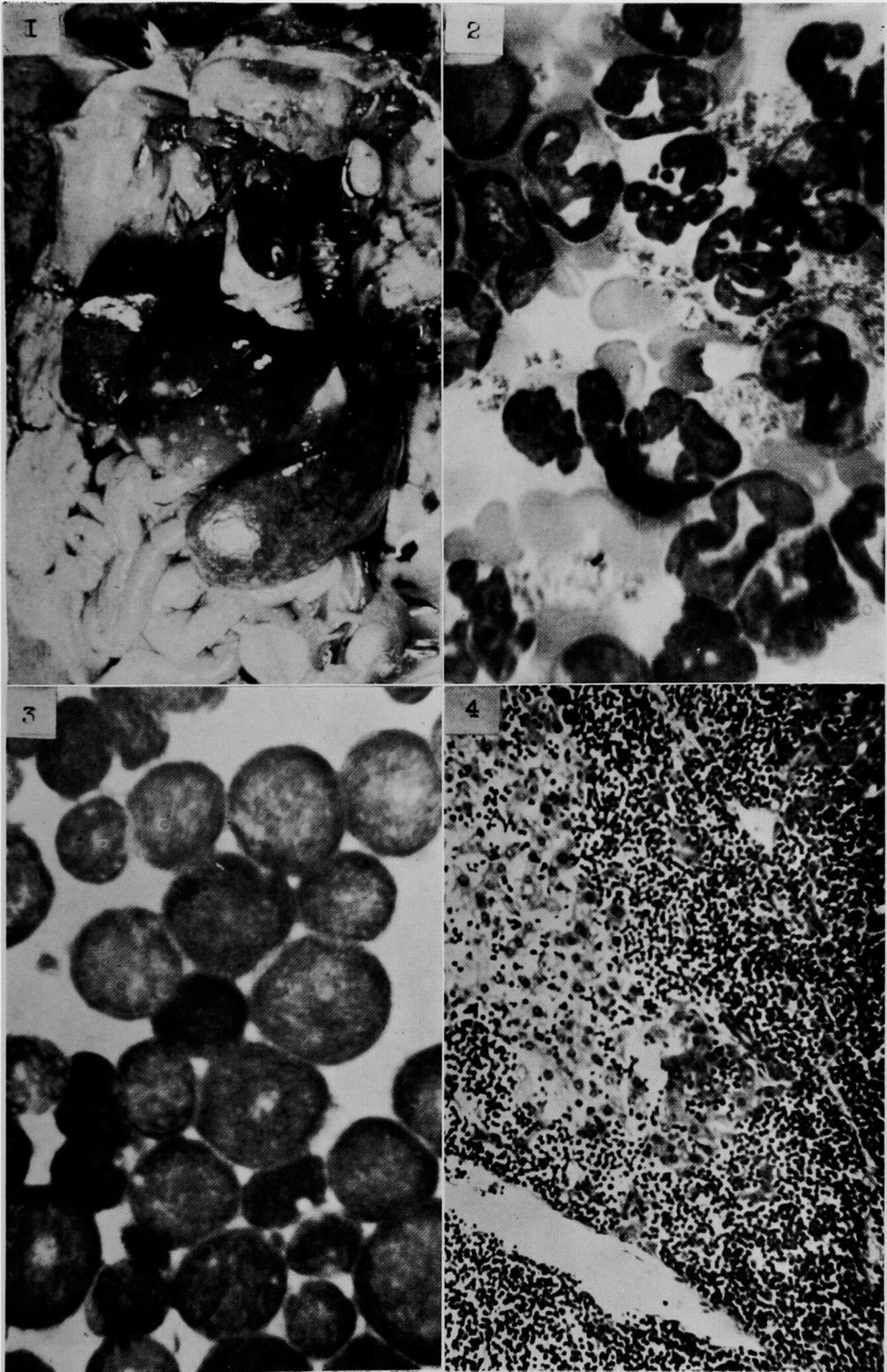


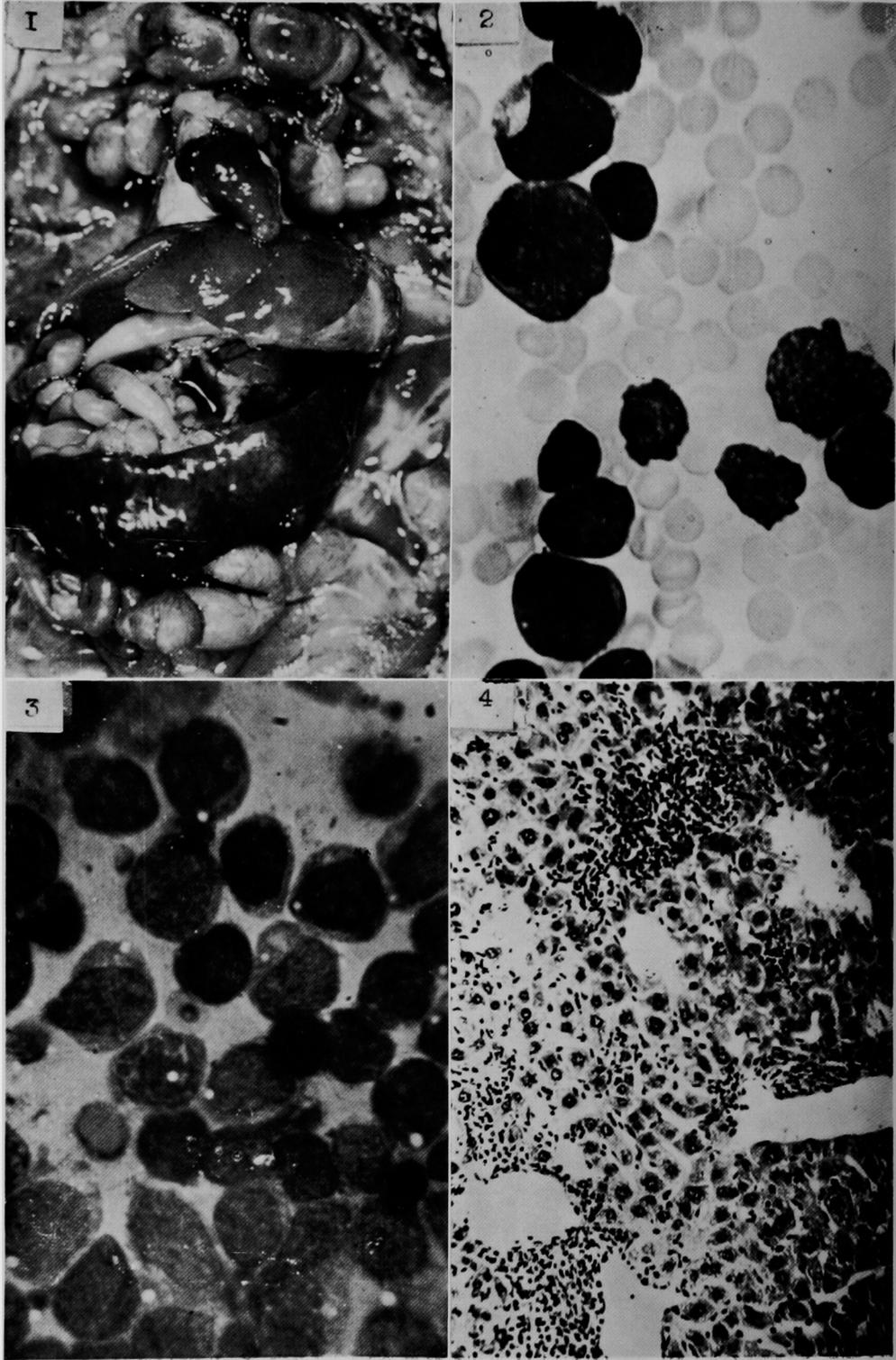
### 1. 平木式臨床組織培養法模型



図版 III

入野他論文附図





図版 V

入野他論文附図

