

実験的膵癌の作成とその応用

大阪市立大学第1外科

佐竹 克介 鄭 容錫 田中 肇 仲田 文造
日裏 彰人 西脇 英樹 梅山 馨

EXPERIMENTAL PANCREATIC CANCER AND ITS APPLICATION

Katsusuke SATAKE, Yong S CHUNG, Hagime TANAKA,
Bunzo NAKATA, Akihito HIURA, Hideki NISHIWAKI
and Kaoru UMEYAMA

First Department of Surgery, Osaka City University Medical School

われわれはDMBAを用いてラットに膵癌を、さらに、BHPを用いてハムスターに膵癌の作成を試みた。120日以後生存したDMBAラット膵癌の発癌率は61.3%であった。また、BHPハムスター膵癌では17週以後の発癌率は97.3%であった。両膵癌の組織像はDMBAラット膵癌では未分化癌が多く、腺房細胞癌もみられたが、BHPハムスター膵癌では高分化型腺癌が多くみられた。消化管ホルモンの1つであるcaeruleinをBHPに併用するとBHP単独に比べ早期に発癌し、早期に発癌率を有意に上昇した。DMBAラット膵癌には右50%estrogen receptor陽性膵癌がみられた。以上、実験膵癌を用いて種々の検討が可能で、その目的に応じて種々の利用が可能である。

索引用語：実験膵癌, 7,12-dimethylbenzanthracene, N-nitro-bis (2-hydroxypropyl) amine

はじめに

近年、膵癌の発生頻度は増加傾向にあり、また、画像診断などの進歩にかかわらず、膵癌の早期発見は困難である。さらに、多くは診断時には進行癌で切除不能症例で、また、2cm以下の小膵癌の切除例の検討でも、他の消化器癌と比較してその予後は悪い。かかる現状から膵癌の発生因子、発癌過程の解明とともに、早期診断、治療などの臨床研究に必要な膵癌モデルが必要である。

われわれは1974年以来、7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA)を用いてラットに膵癌の作成を試み、また、最近、N-nitro-bis(2-hydroxypropyl) amine (BHP)を用いてハムスターに膵癌実験を行い、発癌の期間、発癌率、生物学的悪性度、組織学的相異について比較検討し、さらに、ヒト膵癌組織像と

比較した。また、膵に trophic effect を持つ消化管ホルモンの膵発癌に及ぼす影響および膵癌組織の estrogen receptor assay を行い、若干の知見を得たので報告する。

実験動物および方法

体重100~150gのSprague-Dawleyラットを用いて、従来の方法¹⁾にてDMBA 1mgをラット膵の脾葉部被膜下に直接接種し、接種後120日以上生存したラットを屠殺し、おのおの、発癌期間、発癌率、生物学的悪性度、組織学的分類を行った。また、これらラット膵癌組織を用いてdextran coated charcoal法を用いてestrogen receptorを測定した。

また、生後8週齢90~100gのSyrian golden hamsterを用いて、BHP 1回500mg/kgを週1回皮下注射を行い、8週以後生存したハムスターを屠殺し、おのおのDMBAラット膵癌と同様の検索を行った。また、消化管ホルモンの膵発癌の影響をみるため、BHP注射に加えてcaerulein 20μg/kgを週1回皮下注射を行い、BHP単独群、caerulein単独群と発癌期間、発癌率、組織学的分類を行った。

※第30回日消外会総会シンポ2：消化器実験外科の進歩と新しい展開

<1987年10月15日受理>別刷請求先：佐竹 克介

〒545 大阪市阿倍野区旭町1-5-7 大阪市立大学医学部第1外科

表1 DMBA ラットの発癌率

週	屠殺数	発癌数	%
14-25	66	42	63.6
26-34	62	37	59.7
35-42	28	16	57.1
43-52	19	11	64.7
	173	106	61.5

表2 BHP ハムスターの発癌率

週	屠殺数	発癌数	%
8	3	0	0
10	3	0	0
11	2	1	50
12	3	0	0
13	3	0	0
14	2	1	50
15	3	1	33.3
16	11	9	81.8
17	4	4	100
18	7	7	100
19	5	5	100
20	6	5	83.3
27	4	4	100
	56	37	66.1

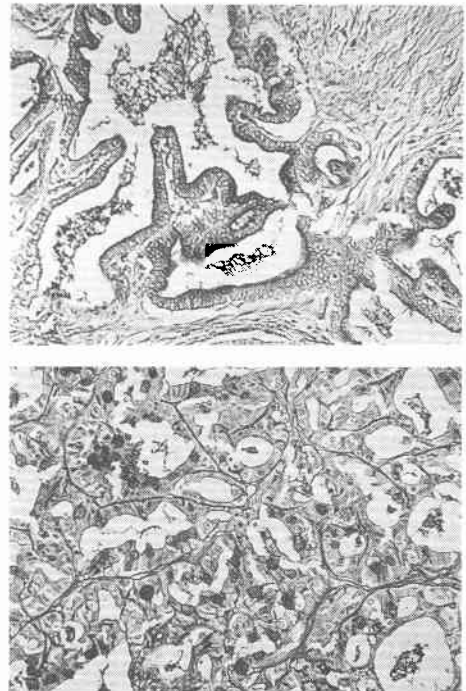
36/42 87.5%

25/26 92.3%

表3 各膀胱癌の組織学的分類

組織学的分類	ヒト (臨床)	DMBA	BHP (DIPN)
上皮内癌			2 (5.4)
管状腺癌	24 (55.8)	15 (14.2)	15 (40.6)
乳頭腺癌	3 (7.0)		10 (27.0)
嚢胞腺癌	2 (4.7)		3 (8.1)
嚢胞乳頭腺癌			6 (16.2)
腺厚細胞癌	1 (2.3)		
腺扁平上皮癌		9 (8.5)	
扁平上皮癌	2 (4.7)	4 (3.9)	
粘液癌	1 (2.3)		
併存癌			1 (2.7)
低分化腺癌	10 (23.3)	61 (58.1)	
偽肉腫		4 (3.9)	
未分化癌		13 (12.4)	
計	43 (100%)	106 (100%)	37 (100%)

図1 分化型腺癌(H.E.染色, ×200)ヒト(上), BHP ハムスター(下)



教室で経験したヒト膀胱癌43例の組織学的分類を行い、これら実験膀胱癌と比較検討した。

成績

接種後120日以降生存したDMBA ラット膀胱癌の発癌期間と発癌率は表1のごとくで、全体として61.5%の発癌率であった。肉眼的所見ではこれらラット膀胱癌は平均2~3cm 径の固い腫瘍が多いが、時には5cm 径のものもみられた。

表2はBHP ハムスター膀胱癌の8週以後の発癌期間と発癌率であるが、15週以後には87.5%、17週以降には92.3%の発癌がみられている。ハムスター膀胱癌の肉眼的所見は小さく、多くは多発性で、肉眼的識別不能例も存在した。

これら両実験膀胱癌の組織像を膀胱取り扱い規約に従って分類し、ヒト膀胱癌の組織像と比較すると、表3のごとく、DMBA ラット膀胱癌100匹中 poorly differentiated adenocarcinoma が最も多く、次いで tubular adenocarcinoma, undifferentiated adenocarcinoma, さらに少数ながら acinar cell carcinoma, adenosquamous carcinoma がみられた。一方、BHP ハムスター膀胱癌では tubular adenocarcinoma が最も多く、次いで papillary adenocarcinoma, cystic papillary adenocarcinoma がみられ、acinar cell carcinoma, squamous cell carcinoma はみられなかった。教室で経験したヒト膀胱癌43例の組織学的分類では

tubular adenocarcinoma, papillary adenocarcinoma など分化型腺癌が多く、cystoadenocarcinoma および squamous cell carcinoma, 少数ながら mucinous adenocarcinoma, acinar cell carcinoma がみられている。ヒト膀胱癌と実験膀胱癌の組織像を比較すると、図1のごとく、ヒト(上)、BHP ハムスター(下)と分化型腺癌でよく類似しており、図2のごとく、ヒト(上)、DMBA ラット(下)と低分化型腺癌でよく類似している。さらに、図3のごとく、acinar cell carcinoma でもヒト(上)、DMBA ラット(下)細胞形態

図2 低分化型腺癌 (H.E. 染色, ×200) ヒト (上), DMBA ラット (下)

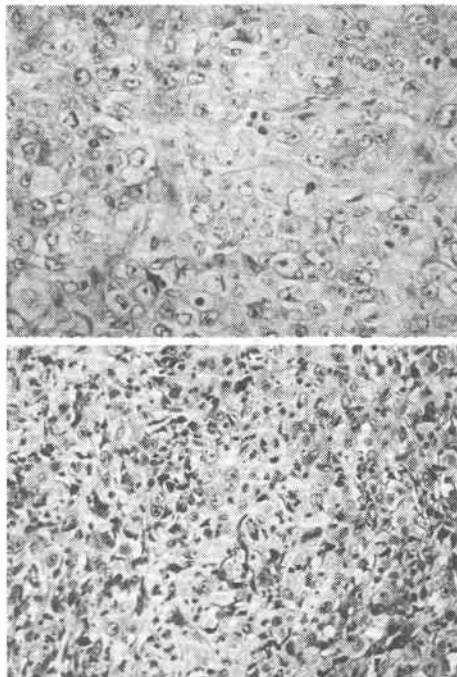


図3 Acinar cell carcinoma (H.E. 染色, ×200) ヒト (上), DMBA ラット (下)

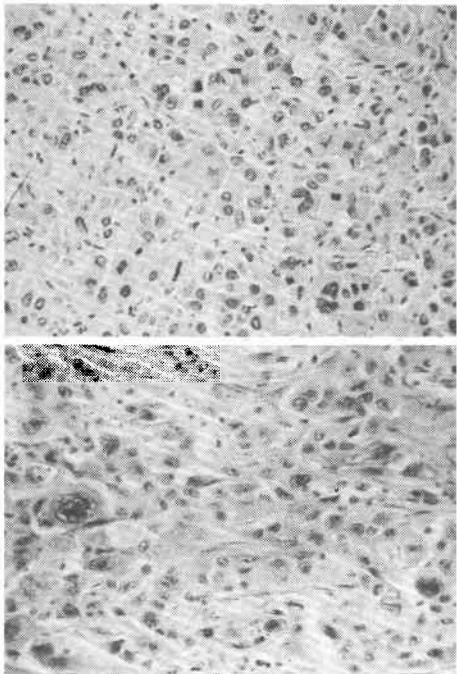


表4 BHP # and/or Caerulein #/週 1 回皮下注射したハムスターにおける発癌率

週	BHP	BHP+Caerulein	Caerulein
~9	0/ 5 (0.0%)	0/ 9 (0.0%)	0/ 5 (0%)
10~14	2/16 (12.5%)	11/15 (73.3%)	0/ 6 (0%)
15~19	13/20 (65.0%)	14/16 (87.5%)	0/ 6 (0%)
20~	8/11 (72.7%)	10/11 (90.9%)	0/10 (0%)

*P<0.01
 = BHP 500mg/kg subcutaneously
 = Caerulein 20μg/kg subcutaneously

もよく類似している。

生物学的悪性度をみると, DMBA ラット膵癌ではリンパ節転移が17%にみられ, リンパ管浸潤もみられ, 血性腹水を伴う腹膜播種が33%にみられた。一方, BHP ハムスター膵癌ではリンパ節転移が5.1%にみられたが, 腹膜播種はみられていない。しかし, ヒト膵癌のリンパ節転移44.2%, 肝転移27.9%, 腹膜播種25.6%に比べ低頻度であった。

Caerulein の BHP ハムスター膵発癌に及ぼす影響について, 表4のごとく, 膵の発癌は BHP 単独では14週目, BHP, caerulein 併用群では10週目と早期に発癌がみられ, 10~14週目の発癌率の比較でも BHP 単独12.5%に比べ, BHP, caerulein 併用群73.3%と有意の高い発癌がみられている。また, 両群間の組織像には差がみられなかった。

DMBA ラット膵癌の estrogen receptor の検索では, 雄では膵発癌16匹中7匹に estrogen receptor 陽性膵癌をみとめ, 雌で13匹中6匹に estrogen receptor 陽性膵癌をみとめた。

ヒト膵癌においても7例中1例に estrogen receptor 陽性膵癌をみとめている。

考 察

ヒトで分類されている膵癌の組織像の多くのものは実験的に作成が可能である²⁾。しかし, 使用する発癌物質, さらには, 投与方法などによって発癌形態, 組織像に相違がみられる。本実験成績でも DMBA ラット膵癌では低分化腺癌が多く, 腺房細胞癌もみられたが, BHP ハムスター膵癌では高分化型腺癌が多く, 腺房細胞癌はみられていない。また, 生物学的悪性度は BHP ハムスター膵癌に比較して DMBA ラット膵癌の方が強い。このように, 使用動物, 発癌物質および投与方法によって発生する膵癌の組織像に違いがみられる。

一般に実験膵癌の腺管腺癌の発癌過程として, 1) ductal proliferation によるもの, 2) acinar cell の脱

分化により腺管腺癌の形態をとると報告されている³⁾。われわれのDMBAラット膵癌で同様の形態を観察している。さらに、ヒト膵癌の電顕学的検索において、腺管癌の腺腔にzymogen様顆粒をみとめ、腺管構成細胞にzymogen様顆粒のみとめるもの、みとめないものが存在し、acinar cellの脱分化を示唆する所見がみられ、また、ヒト膵腺癌の電顕像で12例中6例にzymogen顆粒をみとめ、ヒト膵癌においてもacinar cellの脱分化由来によるものが存在することを示唆する所見をみとめている⁴⁾。実験膵癌のstem cellはいろいろ考えられるが、ヒト膵発癌においてもstem cellの違いが考えられ、これらstem cellのbiological behaviorを検討することが、ヒト膵癌の診断、治療に役立つと思われる。また、実験膵癌を用いて膵癌発生過程によるinitiation, promotionなどの研究への応用も可能である。

近年、膵にtrophic効果を持つ消化管ホルモンの1つであるcaeruleinのBHPハムスター膵発癌に及ぼす影響についての検討では膵の発癌はBHP単独14週に比べ、BHP caerulein併用群14週と4週早く発癌し、さらに、10~14週目の発癌率ではBHP単独に比べ、BHP, caerulein併用群で有意に高い発癌がみられている。本成績は膵にtrophic actionを持つ、caeruleinは膵発癌を促進することが示唆される。また、1980年Stedmanらはヒト膵癌にestrogen receptorの存在を報告している。DMBAはホルモン依存性実験的乳癌の発癌剤として古くから知られ、乳癌の発生や発育とestrogenとestrogen receptorの存在との相互関係に関する研究が本薬剤を利用して行われている⁵⁾。本実験成績でも、DMBAラット膵癌で雄雌とも約50%にestrogen receptor陽性膵癌がみられた。さらに、ヒト膵癌に7例中1例にestrogen receptor陽性膵癌がみられた。Estrogenは膵のtrophic effectを持つことが知られており、本実験成績から、DMBAは乳癌と同様に膵癌の発生あるいは発育にestrogen

receptorを介して何らかの関与を示唆するものと推測された。近年、ヒト膵癌のestrogen receptorの役割について種々検討され⁶⁾、また、ホルモン療法に関して種々臨床的検討がなされているが、いまだ不明な点が多く、今後の検討が必要と思われる。

まとめ

実験膵癌を用いてヒト膵癌の類似の組織像の作成は可能である。しかし、使用動物、発癌物質、さらには投与方法などによって発癌形態、組織像の相異がみられる。したがって、実験目的によって適当な実験モデルを選択することが必要であり、われわれの実験膵癌の成績を中心に、臨床的応用の可能性についても述べた。

文 献

- 1) Satake K, Umeyama K, Kamino K et al: Pancreatic cancer developing sprague-Dawley rat after local application of 7,12-dimethylbenz-anthracene (DMBA). *Osaka City Med J* 21: 119-126, 1975
- 2) Pour PM, Wilson RB: *Experimental pancreatic tumor of the pancreas*. Edited by Moosa AR. Tumors of the Pancreas. William & Wilkins, Baltimore/London, p37-157, 1980
- 3) Bockman DE: Cells of origins of pancreatic cancer. Experimental animal tumors related to human pancreas. *Cancer* 49: 1528-1534, 1981
- 4) Satake K, Shim K, Umeyama K et al: Electron microscopic studies of human pancreatic adenocarcinoma. *Eur J Surg Oncol* 11: 125-135, 1985
- 5) Leung BS, Sasaki GH, Leung JS: Estrogen-prolactin dependency in 7,12-dimethylbenzanthracene induced tumors. *Cancer Res* 35: 621-627, 1975
- 6) Pettersen A, Lea O, Bakkevold K et al: Progress in pancreatic estrogen receptors. *Eur J Surg Oncol* 12: 321-324, 1986