

マウス形質細胞腫の誘導とマウス白血病ウイルス

川崎医科大学 人体病理学教室 II

(指導: 山下貢司教授)

福 屋 崇

(昭和58年10月13日受付)

Experimental Mouse Plasmacytoma and Murine Leukemia Virus

Takashi Fukuya

Department of Human Pathology II
Kawasaki Medical School

(Accepted on October 13, 1983)

アジュバントの腹腔内投与で BALB/c nu/+ マウスに誘導される形質細胞腫の発生に、Gross マウス白血病ウイルス (G-MLV) が影響を及ぼすか否かを検討した。形質細胞腫はアジュバントを投与した A および B 群に発生したが、対照として生理食塩水を用いた C 群には認められなかった。G-MLV を接種した A 群と、接種しなかった B 群での発生率には有意差はなく、アジュバント腹腔内投与で誘発される形質細胞腫の発生には G-MLV は影響しないものと考えられた。

The influence of Gross murine leukemia virus (G-MLV) on the oncogenic process of mouse plasmacytoma was examined. The tumor was induced by intraperitoneal injections of paraffin adjuvant in BALB/c nu/+ mice. No participation of G-MLV in its tumorigenesis was apparent. Histopathological features of plasma cell hyperplasia and plasmacytoma produced within the intraperitoneal oil-granuloma were reported.

Key Words ① Plasmacytoma ② BALB/c mouse ③ Gross murine leukemia virus ④ Paraffin adjuvant

I 緒 言

実験的形質細胞腫の誘導には BALB/c または NZB マウスの腹腔へのアジュバント^{1)~3)}、鉍物油^{4)~5)}の注入など、比較的単純な方法が用いられ、腹腔表面に形成される oil-granuloma の中に形質細胞腫が発生するものとされている。これらの物質による腫瘍発生の機序は未だ明らかでないが、投与された異物に対する生体反応の過程で形質細胞の異常な増殖がおきるも

のと考えられている^{5)~7)}。

一方、マウス形質細胞腫にはウイルス様粒子がみられることも特徴の一つとされているが、現在までのところ、このウイルス様粒子を含む無細胞抽出液による腫瘍誘導の試みはすべて成功していないようである^{8),9)}。Potter ら¹⁰⁾は BALB/c 系の若い成体マウスに鉍物油である Pristane の腹腔注入後、Abelson マウス白血病ウイルス (Abelson Murine Leukemia Virus: A-MLV) を腹腔内接種して、短期間

で形質細胞腫の発生を認めたと報告している。そこで、MLVの基本とみなされる Gross マウス白血病ウイルス (G-MLV) が、BALB/c マウスにアジュバントで誘導される形質細胞腫の発生に影響を及ぼすか否かを検討した。

II 材料および方法

実験動物には BALB/c nu/+ マウスを用い、G-MLV は教室で培養中の同ウイルスをもつマウスリンパ腫細胞株 (H-111, G-MLV を放出している持続感染系) の無細胞抽出液をそのまま使用した。形質細胞腫の誘導には、流動パラフィン (Paraffin Liquid: 片山化学工業株式会社)、界面活性剤である Tween 80 (polyoxyethylene mono-oleate: 片山化学工業株式会社)、および生理食塩水をそれぞれ 4 ml, 0.18 ml, 4 ml の割合で混合し、oil-in-water の状態にした自家製の不完全アジュバント (Adj.) を用いた。

生後 2~4 日の哺乳マウスに無細胞抽出液を 0.1 ml/匹ずつ腹腔内 (ip.) 接種したものを A 群、対照としてリンパ腫細胞の培養に用いた培養液のみを接種したものを B 群とした。マウスが 6 週齢に達した時から A, B 両群に Adj. を ip. 投与しはじめ、4 週毎に計 7 回投与し、その量を 1~3 回は 0.5 ml/匹、4~7 回は 1.0 ml/匹とした。A 群と同様に無細胞抽出液を接種後、Adj. のかわりに生理食塩水 (生食水) を投与したものを C 群とした。

15 カ月齢でマウスを解剖し、各臓器組織を採取して型の如く病理組織学的検索を行った。

III 病理組織学的所見

oil-granuloma および形質細胞腫は Adj. を投与した A および B 群に形成されたが、Adj. のかわりに生食水を投与した C 群にはこれらの変化を認めない (Table 1)。また、A 群と B 群との間には病理組織学的に差異はみられない。

形質細胞腫発生以前の全身の病理組織学的変化についてはすでに報告した通りである¹¹⁾。本報告では形質細胞の過形成、腫瘍発生の初期像

Table 1.

Group	Plasmacytoma	Lymphoma
A G-MLV(+)->Adj.	20/151(13.2%) D : E=12 : 8	2/151(1.3%)
B G-MLV(-)->Adj.	7/55 (12.7%) D : E=3 : 4	1/55 (1.8%)
C G-MLV(+)->Saline	0/93 (0%)	0/93 (0%)

G-MLV: Gross Murine Leukemia Virus
Adj.: Adjuvant D: Diffuse stage
E: Early stage

(early stage) および播種性増殖を示す形質細胞腫 (diffuse stage) を中心に、腹腔内の変化について観察した所見を記載する。

Adj. を腹腔内投与した A および B 群では腹腔表面に oil-granuloma が多数形成され、毛細血管の新生と、その周囲へのリンパ球を中心とする炎症細胞浸潤がみられ、所々で成熟した形質細胞が少数混在している。時には、ほとんど形質細胞のみで構成されている小集簇巣が oil-granuloma 内に認められることがある。これらの形質細胞は異型性に乏しく、核の軽度 S

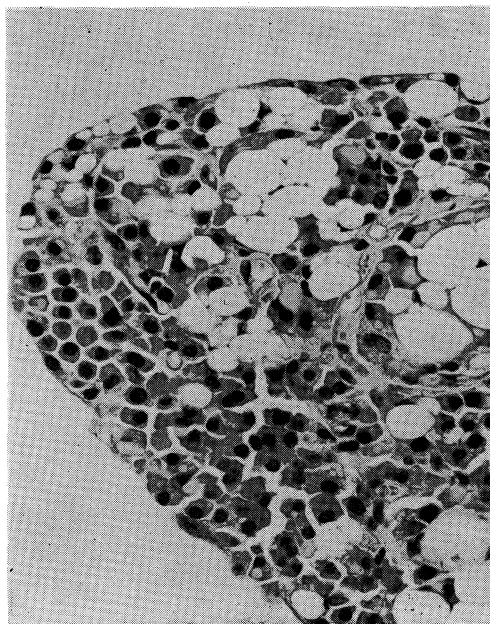


Fig. 1. Plasma cell hyperplasia in intraperitoneal oil-granuloma. (x300, H-E)

大小不同のみがみられ、形質細胞の過形成とみなされる所見である (Fig. 1).

11カ月以後、A、B両群に著明な腹水貯溜を示すマウスが散発的に認められるようになる。腹水は初期には帯黄色軽度に混濁しているが、早晚血性となる。腹水中には形質細胞腫細胞が多数出現し、また、腹水の PTSA test は陽性を示し Bence-Jones 蛋白を含んでいることがわかる¹¹⁾。肉眼的に腹膜表面には多発した白色顆粒状ないし塊状の oil-granuloma を背景として、黄白色ないしピンク色でゼリー状の様々な大きさの腫瘤の形成がみられる。組織学的には oil-granuloma の表層にびまん性に増殖した異型形質細胞が認められる (Fig. 2)。これらの腫瘍細胞は N/C 比大で、好塩基性の胞体と扁在する類円形で過染性の核および1~2個の明瞭な核小体をもっており、一部の細胞には形質細胞由来を思わせる核周明庭が存在している (Fig. 3)。変形した異常核をもつ細胞や多核巨細胞もかなり混在している。これらの腫瘍細胞の胞体はピロニン好性である。電子顕微鏡所見では腫瘍細胞の胞体には拡張した粗面小胞体

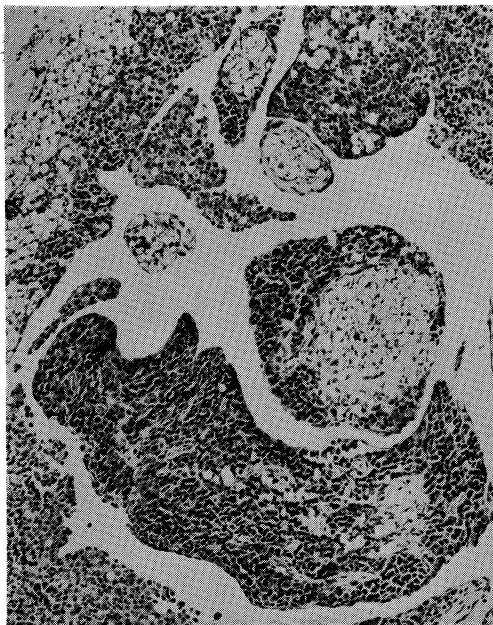


Fig. 2. Diffuse stage of plasmacytoma. Tumor cells are distributed diffusely on the surface of oil-granuloma. ($\times 70$, H-E)

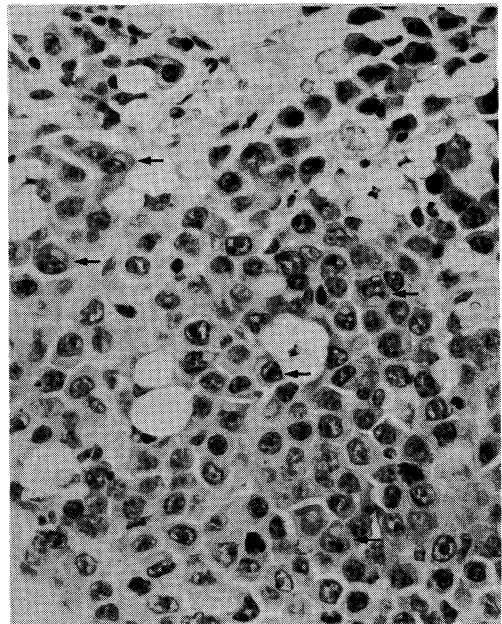


Fig. 3. Plasmacytoma cells. Perinuclear clear zone is seen in some of the tumor cells (arrow). ($\times 300$, H-E)

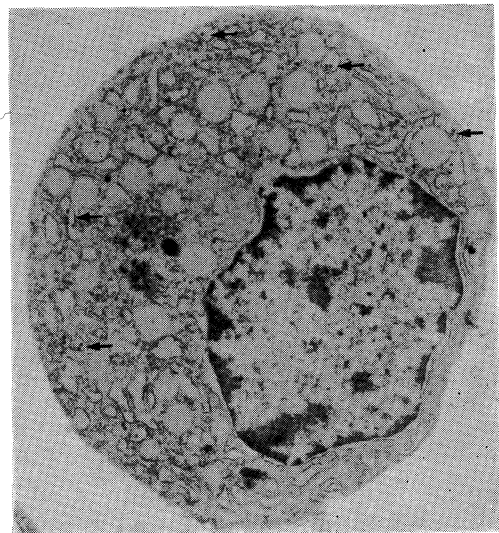


Fig. 4. Electron micrograph of plasmacytoma cell. Virus-like particles are seen in dilated RER (arrow). ($\times 6000$)

豊富であり、また、小胞体内にはウイルス様粒子の存在がみられる (Fig. 4)。

腹水貯溜がなく、肉眼的にも腫瘍形成が明らかでないマウスでも、組織像で異型形質細胞の

小集簇が見出されることがある (Fig. 5). これらの細胞は diffuse stage の形質細胞腫と同様な細胞像を示しており、形質細胞腫の初期像 (early stage) と考えられる。これらの像は例外なく 15カ月齢で組織学的検索により、はじめて認められる所見である。



Fig. 5. Early stage of plasmacytoma. (×140, H-E)

これらの組織学的検索の結果の集計は Table 1 に示した通りである。形質細胞腫は Adj. を投与した A および B 群に発生し、Adj. のかわりに生食水を用いた C 群には認められていない。

以上のごとく、Adj. 投与で形質細胞腫が発生することは明らかであるが、G-MLV を接種した A 群と接種しなかった B 群での発生率には有意差はみられず、発生の時期にも違いは認められなかった。また、ウイルス様粒子の存在はみられたが、G-MLV の形態像とは異なるものであり、従って、Adj. 腹腔内投与で誘導される形質細胞腫には G-MLV は影響していないものと考えられる。組織像の上では diffuse と early の 2 つの stage に分類することができ、A, B 両群間にその比率の差がみられるが、これは意

識的に diffuse と early の中間的なものはすべて前者に含めた結果に由来するものと考えられる。

リンパ腫も Table 1 に示した様な割合で発生したが、G-MLV の接種の有無とは関係なく、また、脾臓が中心に胸腺の巻きこみがないことから自然発生的なものであるとみなされる。

IV 考 察

マウス形質細胞腫の特徴であるウイルス様粒子には胞体内マトリックスにみられる intracytoplasmic type A, 小胞体内に存在する intracisternal type A および細胞膜に認められる type C の 3 つのパターンがあり、いずれも RNA ウイルスに分類されている^{8), 9), 12)~14)}。このうち intracytoplasmic type A 粒子は乳腺腫瘍の agent をもつマウスに原発、もしくは移植された形質細胞腫に認められるもので、形質細胞腫自体とは直接関係はないものと考えられている^{12)~14)}。

Watson ら⁹⁾ は培養形質細胞腫のウイルス様粒子 (intracisternal type A および type C) から RNA を抽出し、その塩基の構成がマウス白血病ウイルスのそれと類似していることを報告している。また、腫瘍細胞が Gross 白血病型の細胞膜抗原をもち、ウイルス様粒子自体が leukemia group specific antigen をもつことから、このウイルス様粒子が MLV、ことに Gross ウイルスに近縁のウイルスではないかと推測されている。しかし、現在では type A 粒子はその構成蛋白の電気泳動による分布の違い¹⁵⁾、type C 粒子は RNA dependent DNA polymerase を持たない¹⁶⁾ ことなどにより、抗原的には類似点をもつ¹⁷⁾ ものの MLV とは異なるものと考えられている。

これらのウイルス様粒子を用いた腫瘍誘導の試みは、形質細胞腫の無細胞抽出液を哺乳マウスの腹腔内に接種するという方法で行われているが、現在までのところ成功していない^{8), 9)}。Potter⁶⁾ はその原因として腫瘍発生の必須条

件, すなわち granulomatous な腹腔内環境が満足されていないことをあげ, さらにウイルス様粒子が不完全な形のものであり感染能力を欠如しているのではないかという可能性を示唆している。

Potter ら¹⁰⁾ は鉱物油の1種である Pristane の腹腔投与後の BALB/c 系の若い成体マウスに A-MLV を腹腔内接種し, 短期間で形質細胞腫の発生を認めている。A-MLV のみでは形質細胞腫は発生しないことから, ウイルスの感染が形質細胞またはその前駆細胞の数, および腫瘍化させようとする刺激に対する感受性の増加に関与するのか, あるいは腹腔内の微小環境をより腫瘍化に好適な条件に変えるのではないかなど, いろいろと推測することはできる¹⁰⁾。現在では A-MLV はBリンパ球をトランスフォームさせる¹⁸⁾ ことが明らかにされており, Bリンパ球系の腫瘍である形質細胞腫に対する

影響という点を考慮すれば, その転化の機構については形質細胞やその前駆細胞の数を増加させるか, 腫瘍化刺激に対する感受性を増大させるのではないかと考えられる。

Potter らの用いた A-MLV に対して, 本実験では G-MLV を使用して Adj. による形質細胞腫の誘導に及ぼす影響の有無を検討したが, 影響は認められなかった。この2つの実験結果の違いは, G-MLV が胸腺に親和性をもつ (target cell は現在のところ明らかでない) ことと対照的に, A-MLV がBリンパ球を target cell とするためであろうと考えられる。しかし, MLV の感作の時期や腫瘍誘導に使用した oil の違い, さらには nu/+ 因子の有無など, 今後さらに検討すべき問題点である。

本論文の要旨は昭和58年8月, 第18回日本実験動物学会において発表した。

文 献

- 1) Potter, M. and Robertson, C. L.: Development of plasma-cell neoplasms in BALB/c mice after intraperitoneal injection of paraffin-oil adjuvant, heart-killed staphylococcus mixtures. *J. Natl. Cancer Inst.* 25 : 847—861, 1960
- 2) McIntire, K. R. and Princler, G. L.: Prolonged adjuvant stimulation in germ-free BALB/c mice development of plasma cell neoplasia. *Immunology* 17 : 481—487, 1969
- 3) Potter, M. and Boyce, C. R.: Induction of plasma-cell neoplasms in strain BALB/c mice with mineral oil and mineral oil adjuvants. *Nature* 193 : 1086—1087, 1962
- 4) Salwa, J.: Experimental plasmacytoma in mice. I. Induction, morphological and biological characteristics. *Arch. Immunol. Ther. exp.* 28 : 167—172, 1980
- 5) Potter, M. and McCardle, R. C.: Histology of developing plasma cell neoplasia induced by mineral oil in BALB/c mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 33 : 497—515, 1964
- 6) Potter, M.: Immunoglobulin-producing tumors and myeloma proteins of mice. *Physiol. Rev.* 52 : 631—719, 1972
- 7) Warner, N. L.: Autoimmunity and the pathogenesis of plasma cell tumor induction in NZB inbred and hybrid mice. *Immunogenetics* 2 : 1—20, 1975
- 8) Kuff, E. L., Wivel, N. A. and Lueders, K. R.: The extraction of intracisternal A particles from a mouse plasma cell tumor. *Cancer Res.* 28 : 2137—2148, 1968
- 9) Watson, J., Ralph, P., Sarkar, S. and Cohn, M.: Leukemia viruses associated with mouse myeloma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 66 : 344—351, 1970
- 10) Potter, M., Sklar, M. D. and Rowe, W. P.: Rapid viral induction of plasmacytomas in pristane primed BALB/c mice. *Science* 182 : 592—594, 1973
- 11) 福屋 崇: 実験的マウス形質細胞腫誘導の解析. *川崎医学会誌* 8 : 124—132, 1982
- 12) Howatson, A. F. and McCulloch, E. A.: Virus-like bodies in a transplantable mouse plasma cell tumor. *Nature* 181 : 1213—1214, 1958

- 13) Parsons, D. F., Darden, E. B., Lindsley, D. L. and Pratt, G. T.: Electron microscopy of plasma-cell tumors of the mouse. *J. biophys. biochem. Cytol.* 9: 353—368, 1961
- 14) Dalton, A. J., Potter, M. and Merwin, R. M.: Some ultrastructural characteristics of a series of primary and transplanted plasma-cell tumors of the mouse. *J. Natl. Cancer Inst.* 26: 1221—1267, 1961
- 15) Kuff, E. L., Lueders K.K., Ozer, H. L. and Wivel, N. A.: Some structural and antigenic properties of intracisternal A particles occurring in mouse tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 69: 218—222, 1972
- 16) Volkman, L. E. and Krueger, R. G.: Characterization of myeloma C-type particles produced by a tissue culture adapted murine myeloma. *J. Virol.* 12: 1589—1597, 1973
- 17) Krueger, R. G. and Miller, G. C.: Relationship between the cellular and viral antigens of a BALB/c myeloma and murine leukemia virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 53: 997—1004, 1974
- 18) Baltimore, D., Rosenberg, N. and Witte, O. N.: Transformation of immature lymphoid cells by Abelson murine leukemia virus. *Immunol. Rev.* 48: 3—22, 1979