

〔原 著〕

ワラビ発癌性に関する研究

—当別町周辺から採集されたワラビで飼育した
ラットの腸管に発生した腫瘍の形態学的研究—
第1報 悪性線維性組織球腫の発生

松原 敏夫, 館山 美樹, 賀来 亨, 奥山 富三, 石垣 静香*

東日本学園大学歯学部口腔病理学講座

*東日本学園大学薬学部衛生化学講座

(主任: 奥山 富三 教授)

*(主任: 羽賀 正信 教授)

Studies on Carcinogenicity of Bracken

—Morphological Studies on Tumors Induced in the Ileum of
Rats Fed Bracken Collected in the Suburbs of Tobetsu-Cho—
I. Induction of Malignant Fibrous Histiocytoma

Toshio MATSUBARA, Miki TATEYAMA, Tohru KAKU,
Tomizo OKUYAMA, and Seiko ISIGAKI*

Department of Oral Pathology, School of Dentistry,
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY

*Department of Chemical Hygiene, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY

(Chief : Prof. Tomizo OKUYAMA)

*(Chief : Prof. Masanobu HAGA)

Abstract

Bracken is known to induce intestinal and urinary bladder tumors in the rats fed with bracken. Hirono et al reported that bracken collected in the district around Tobetsu-cho, Ishikari-Gun, Hokkaido, was more potent in oncogenecity than bracken gathered in the mountain area of the Gifu prefecture.

The present study was conducted to elucidate the histogenesis of intestinal tumors thus induced. 5 weeks old male rats were fed pellets containing 33% of dried powder of bracken in the rats basal diet. The bracken was harvested in the area around Tobetsu-cho. The pellets were prepared according to the Hirono's method.

All of 16 rats, died or were sacrificed 188 days and after the feeding period, showed multiple tumors in the anal 10 cm of ileum. This finding confirmed the experimental result reported by Hirono et al who found ileal tumors in the rat surviving beyond 7 months after the start of feeding by the diet containing Tobetsu-cho bracken.

Ileal tumors developed in two ways : one was a polypoid epithelial tumor and the other protruded through the muscle layer to the serosal surface to form a ball-like tumor mass. The

受付: 昭和57年10月12日

latter tumor was a mesenchymal tumor or an invading epithelial tumor accompanied by mesenchymal proliferation. In this study special attention was paid to the histopathology of mesenchymal tumor. The tumor was composed of fibroblast-like cells arranged in a storiform pattern, histiocyte-like cells of various forms and bizarre giant cells and these cells presented a pleomorphic pattern. These tumor cells were electron-microscopically characterized. A number of mitotic cells including atypical forms were observed. The mesenchymal tumor was diagnosed as malignant fibrous histiocytoma, MFH. Invasion and metastasis of MFH in the mesenterium and its lymph nodes were noted in 2 animals.

An investigation of lesions preceding MFH formation is now in progress.

Key words : Bracken, ileum, malignant fibrous histiocytoma

緒 言

野生植物を食する牛に汎骨髄症、腸管障害があらわれ、またワラビで飼育する牛に血尿を伴う膀胱粘膜にポリープ状の腫瘍が発生することが報告され、さらに血尿の発生する地域の乾草で飼育した牛の尿の抽出物を犬の膀胱にいれると、血管腫に似た病変が発生し、ワラビの発癌性が示唆されたが、ワラビ食で癌が発生することを実験的に証明したのが、Evans and Mason⁴⁾である。彼らはラットをワラビを混じた飼料で長期間飼育すると、腸管に多発性の腺癌が発生することを認めた。その後、牝牛、ラットに追試されてワラビの発癌性が確認された。また彼らは、日本で胃癌が多いのはワラビのかなりの量を摂取している^{5, 6, 7)}ので、そのためではなかろうかと推量した⁶⁾。

日本では広野ら、本学薬学部⁸⁻¹²⁾の羽賀らが、日本のワラビも強力な発癌性を有することを認めた。彼らの報告によると、生後1ヵ月のラットに4ヵ月間投与すると、投与開始後7ヵ月以上生存したすべてのラットに多発性の回腸腫瘍と膀胱の乳頭状腫瘍が発生している。またワラビの発癌性はワラビの幼若なものほど強いが、ワラビを灰に入れた水あるいは重槽水で煮沸すると、その発癌性はある程度除去されると述べて

いる。またこの発癌性は産地によっても差異がみられ、北海道の石狩郡当別町周辺から採取したワラビの方が岐阜県山間でとったワラビより発癌性が強いと報告している。

本学薬学部の羽賀らは、ワラビ飼育ラットに腸管および膀胱に腫瘍が発生するので、その排泄物に発癌物質がふくまれると考えられるので、当別町周辺で採取したワラビでラットを飼育し、その排泄抽出物の性状をしらべるなどワラビの発癌物質の性状を解明する研究が行われている。われわれはその飼育したラットに発生した腫瘍を検索する機会が与えられた。腫瘍は従来報告されているように、回腸に多発性腫瘍発生をみとめたが、膀胱腫瘍は発見できなかった。小腸腫瘍は腸管内腔にポリープ状の上皮性腫瘍と、漿膜側に突出する非上皮性腫瘍であった。上皮性腫瘍は腺腫と腺癌であるが、この腫瘍細胞は興味ある腫瘍細胞であり、また腸管における上皮性腫瘍の形態発生を研究できる実験材料であるが、この上皮腫瘍については本誌で後刻発表する予定である。

今回は非上皮性腫瘍を形態学的に追求し、その結果を発表するが、ワラビで発生する腸管の非上皮性腫瘍に関する記載は少い。報告されている非上皮性腫瘍の組織像と比較検討したが、この腫瘍は最近人間の軟部組織の悪性腫瘍とし

て最も頻度が高いといわれている、腫瘍細胞の起原を組織球由来とする悪性線維性組織球腫であってワラビ食で惹起された腫瘍について今迄記録されていない所見であるので報告したい。

実験材料と実験方法

実験動物

5週令のACIラットの雄21匹を使用した。ラットは北海道実験動物センターから日本クレア株式会社を通して購入した。

飼料作製

ワラビをふくむ飼育は次のごとく作製された。

ワラビは北海道石狩郡当別町周辺から採取された。成長したワラビの地上部のものを乾燥し、粉末として4℃低温に保存した。この乾燥ワラビを日本配合飼料材料株式会社（東京）に送り、マウス、ラット、ハムスターの飼育固型飼料であるCE-2にワラビ粉末をワラビ：CE-2＝1：2の割合で配合固型飼料が作製された。この混合固形飼料をBrハガオール81, 33%ワラビと呼ぶ。

飼料投与

動物を代謝ケージにいれ、固形飼料、飲料水を自由に摂取させた。

形態学的検索法

Brハガオール81, 33%ワラビで飼育後、105日頃からラットが死亡し始め、188日以後死亡したラットの腸管に腫瘍発生をみとめたので、飼育後204日から208日にかけて、8匹放血死させて、腫瘍の形態学的研究に供した。死亡したラットでも腫瘍の有無を調べた。腫瘍の発生部位、頻度、腫瘍の性状を調査した上で、10%フォルマリン液で固定したあとパラフィンに包埋した。一部電顕的の材料を採取した。

光顕用の標本は型の通り作製し、H. E. 染色、格子線維染色、アザン染色、PAS-Alcianblue染色、Masson's trichrome染色を行った。電顕のため、ポリープ状の腫瘍および漿膜側に突出

した腫瘍部から、1mm方形の細片をとり、1% glutaraldehyde, 4% paraformaldehyde in 0.1 M cacodylate buffer (pH7.4) で3～7日間固定したあと、0.1M cacodylate buffer (pH7.4) で約1日間洗い、オスミック酸 (0.1% OsO₄ in 0.1M cacodylate buffer) で60～90分間後固定し、0.1M cacodylate bufferで洗い、アルコールで脱水したあと、プロピレンオキシサイトに10分間2回いれ、ついでプロピレンオキシサイト：エポン (1：1) 液に1晩おいた後、エポンに包埋し、40℃ 1日、60℃ 2日間オーブンで重合させた。LKB 超ミクロトームで切片を作製し、uranyl acetate-lead citrateで染色しHITACHI 500で検索した。また光顕用のため、1μの厚切片をトルイジンブルーで染色した。

実験成績

腫瘍の発生時期と腫瘍の頻度

ラットを代謝ゲージに移し、ワラビ食開始後1～6日に3匹死亡した。105日、148日目にそれぞれ1匹死亡したが、腫瘍の発生はみられなかったが、188日以後、203日に至るまで8匹死亡した。いづれにも回腸に腫瘍の発生をみとめた。204日から218日にかけて放血死させた8匹をみると、全例に腸管の腫瘍発生をみとめた。またその間2匹死亡したが、これにも腫瘍発生をみた。従ってワラビ33%食で飼育188日以後、死亡例をふくめて全例腸管に腫瘍が発生していた。しかし膀胱の腫瘍発生はみとめることができなかった。また死亡したなかにはポリープ状腸管腫瘍を先端として腸管内に入りこみ腸重積で死亡していたのもみられた。

腫瘍の発生部位と腫瘍の肉眼的所見

腸管腫瘍は盲腸から口側に約10cmの回腸にわたって発生していた。盲腸にも少数ながらみられたが、回腸末端に近い方にやや腫瘍が発生しやすい傾向があった。

腫瘍は腸管粘膜面から管腔内にポリープ状に

漿膜を管腔内にひき込みながら腫瘤を形成しているものと、漿膜側から腹腔内に突出し、球状に隆起しているのがみられた(Fig. 1)。ポリープ状の腫瘍の数は1匹あたり、数ヶから10ヶ程度で、多いものでは20ヶ以上であった。大きさは3mm程度の隆起のものから大豆大、小指頭大までのもので、やや細い有茎性で、軟かく表面は分葉状であった。

漿膜側から腹腔内に突出している腫瘍は数は前者と比して少く、約その $\frac{1}{3}$ ~ $\frac{1}{4}$ 程度で、かなり大きいものがあり、 $3 \times 3 \times 2.5$ cmの巨大の腫瘍形成をみたものもあった(Fig. 2)。表面は平滑で、弾性硬、断面は白色ないし灰白色であった。腸管側は潰瘍化していた。

放血死させた8例のうち2例に腹腔内転移がみられた。1例は腹腔内リンパ節が多数腫大し、腫瘍化していた(Fig. 3)。他の1例は腸間膜はそのリンパ節をふくめて、結節状で、融合している(Fig. 4)。この2例とも漿膜から腹腔内に大きな腫瘍を形成していた例であった。この転移巣は検索した範囲内では肉腫であり、癌腫の転移ではなかった。

顕微鏡用標本をマクロ的にみると、内腔にポリープ状に隆起している腫瘍は上皮性腫瘍で、腫瘍が大きくて、漿膜側に突出しているのは非上皮性腫瘍であることが分る(Fig. 5, 6, 9)。しかし漿膜側の腫瘤は非上皮性腫瘍ばかりではなく、上皮性腫瘍が固有筋層から漿膜側にあるいは非上皮性細胞の増生を伴いながら増殖したり、またその上皮性腫瘍が嚢胞化して漿膜側を隆起させたり(Fig. 7, 8)、また漿膜に血管腫様構造を示すものもみられる(Fig. 10)。

光学顕微鏡的所見

今回の報告は非上皮性腫瘍についてであるので、それについて述べたい。非上皮性間葉系細胞が増殖し、腫瘍状を呈するところもあるが、明らかに非上皮性腫瘍であるものについてみると、漿膜側に隆起している腫瘍は特徴のある所

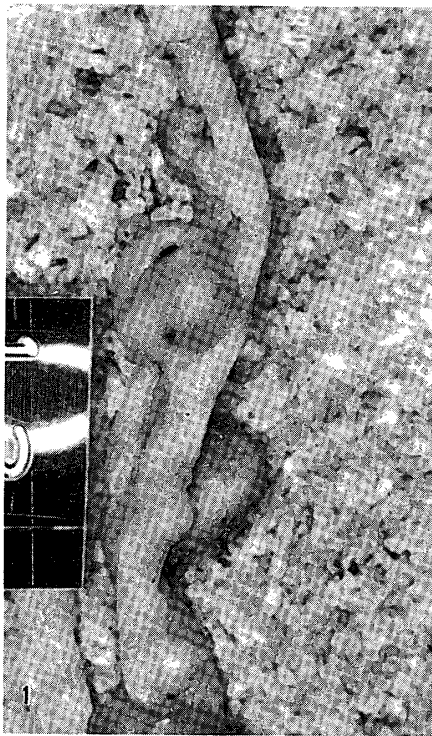
見であるので、それについてまずふれてみる。

腫瘍細胞の形態とその配列から、3つの腫瘍細胞型に分けることができる。第1は紡錘形の線維芽細胞様の細胞が1つの点、例えばスリットのような不分明な血管の廻りに集中するように配列するstoriformの型である(Fig. 11)。格子線維が個々の細胞をとりまいてるようにみえるが、その数は少く、アザン染色、マッソンのトリクローム染色でも淡く細くそまる程度で、膠原線維形成は弱い(Fig. 12)。核はやや円味をおび、クロマチンの過多、核異型性がみられ、核分裂も散見されるが、他の2型に比して細胞の異型性は弱い。巨細胞をみることは少い。

第2の型は組織球様細胞型である。核は円形、楕円形で、大きく、核膜はくびれている。クロマチン量が中等量のものから、著明な核小体に凝集し、ために核質が明るく、核膜の明瞭なもの種々である(Fig. 13)。細胞質は豊富で、エオシンに顆粒状にまた硝子様にみえ、細胞質境界が不明瞭で、細胞質の融合しているのもみられる(Fig. 14)。この型は核分裂がよくみられ、また巨細胞とか、大型の核もみられ、多形性細胞型に似ている(Fig. 15)。

第3の型は多形性細胞型である。これを構成する細胞は紡錘形細胞、円形の組織球様細胞、巨細胞である(Fig. 16)。紡錘形細胞も、組織球様細胞の核のクロマチンの過多、形の不整がみられる。巨細胞は核が大きく、その形は著しく不正で、クロマチンが多く、大きい凝集塊を形成している。そのため大きい核小体も不明瞭となっている。また同様の核を2~3個もつ巨細胞がみられる。細胞質は豊富で、エオシン微細顆粒状である。この型にも核分裂がみられる。

組織球様細胞型でも、多形性細胞型でも非定型的核分裂をしばしばみることができた。円形細胞と紡錘形細胞とが区別できず、両細胞が移行しているのがみられる(Fig. 17)。この場合でも核分裂はよくみられる。黄色腫細胞は散在性



- Fig. 1 Two ball-like tumors on opposing sides : One tumor on the left side is seen to protrude from the serosal surface and the other on the right side to grow on the mucosal surface.
- Fig. 2 A giant tumor on the middle right side of this figure is seen to project from the serosa and ulcerate on the mucosal surface. Several polypoid tumors are seen on the mucosal surface.
- Fig. 3 Metastasis of MFH to the lymph nodes in the upper left peritoneal cavity.
- Fig. 4 A widespread metastasis of MFH to the mesentery including lymph nodes.

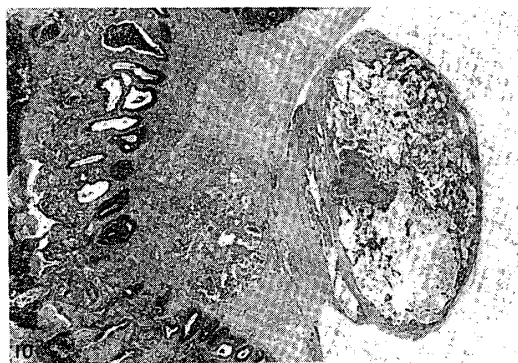
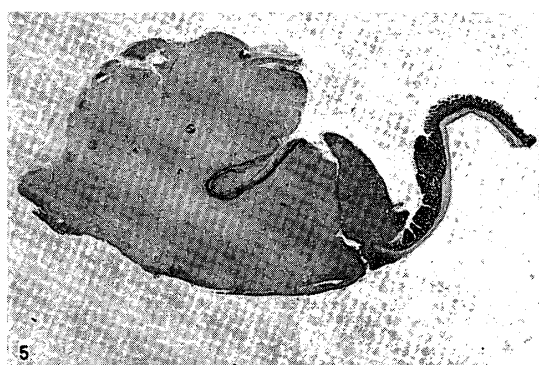


Fig. 5 A giant mesenchymal tumor (MFH). (H.E.×43)

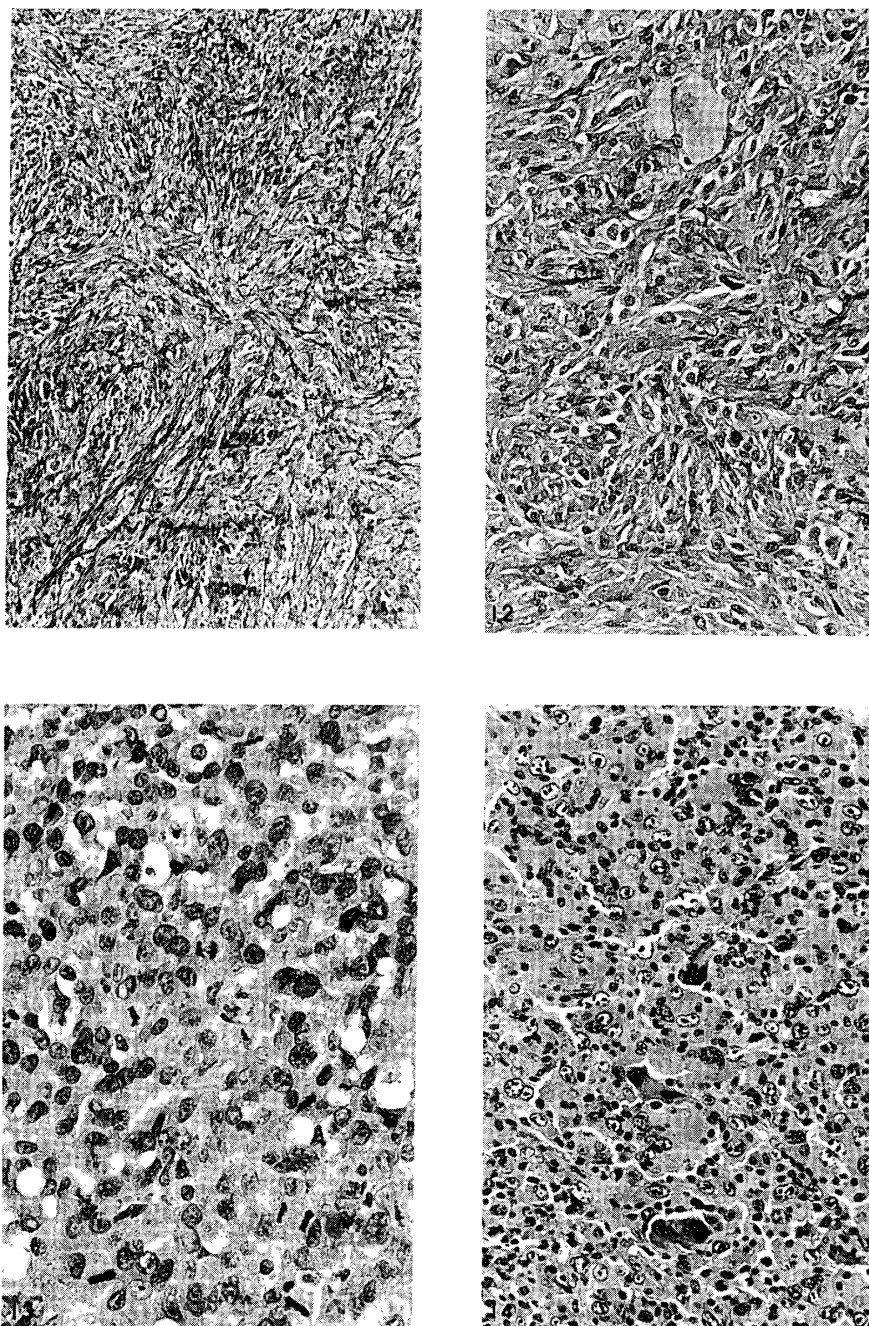
Fig. 6 A polypoid epithelial tumor on the left side and a protruding mesenchymal tumor (MFH) on the right side. (H.E.×76)

Fig. 7 A protruding mesenchymal tumor (MFH) associated with, but isolated from a deeply invading cystic epithelial tumor. (H.E.×64)

Fig. 8 A downward proliferated epithelial tumor accompanying a proliferation of mesenchymal tissue. (PAS-Alcian blue stain.×22)

Fig. 9 Thickening of intestinal wall replaced by mesenchymal tumor cells. Note a haphazard arrangement of bundles of collagenous fibers in the superficial layer (left side of this figure) and a parallel and perpendicular arrangement to the intestinal canal of collagen fibers in the middle and a complexed disposition of fibers seems to show a storiform pattern (enlarged in Fig.21). (Azan.×22)

Fig. 10 A ball-like protrusion on the serosal surface consists of cavernous hemangiomatous dilation of blood vessels. Inflammation is evident. Granulomatous and angioectatic foci are also noted in the thickened muscle layer. (PAS-Alcian blue stain.×22)



- Fig. 11** A storiform pattern of fibroblast-like tumor cell. Fine reticulin fibers are intercellullary seen. (Reticulin fiber stain, $\times 109$)
- Fig. 12** Fibroblast-like tumor cells arranged in a storiform pattern. Mitotic cells, nuclear atypia and a glassy giant cell are seen. Collagen fibers are scanty. (Azan, $\times 272$)
- Fig. 13** Histiocyte-like round tumor cells. Large, somewhat indented nuclei with hyperchromasia, distinct nucleoli, and a number of mitotic cells are observed. The cytoplasm is acidophilic granular to pale. (H & E $\times 435$)
- Fig. 14** Histiocyte-like tumor cells showing pleomorphism. Vesicular nuclei with associated chromatin and nucleoli are remarkable. The cytoplasms are large and glassy. Indistinct cell boundary and bizarre giant cells with irregular hyperchromotic nuclei are seen. (H & E, $\times 272$)

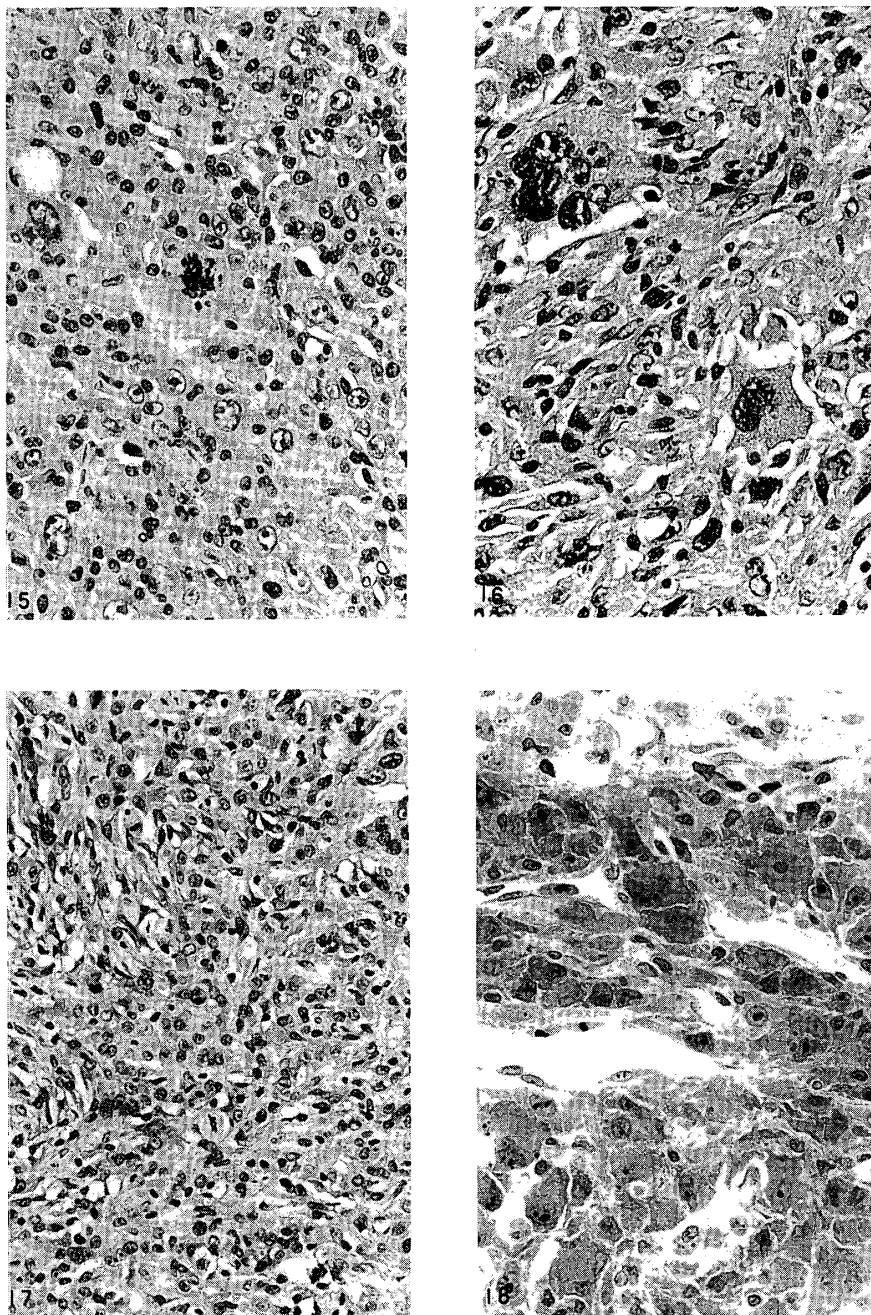


Fig. 15 Histiocyte-like cells showing pleomorphism. Nuclear atypia is evident. Atypical mitosis is observed. (H&E, $\times 435$)

Fig. 16 Pleomorphic pattern consists of a mixture of giant cells, spindle cells and histiocyte-like round cells. Distinction between spindle and round cells is not clear. Nuclear atypia and multinuclear and mononuclear bizarre giant cells are noticeable. (H&E, $\times 435$)

Fig. 17 Transition from histiocyte-like cells to spindle cells or difficulty to distinguish these cells. (H&E, $\times 272$)

Fig. 18 Bizarre histiocyte-like or giant cells are situated adjacent or close to vascular channel, but intermediate cells of tumor cells to vasoformative elements have not been demonstrated yet, although mitosis is seen in the endothelium. (Semithin section, toluidine blue, $\times 435$)

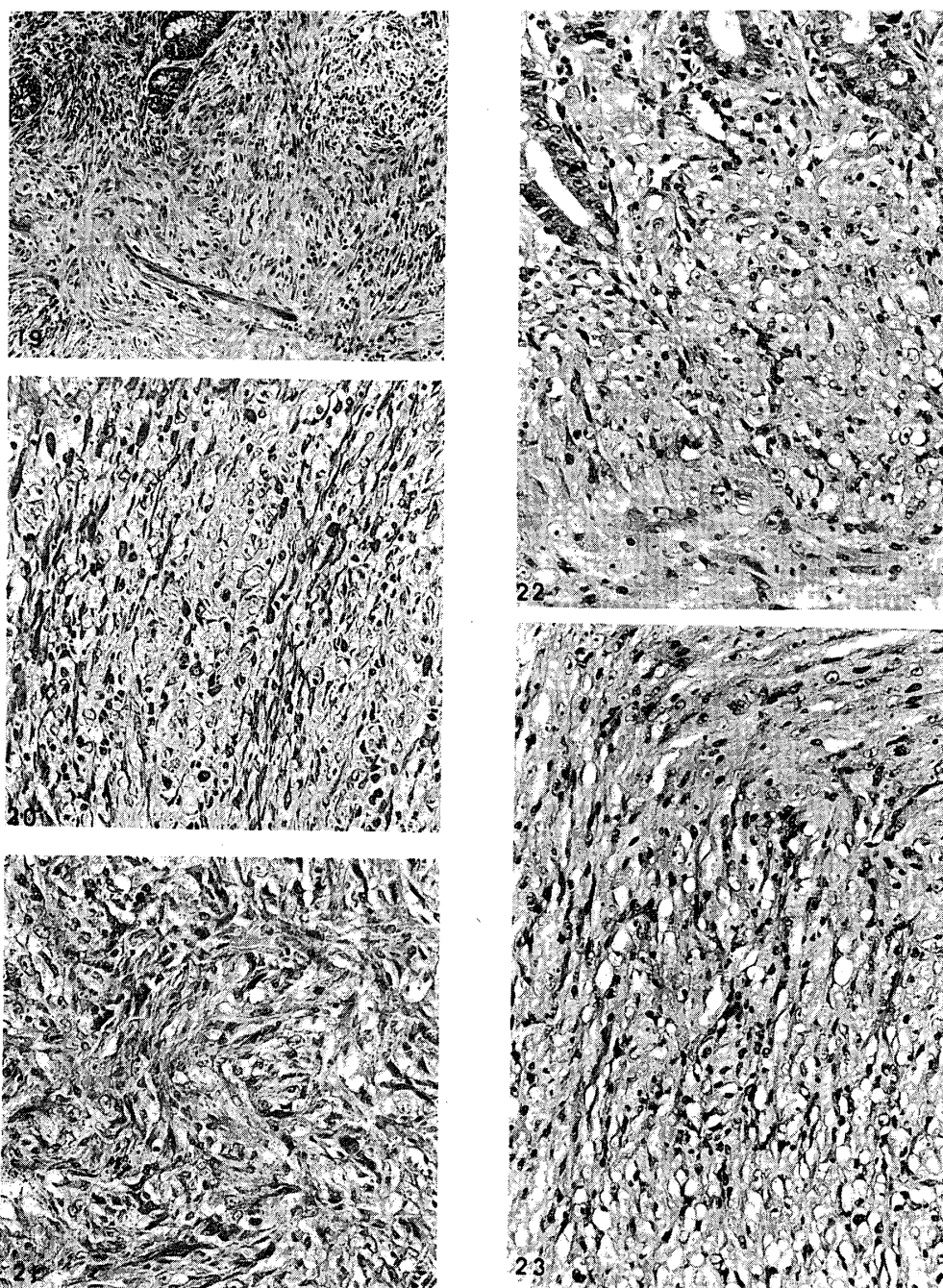


Fig. 19—Fig. 21 Superficial to deep serosal planes of a mesenchymal tumor. Masson's trichrome.

Fig. 19 A haphazard proliferation of fascicular fibroblasts in the superficial mucosal surface accomponys inflammation. ($\times 109$)

Fig. 20 Fibroblastic proliferation perpendicular to the axis of intestinal canal appears to proceed along the proper muscular architecture. ($\times 109$)

Fig. 21 Fibroblasts with plump nuclei grow in a storiform-like pattern. Collagenous fibers are barely observed. ($\times 272$) Cellular atypia in proliferating fibroblasts (Fig. 19-21) and mitotic figures are not evident. Histiocytes and giant cells are difficult to be detected.

Fig. 22—Fig. 23 Proliferation of round cells with vesicular nuclei and cytoplasm is seen on the superficial mucosal surface (Fig. 22) and in the deep muscular layer (Fig. 23). Nuclear atypia and mitotic figures are not distinct. In the muscular layer tumor cells seem to run in a direction of the proper muscle fibers. (H&E, $\times 272$)

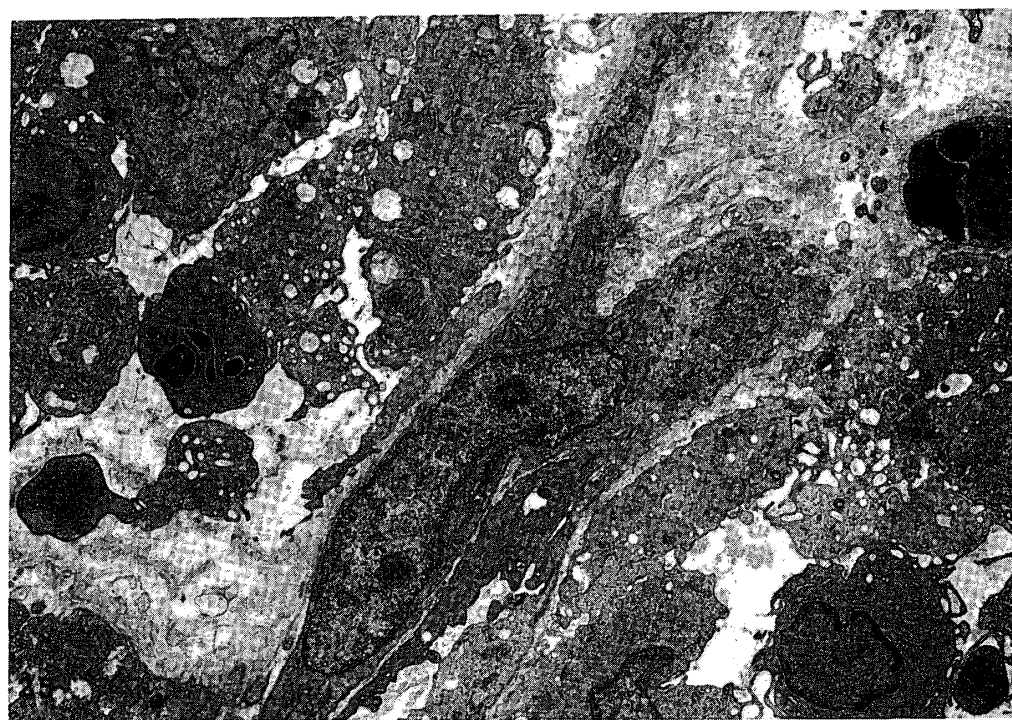
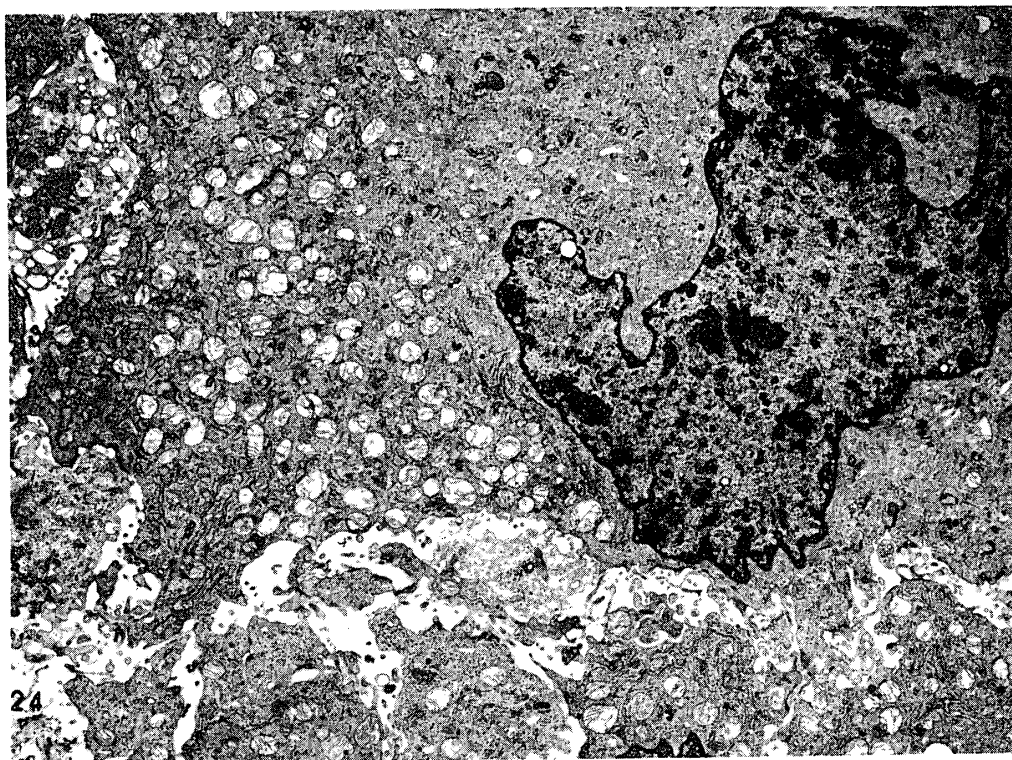


Fig. 24 Electron micrograph showing a neoplastic giant cell with irregular cell membrane cytoplasmic pseudopodia and irregular nucleus. The cytoplasm contained numerous mitochondria, abundant rough endoplasmic reticulum and a few lysosomes. (X1500).

Fig. 25 Electron micrograph showing the spindled fibroblast-like cell (center). The cell membrane was smooth. The nuclear border was smooth or slightly lobulated and contained two prominent nucleoli. (X 2800).

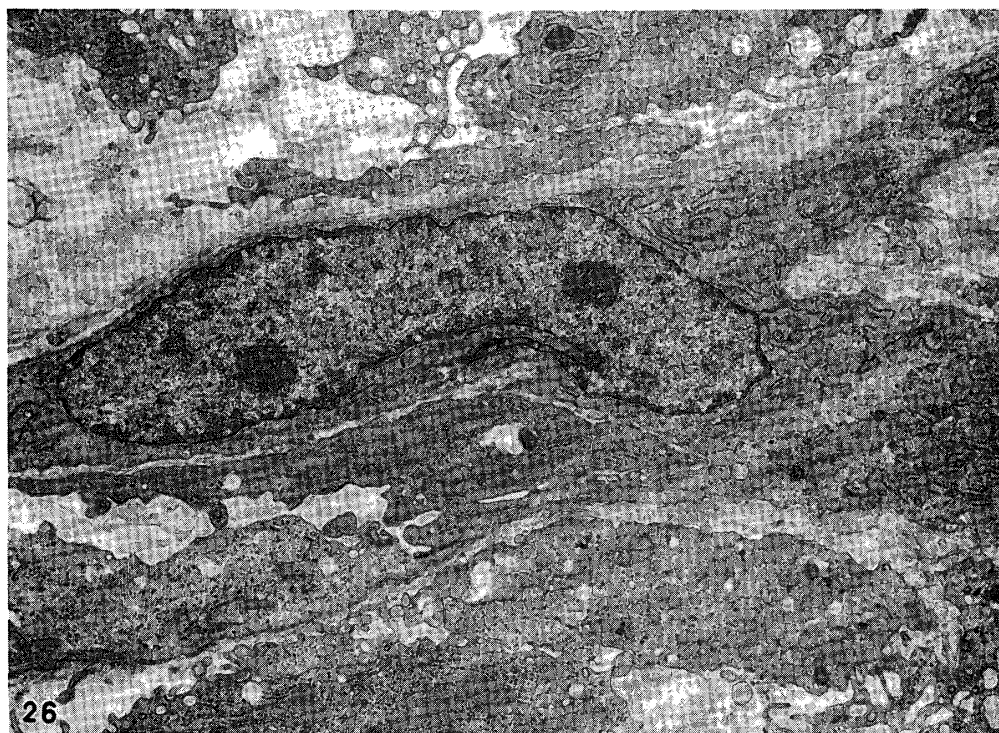


Fig. 26 High power of fig.2 The fibroblast-like cell contained abundant dilated rough endoplasmic reticulum. A few collagen fibers were seen in the extracellular space. (X 3800).

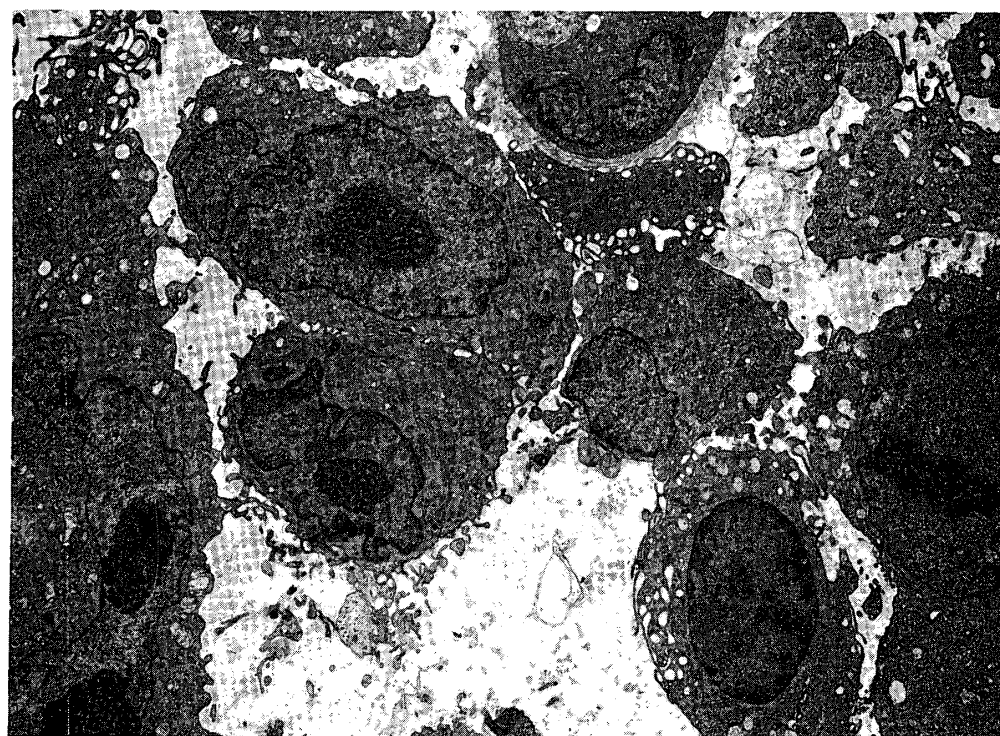


Fig. 27 Electron micrograph showing histiocyte-like cell. The cytoplasm contained abundant rough endoplasmic reticulum and a few lysosomes and a few mitochondria. (X 1600).

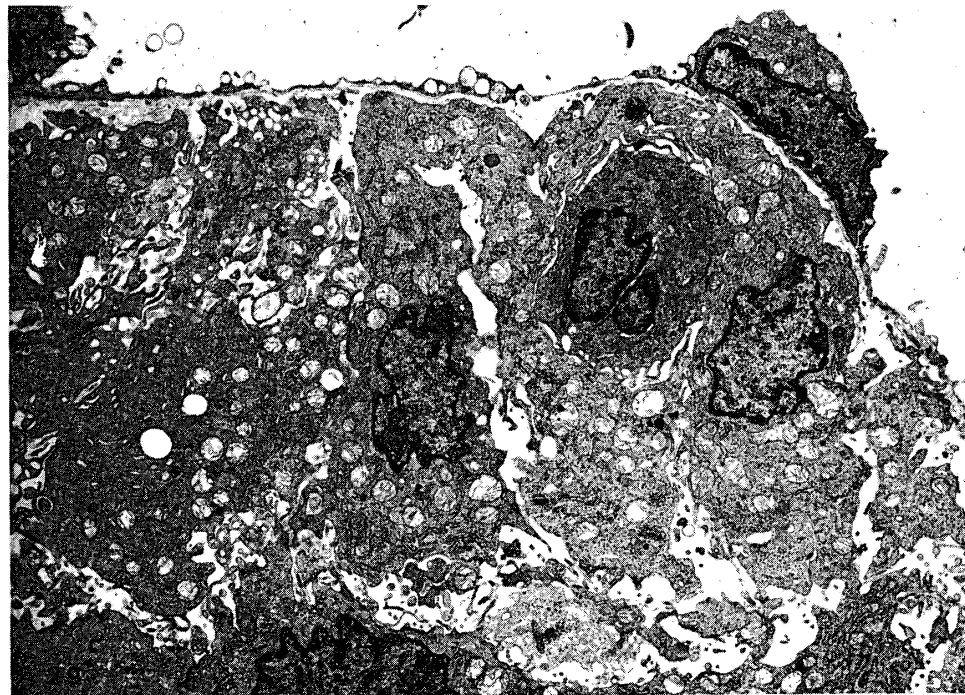
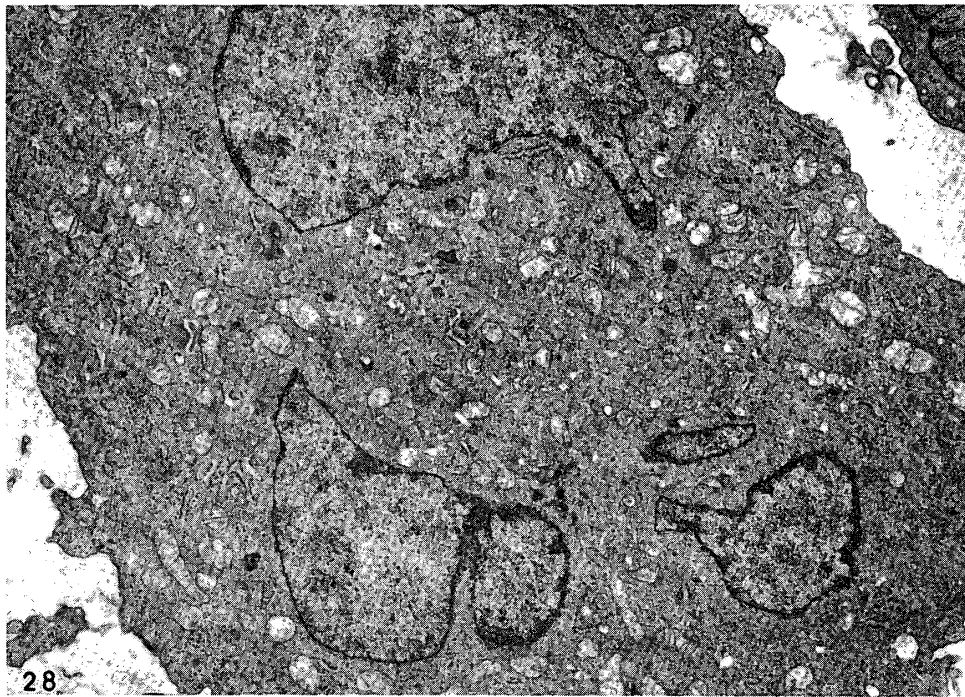


Fig. 28 Electron micrograph showing multinucleated giant cell. The nucleus had coarsely clumped nuclear chromatin and clefted nuclear borders. The cytoplasm contained abundant mitochondria, rough endoplasmic reticulum and a few lysosomes. (X 4000).

Fig. 29 Electron micrograph showing capillary lumen, endothelial cell and histiocyte-like cells. Histiocyte-like cells with irregular cell membrane, cytoplasmic pseudopodia and irregular nuclei contained numerous mitochondria and abundant rough endoplasmic reticulum. (X 1500).

にみられるところがあるが、全体的に数が少く、目立つ所見ではなかった。

血管はスリット状のものからかなり拡張しているもの、種々である。なかには血管内皮細胞の腫大があり、血管外皮細胞とともに腫瘍を構成しているように見え、また巨細胞も血管壁に位置しているようにみられるところがある。しかし1 μ の切片のトルイジンブルー染色でみると、腫瘍細胞が血管外側に接するところまで増殖しており、血管内皮細胞に核分裂をみることがあるが、血管内皮細胞が腫瘍細胞に移行する像は検索したかぎりではみとめられなかった(Fig. 18)。また巨細胞も血管壁そのものと直接に関係はみられなかった。海綿状血管腫のように血管腔がかなり拡張し、嚢胞状として漿膜側に隆起しているのがみられるが、その固有筋にも同様の血管腫様構造を示している(Fig. 10)。その部位では強い炎症反応がみられている。

以上の所見は漿膜側に突出した腫瘍に関するものであったが、次に著明な漿膜側隆起を示さなかったが、粘膜固有層および固有筋層から漿膜まで細胞が増殖し、明らかに腫瘍性に増殖した場合(Fig. 9)の所見について述べる。

この増殖した細胞の方向性をみると、腸粘膜固有層相当部ではかなり複雑で線維芽細胞が束状で種々の方向で増殖している(Fig. 19)が、固有筋層相当部では漿膜にほぼ直角の方向に細胞質が空胞状で、核の明るい細胞が増殖している(Fig. 20)。漿膜に至ると紡錘形の線維芽様細胞が束状に増殖するというよりも storiform 様に配列しているようにみられる(Fig. 21)。また同じように漿膜側に軽度膨隆した別の病巣をみると、粘膜固有層相当部では核は明るく、細胞質が空胞性の膨化した細胞が増殖し(Fig. 22)、固有筋層では同様の細胞が漿膜に直角に、筋組織は破壊されているが、その筋線維の走行にそって増殖しているようにみられる(Fig. 23)。この場合も、漿膜に至ると storiform 様の配列

をしているのがみられた。これらの場合いずれも巨細胞はみられず、核分裂は少く、細胞の異型性は弱かった。

電子顕微鏡的所見

腫瘍細胞は主として長あるいは短紡錘形細胞、類円形、多稜性の細胞、巨細胞で構成されている(Fig. 24~29)。あるいは短紡錘形の線維芽細胞様細胞は、細胞膜は平滑で、核縁も平滑で、ときに分葉状となる(Fig. 25, 26)。核小体は明瞭である。細胞質内にはよく発達した粗面小胞体(rough endoplasmic reticulum, RER)を持ち、内腔は拡張していることが多い。多数の遊離リボソーム(ribosome)を含んでいる。細胞内細線維ははっきりしない。細胞周囲に少量の膠原線維が認められる。

類円形、多稜形の多彩な形態をとる組織球様細胞は、細胞膜が不規則、波状あるいは絨毛様に突出し、円形ないし、腎臓形の核を有し、細胞質内には種々の量のライソソーム(lysosome)を示すdense body、多数の遊離リボソームを含み、粗面小胞体の発達は良くない。Langerhans 顆粒、核内封入体ははっきりしなかった(Fig. 27)。デスモソーム(desmosome)様結合を線維芽細胞様細胞同士、あるいはこれと組織球様細胞との間にみることがある。

単核ないし数個の核をもつ巨細胞はミトコンドリア、遊離リボソーム、粗面小胞体を比較的豊富に持っている(Fig. 24, 28)。比較的小型、円形ないし多稜形の細胞で、細胞質には遊離リボソームが目立つだけで、他の小器官に乏しい未分化間葉細胞が認められる。間質には少量の膠原線維をみる。腫瘍内血管は豊富で、裂隙様の小血管で、部位によって拡張している(Fig. 29)。腫瘍細胞は血管周囲に配列する傾向が認められた。黄色腫瘍細胞は認められなかった。

bizarreな多核巨細胞、多彩な像を呈することより線維肉腫と鑑別できた。横紋の欠如、グリコーゲンの欠如、storiform patternが認められ

ることにより横紋筋肉腫と鑑別できた。また多形性脂肪肉腫との鑑別が問題となるが、明瞭な輪郭を有する多数の空胞の欠如や印環細胞などの典型的な脂肪芽細胞の認められないことにより脂肪肉腫は鑑別できた。

考 察

当別町周辺から採集されたワラビを乾燥してえた未処置粉末飼料を Hirono らが発表したと同じ方法で作製した Br ハガオールドワラビ33%でラットを長期間飼育した本実験で、飼育後188日以降、16例全例に回腸、盲腸管に多発性の腫瘍が発生することをみとめた。死亡による腫瘍の発見および発生頻度は Hirono らが当別町周辺のワラビを使用した実験で、飼育後7ヵ月以降全例に腸管腫瘍が発生したと報告した成績と同じであった。また彼らは26例中1例に膀胱腫瘍が発生することをみているが、本実験では膀胱腫瘍をみとめなかった。また Hirono らが岐阜県山地産ワラビ発癌実験でワラビ飼育後12ヵ月から腫瘍が発生したが、15ヵ月でも全例に腫瘍が発生しておらず、ワラビの発癌性について地域に差異があることを報告しているが、このことは本実験でも確認された。

次に腸管腫瘍の組織学的性状についてみると、Evans and Mason⁴⁾、Pamukcu and Price⁶⁾ は腺腫および腺癌の上皮性腫瘍について記載しているが、非上皮性腫瘍についてはふれていない。Hirono⁸⁾ らは上記の上皮性腫瘍以外に肉腫について報告している。肉腫は漿膜に突出して増殖しており、上皮性腫瘍数の約1/3の割合で発生し、組織学的に巨細胞をもつ線維肉腫であると述べている。われわれがみた漿膜側に球状に増殖した腫瘍も非上皮性間葉系腫瘍であったが、その腫瘍は storiform 状に配列する紡錘形の線維芽細胞様細胞、組織球様細胞および巨細胞をもつ多形性細胞からなり、それらの間に移行像が同一の腫瘍結節内にみとめられ、またそれらの腫

瘍細胞は異型性がつよく、分裂細胞も多く、非定型的分裂像をしばしばみられた。特に組織球様細胞、多形性細胞の多いところではそれらの所見がみられ、storiformの型より悪性度が高いと考えられる。以上の所見は後述するように悪性線維性組織球腫 malignant fibrous histiocytoma, MFHの所見であった。線維肉腫とか、巨細胞をもち異型性の多い、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫と鑑別することができた。

転移は以上のMFHの腹腔内リンパ節転移および腸間膜、脾にも浸潤性増殖を示していた。⁸⁾癌転移はみられなかった。Hirono⁸⁾ らも肉腫のリンパ節肉腫があつたが、癌転移はなかったと述べている。Pamukcu and Price⁶⁾ は癌転移をみとめている。

MFHは近年もっとも注目されている人体の軟部組織腫瘍の1つである。Obrien and Stout¹³⁾ が1964年に初めて悪性線維性黄色腫 (malignant fibrous xanthoma) という標題の症例を報告して以来、諸家によって相次いで発表されている。

MFHの光顕レベルでの病理組織像は次のような特徴があげられている。1) 腫瘍細胞は主として線維芽細胞様細胞、組織球様細胞、およびそれらの中間の形態を示す細胞から成り、他の特殊な方向への明らかな分化を示さない。2) それらの腫瘍細胞には多形性があり、しばしば bizarreな腫瘍性の巨細胞の出現をみる。3) 腫瘍細胞の細胞質内にはしばしば貪食したと思われる微細顆粒状ないし小顆粒状の中性脂肪滴を認める。4) 少なくとも一部に storiform pattern を認める。5) しばしば泡沫細胞や担鉄大食細胞をみる。6) 炎症細胞浸潤を種々の程度に認めるなどである。本研究において、ほぼこの診断基準を満足するものと思われる。

MFHの組織発生に関しては現在なお明確に¹⁴⁾されていない。Kauffman and Stout¹⁴⁾ が1961年に線維性黄色腫の線維芽細胞様細胞は facultative fibroblast であり組織球由来であると述べ

た研究に端を発している。その後 Ozzello¹⁵⁾ は組織培養によってその意見を支持した。線維性組織球腫の細胞を組織培養にうつすと、その初期に出現する細胞は組織球様の細胞であるが、ある条件下では線維芽細胞の特徴である膠原線維産生能を持ちうるというものである。つまり、*facultative fibroblast* としての役割を持つ証拠と考えられる。Merkow¹⁶⁾ らは電顕的に観察し、MFHに見られる種々の形態を有する腫瘍細胞は線維芽細胞としてのいくつかの属性を有する組織であると述べた。Yumoto and Morimoto¹⁷⁾ は骨髓マクロファージより得た細胞系のあるものをヌードマウスに移植することにより、これが線維性組織球腫に特徴的な storiform pattern を示すことを明らかにし、*facultative fibroblast*¹⁸⁾ としての組織球の役割を支持している。Fu^{19, 20, 21)} らは組織培養では Ozzello²²⁾ らの観察とほぼ一致する結果を得たが、電顕的に未分化間葉系細胞に由来する可能性を示した。その後 Fu²³⁾ らの意見に同意する電顕的報告が認められる。²⁴⁾ Weiss and Enginger, 橋本, Enjoji²⁵⁾ らは MFH の中に脂肪肉腫や平滑筋肉腫などの像をもつ例が見られることにより、電顕上で見られた未分化間葉系細胞は多潜能を有すると考えた。Iwasaki²⁵⁾ らは MFH の腫瘍から組織培養を光顕的、電顕的、組織化学的、貪食能、*surface receptor* などの検索を行い、腫瘍細胞は組織球の機能的特徴を持っていることを報告した。本研究において電顕的所見より、線維芽細胞様細胞、組織球様細胞、巨細胞、それぞれの移行形および細胞小器官の乏しい未分化間葉系細胞を認めたことより、MFH は多分化能を有する未分化間葉系細胞に由来し、それらの細胞から線維芽細胞様細胞および組織球様細胞の方向に分化した肉腫であるという説を支持したい。

漿膜側に球状に隆起する MFH について述べたが、漿膜の隆起が軽度で腸管腔側に上皮性の腺腔が残存している場合、腫瘍細胞の形態と走行

は上記の MFH とやや異なる様相を示していた。粘膜固有層、粘膜筋板、粘膜下組織、固有筋層は腫瘍細胞の増殖で、それぞれの固有構造が失われ、粘膜固有層相当部では線維芽細胞が束状に腸管腔に対し縦走あるいは横走また種々の方向に増殖し、固有筋層では筋線維の方向にそって縦走している。一方、核が明るく、円形で、細胞質が空胞状に腫大している腫瘍細胞が、粘膜固有層相当部ではやや乱雑に増殖しているが、固有筋層では縦走している場合もみられる。いずれの場合も漿膜では storiform 様に配列している。従って細胞の異型性は軽度で核分裂細胞は少なく巨細胞はみとめがたく、悪性のものと考えがたいが、これが悪性化すると MFH になるのではなかろうかと考えられる。このように考えると上記の病巣は良性あるいは非定型的線維性組織球腫であることになる。しかし線維性組織球腫としての確証がないので、更に検討しなければならない問題である。

また腫瘍化していない腸管壁をみると、線維芽細胞の増殖した肉芽組織が粘膜固有層から粘膜下さらに固有筋層に侵入しているのがみられる。この固有筋層の肉芽組織が増殖している上皮性腺管を容易に深層に増殖させる要因であるようにみうけられる。この間葉系の反応と上皮細胞の増殖との関係また間葉系反応と線維性組織球などの間葉系腫瘍への進展など間葉系腫瘍発生に関して今後残されている問題である。

結 論

北海道石狩郡当別町周辺から採集されたワラビの乾燥粉末を33%含む飼料でラット（5週令、雄）21匹を長期間飼育すると、飼育後188日から腫瘍死しはじめ、以後全例16匹の小腸に多発性腫瘍が発生していた。腫瘍塊をまきこんだ腸重積がしばしばみられた。腫瘍は回腸の肛門側約10cm、特に回腸末端に多く発生する傾向があった。また少数であったが盲腸にも発生をみと

めた。腫瘍は腸管内にポリープ状に増生する上皮性腫瘍と漿膜側から球状に突出する腫瘍がみられた。漿膜側に隆起した腫瘍は非上皮性間葉系腫瘍あるいは間葉系細胞の増殖を伴いながら増生する上皮性腫瘍であった。また血管腫様構造をもつものもみられた。今回は間葉系腫瘍を形態学的に検索した。

漿膜側球状腫瘍は、腸管側は潰瘍となり、腫瘍表層は種々の程度で炎症反応を示していた。腫瘍細胞は線維芽細胞様細胞の storiform の配列、組織球様細胞、巨細胞をもつ多形性細胞からなり、それぞれに移行がみられ、また細胞の異型性を示し、核分裂、非定型的核分裂が多くみられた。悪性線維性組織球腫 MFH の組織像であった。電顕で線維芽細胞、組織球様細胞のほか、小器官の乏しい未分化間葉細胞もみられた。巨細胞の細胞質はミトコンドリア、遊離リボソーム、粗面小胞体が比較的豊富であった。腹腔リンパ節の転移の1例、腹腔リンパ節および腸間膜、脾への転移の1例がみられたが、いずれも MFH であった。漿膜が軽度で隆起している腫瘍では線維芽細胞あるいは膨化した大食細胞様細胞が粘膜固有層相当部では種々の方向で増殖し、固有筋層では筋線維の方向にそって増殖、漿膜では storiform 様に配列していた。細胞の異型性はよわく、核分裂も少なかった。この腫瘍は MFH の前段階の腫瘍であると考えられた。

文 献

1. Evans, W.G., Evans, I.A., Thomas, A.J., Watkins, J.E., and Chamberlain, A.G. : Studies on bracken poisoning in cattle. IV. Brit. Vet. J., 114;180-198, 1958.
2. Rosenberger, G. and Heeschen, W. : Adlerfarn (*Pteris aquilina*) die Ursache des sog. Stallrotes der Rinder (Haematuria vesicalis bovis chronica), Deut. Tierärztl. Wochenschr., 67;201-208, 1960.
3. Georgiev, R. and Antonov, ST. : Über die Ätiologie der chronischen vesikalen Hämaturie der Rinder. II. Mitteilung Versuche zur Feststellung der Anwesenheit kanzerogener Metaboliten im Harn gesunder Kühe aus einem hämaturiefreien Gebiet bei Fütterung mit Heu aus Hämaturiegebieten, Wien Tierärztl. Wschr., 52;90-94, 1965.
4. Evans, I.A. and Mason J. : Carcinogenic activity of bracken, Nature, 208;913-914, 1965.
5. Pamukcu A.M., Göksoy, S.K., and Price, J.M. : Urinary bladder neoplasms induced by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*) to cows, Cancer Res., 27;917-924, 1967.
6. Pamukcu A.M. and Price J.M. : Induction of intestinal and urinary bladder cancer in rats by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*), J. Natl. Cancer Inst., 43;275-281, 1969.
7. Price, J.M. and Pamukcu, A.M. : The induction of neoplasms of the urinary bladder of the rat by feeding bracken (*Pteris aquilina*), Cancer Res., 28; 2247-2251, 1968.
8. Hirono, I., Shibuya, C., Fushimi, K., and Haga, M. : Studies on carcinogenic properties of bracken, *Pteridium aquilinum*, J.Natl. Cancer Inst., 45;179-188, 1970.
9. Hirono, I., Shibuya, C., Shimizu, M., and Fushimi, K. : Carcinogenic activity of processed bracken used as human food, J. Natl. Cancer Inst., 48;1245-1249, 1972.
10. Hirono, I., Fushimi, K., Mori, H., Miwa, T., and Haga, M. : Comparative study of carcinogenic activity in each part of bracken, J.Natl. Cancer Inst., 50;1367-1371, 1973.
11. Hirono, I., Ushimaru, Y., Kato, K., Mori, H., and Sasaoka, I. : Carcinogenicity of boiling water extract of bracken, *Pteridium aquilinum*, Gann, 69; 383-388, 1978.
12. 広野巖 : 第3章癌原性物質誘発腫瘍の病理 I, 消化管(3)腸, 小田島成和, 橋本嘉幸編 : 化学物質と癌の発生, 201-215, 学会出版センター, 東京, 1978.
13. O'Brien, J.E. and Stout, A.P. : Malignant fibrous xanthoma, Cancer, 17;1445-1458, 1964.
14. Kauffman, S.L. and Stout, A.P. : Histiocytic tumors (fibrous xanthoma and histiocytoma) in children, Cancer, 14;469-482, 1961.
15. Ozzello, L., Stout, A.P., and Murray, M.R. : Cultural characteristics of malignant histiocytomas and fibrous xanthomas, Cancer, 16;331-344, 1963.
16. Merkow, L.P., Frich, J.C., Sliokin, M., Kyreages,

- C.G., and Pardo, M. : Ultrastructure of a fibrosarcoma (malignant fibroxanthoma). *Cancer*, 28; 372-383, 1971.
17. Yumoto, T. and Morimoto, K. : Experimental approach to fibrous histiocytoma, *Acta. Pathol. Jpn.*, 30; 767-787, 1980.
18. Fu, Y.S., Gabbiani, G., Kaye, G.I., and Lattes, R. : Malignant soft tissue tumors of probable histiocyte origin (malignant fibrous histiocytomas). General considerations and electron microscopic and tissue culture studies, *Cancer*, 35;176-198, 1975.
19. Alguacil-Garcia, A., Unni, K.K., and Goellner, J.R. : Malignant fibrous histiocytoma. An ultrastructural study of six cases, *Am. J.Clin. Pathol.*, 69;121-129, 1978.
20. Taxy, J. and Battifora, H. : Malignant fibrous histiocytoma. An electron microscopic study, *Cancer*, 40;254-267, 1977.
21. Tuneyoshi, M. and Enjoji, M. : Postirradiation sarcoma (malignant fibrous histiocytoma) following breast carcinoma. An ultrastructural study of a case, *Cancer*, 45;1419-1423, 1979.
22. Weiss, S.W. and Enzinger, F.M. : Malignant fibrous histiocytoma An analysis of 200 cases, *Cancer*, 41;2250-2266, 1978.
23. 橋本洋 : 悪性線維性組織球腫の臨床病理学的研究, *福岡医誌*, 70 ; 585-613, 1979.
24. Enjoji, M., Hashimoto, H., Tsuneyoshi, M., and Iwasaki, H. : Malignant fibrous histiocytoma. A clinicopathologic study of 130 cases, *Acta. Pathol. Jpn.*, 30;727-741, 1980.
25. Iwasaki, H., Kikuchi, M., Takii, M., and Enjoji, M. : Benign and malignant fibrous histiocytomas of the soft tissues. Functional characterization of the cultured cells, *Cancer*, 50;520-530, 1982.