

退官記念講演
動物を用いた研究に学んだこと

渡 辺 敦 光

広島大学原爆放射線医科学研究所放射線再生医学研究部門
細胞再生学研究分野教授
平成16年3月3日
(於：広島大学医学部第5講義室)



渡邊敦光 教授 略歴

資格 日本毒性病理学会毒性病理専門家

- 昭和39年3月 熊本大学理学部生物学科 卒業
- 昭和41年9月 大塚製薬工場技術部退職
- 昭和43年3月 九州大学理学部生物学科研究生辞退
- 昭和45年3月 九州大学大学院理学研究科修士課程修了発生生物学専攻
- 昭和48年3月 九州大学大学院理学研究科博士課程発生生物学専攻単位取得後退学
- 昭和48年4月 広島大学助手原爆放射能医学研究所
- 昭和49年12月 理学博士 (九州大学)
- 昭和54年3月 医学博士 (広島大学)
- 昭和54年9月～昭和57年3月 アメリカ合衆国ウイソコンシン大学
- 昭和57年5月 広島大学講師
- 昭和60年4月 広島大学助教授
- 昭和60年5月～昭和60年11月 アメリカ合衆国ウイソコンシン大学
- 昭和63年8月～平成元年7月 連合王国パターソン癌研究所
- 平成7年4月～平成17年3月 広島大学医学部講師 併任 (発生遺伝学)
- 平成8年9月 広島大学 教授
- 平成14年4月 広島大学大学院医歯薬総合研究科担当
- 平成16年3月 広島大学退官
- 平成16年4月 広島大学名誉教授

所属学会

日本癌学会
日本放射線影響学会
日本毒性病理学会（評議員）
日本消化器癌発生学会（評議員）
日本未病システム学会（評議員）
日本がん予防研究会

学会賞等

第32回原子爆弾後障害研究会賞
第10回日本毒性病理学会会長賞（指導）
第11回日本毒性病理学会会長賞（指導）
第16回日本毒性病理学会会長賞（指導）
第9回日本消化器病癌学会優秀演題
第13回日本消化器病癌学会優秀演題
第10回未病システム学会奨励賞

広島に来て31年になります。私は人生の約半分の時間を広島で過ごしたことになります。多くの人に助けられ定年を迎えます。この第5講義室は医学部・歯学部2年生の講義「発生遺伝学」の教室で、ここで最終講義が出来ることを晴れがましく思っています。

大学教育

さて私は1964年に熊本大学理学部生物学科を卒業し、直ちに製薬会社に入社しました。ここで多くの同年代の人達と一緒に寮生活をしていました。お互い話していく内に研究に対する考え方が、卒業した学部（理学部、薬学部、農学部、工学部等々）で全く異なっていたと言うことを知り、大変衝撃でした。たった4年間の大学教育でこれ程考え方を変えることが出来ることに驚き、教育の方法がいかに大切であるかということ、ここで初めて認識しました。これも遠い昔のことになってしまいました。

大学院時代

1968年に九州大学大学院修士課程発生生物学専攻に入学し、川上泉教授の門をたたきました。この年、九大では建設中の電算機センターにアメリカの戦闘機が墜落しました。ここは無人生でしたので幸いしたのですが、直ぐ横には理学部や工学部の建物が、一寸手前には、中性子発生装置があり、墜落した場所が悪かったら、大惨事になっていたことでしょう。翌日直ちに学長が先頭に立ち、板付基地の撤去のデモが始まりました。結局この事故で板付基地は撤去され、講義の邪魔は民間航空機のみになりました。又、この事故を契機に九大も1970年の安保闘争に突入し、学園紛争が始まりました。私は熊本大学の学部の時に1960年の安保闘争を経験し、修士で1970年の安保闘争をと2度安保を経験しました。

さて川上先生はシュペーマン以来研究されてきたオーガナイザーの研究で著名な先生です。現在ではアフリカツメガエルで行われているキャップアッセイがあり、必要なときには何時でも実験が出来ます。しかし私達の学生時代では春になるとイモリを採集に行き、自然破壊をやっていたのは私達かも知れませんが、キャンパスの中に自然に近いように作られた池で卵を産ませ、その卵を研究室で発生させ実験に使用していました。囊胚期の予定表皮を切り出し、色々な物質と接触させることで分化が起こります。まさに1年の内で卵の時期しか研究出来ないという状況でした。この系で先生は研究され、退官直前にフナの肺が中胚葉を誘導することを見つけられました。

私に与えられたテーマは鶏胚の水晶体上皮細胞を *in vitro* で培養し、水晶体の繊維化の過程を検討することでした。この当時はウエスタンブロット法がありませんでしたので、培地に ^{14}C アミノ酸を入れ蛋白を合成させた後、免疫電気泳動を行い、ゲルを乾燥し、X線フィルムをコンタクトしたオートラジオグラフを用い、どの蛋白が合成されたかを検討しました。併せて水晶体蛋白の分画を行い、分画には pH が重要であることを見つけ、これが理学博士の学位となりました。

博士課程の最後の年に日本動物学会で水晶体のシンポジウムがあり、岡田節人先生、江口吾朗先生等と御一緒にシンポジストに選ばれ、この水晶体の仕事を話しました。話した人が次の人の座長をするということでしたが、初めての座長にどぎまぎしたことをほろ苦く懐かしく思い出しました。この時演者の御一人でした川崎医科大学の教授で、転出なさった医学部解剖の池田章先生が御一緒でした。当時私は結婚していましたので先生に何処か職がありませんかとお尋ねしましたところ、先生のご紹介で原医研の廣瀬文男先生の下で職を得ることが出来ました。4月から職がなければどうしようと思っていましたので渡りに舟でした。

広島時代

博多での生活から、1973年の春より広島的生活を始めました。博多は物価が安く、人情味もあり大変住みやすいところでしたが、反対に広島では物価が高く、また九州の人と考え方がまるで違いますので、広島に慣れるまで暫く苦労しました。本当にどうしようかと真剣に悩みましたが、住めば都で、今まで、又今後も少しの間住むこととなりました。

廣瀬先生から与えられたテーマは「腸上皮化生を作りなさい」でした。水晶体の仕事も続けたかったのでお話ししましたが駄目で、結局「腸上皮化生」というテーマが私のライフワークとなりました。先生が退官される時医学博士を取るようにとわれ、この腸上皮化生で学位を頂きました。学位記の授与された日が娘の誕生日と重なり感慨深いものがありました。

その後滝沢昭一先生がお辞めになり、放射線誘発癌研究部門に伊藤明弘教授が就任されました。在職中に2回の改組があり、その度に分野の名前が変わり、なかなか他の分野の名前は覚えられませんでした。今でもさらさらとは言えません。伊藤先生は仕事には口を出さず、お金を出してくれて、自由に仕事をさせて頂いたことに感謝しています。更に片岡勝子教授並びに川崎医科大学に行かれた春間賢教授達と一緒に「胃会」を不定期に開き情報を交換すると共に、お互いに言いたいことを言い、たまには一緒に食事をしながら楽しく議論しました。

留学

文部省癌特別研究班より国立がんセンターの副所長であった河内卓先生の下に2ヶ月でしたが内地留学をしました。当時研究所長でした杉村隆先生も同じ研究室にいらっしゃって、毎日1回は研究室を回られ、一人一人に研究の進み具合をお聞きになり、アドバイスを受けてました。先生の考え方を肌で感じ取りました。僅か2ヶ月でしたが充実した期間でした。この間に教えられたことは「偉くなるためには直ぐに返事を書け」とおっしゃっていましたが、先生はそのことを今でも実践されていました。「仕事は楽しくやりなさい」とか、「仕事に自信を持ちなさい」とか「日本発の仕事をしなさい」と色々なことを教わりました。「とんこう」と言うニュックネームもこの時に生まれました。

その後、横路謙次郎先生のご紹介でアメリカのウイスコンシン大学の Kelly H. Clifton 教授の所に2回、合計3年間、更に Clifton 教授の推薦で、イギリスの Paterson 癌研究所の J. H. Hendry 博士の下に1年留学することが出来ました。そのため日本、アメリカ並びにイギリスを比較することが出来ました。外国では言葉のハンディーがありますが、国内ですとそれがなく、その当時国内で最高の研究機関である国立ガンセンターで2ヶ月という短い期間でしたが仕事が出来たことは、外国に行くよりも良いのではないかと思います。しかし学問以外に外国では日本にない、特にアメリカでは雄大な自然を、ヨーロッパでは歴史の重さに感動しました。多くの先生方の考え方を身につけました。更に外国人や分野の異なる日本人と留学先で友人になれたことは私の財産になりました。

動物施設

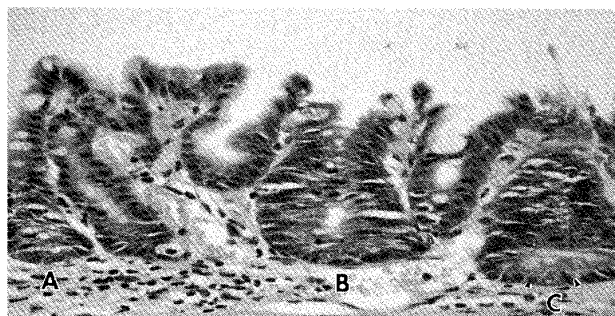
アメリカやイギリス、又、日本でもマウスやラットを用いた動物実験を行いました。私が赴任した当時の動物舎は蜘蛛の巣が張っていて、オートクレーブが無く、空調も良くなく、すきま風の入る、ゴキブリの横行する劇

悪な状態でした。更に悪いことに購入した動物の肝臓に寄生虫がいるような状態でした。滝沢韶一先生の過酸化水素の発癌実験を受け継ぎ、発癌性があることを明らかにしましたが、アメリカから視察が来て、色々クレームが付けられました。この仕事をアメリカの雑誌に投稿しましたが、拒否されました。アメリカに行っても分かったことですが、この当時アメリカでも過酸化水素を多く使っていたので、論文になると社会的不安がつるために、政治的な判断で拒否されたと今でも思っています。

その後横路所長の時に研究所に動物施設が出来るとなり、設計から運営まで任されました。次に蔵本所長の折、今までの歴史をまとめると施設の管理を辞めさせてあげると言われ、そうしたのですが、一時的には辞めさせて頂きましたが、動物施設は所内措置で放射線先端医学研究施設の一部となり、更に生命科学支援センターとして全学の施設に組み込まれ、結局、退官まで面倒を見るはめとなりました。退官と同時に今度は本当にお役ご免となります。4月から若い人の考え方で動物施設が運営され、素晴らしい成果が出ることを期待しています。

腸上皮化生

さて私の動物を用いた研究ですが、ラットの胃部にX線を局所照射することで腸上皮化生が生じます(第1図)。線量が少ないと腸上皮化生は出来ませんが逆に線量が多いと胃癌が生じます(第1表)。そこで10Gyを3日間隔で2回照射することで腸上皮化生のみを誘発する系を見いだしました。経時的にはまず、胃の中に杯細胞が認められ(A型)、続いてパネート細胞の無い腸型腺窩が出現し(B型)、最後にアルカリフォスファターゼ活性を持ち(図2)、パネート細胞を持つ腸上皮化生(C型)が出現します(第2表)。小腸の発生過程でもパネート細胞

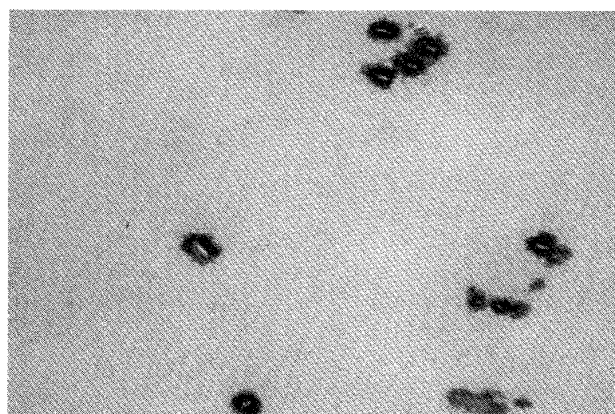


第1図 胃粘膜の中に杯細胞を認めるA型、パネート細胞のない腸型腺窩であるB型並びにパネート細胞を持つC型を示す。矢印(↑)はパネート細胞

第1表 線量と腸上皮化生並びに胃癌の発生

Materials and Methods				
Animal: CD (SD) Jcr				
X-ray: 1Gy x 4 (1 week interval) Whole body				
5Gy x 6 Gastric region				
10 Gy x 2 (3day interval)				
20 Gy x 1				
20 Gy x 2 (1 week interval)				
Dose (Gy)	Interval	No of metaplastic gland		Gastric tumor (%)
		ALP*	Total*	
1 x 4	week	0	0	0
5 x 6	1 day	4	14	0
10 x 2	3day	35.7±8.4	13.7±2.1	0
20 x 1	week	8.2±12.8	14.3±13.0	10
20 x 2	week	nd	16.6±16.1	48

*:ALP: Alkaline phosphatase-positive intestinal metaplasia; Total: Histological findings



第2図 アルカリフォスファターゼ活性を持つ腸型腺窩

第2表 10Gy 2回照射による腸上皮化生の経時的発生

Matrialas and Methods					
CD (SD) male rats					
10Gy x 2 (3 days interval)					
Gastric region					
After irradiation	Erosion	Type A	Type B	Type C	ALP
(weeks)					
1	+	1.5±0.6	0	0	0
2	-	0.6±0.9	0.6±0.9	0	0
8	-	1.4±0.5	1.8±1.3	0.6±0.9	13.2±14.0
24	-	0.4±0.9	3.6±1.5	0.4±0.5	14.0±11.1

第3表 性差による腸上皮化生の発生

Materials and Methods				
Both sexes CD rats				
X-rays 10Gy x 2				
Group	Intact			
	Gonadectomy+Testosterone			
	Gonadectomy+DES			
	Gonadectomy			
Autopsy 6 months after the first irradiation				
Group	Sex	Treatment		ALP (%)
		Gonadectomy	Hormone	
1	Male	-	-	83
2	Male	+	-	44 ^a
3	Male	+	Testosterone	64
4	Male	+	DES	28 ^{a,b}
5	Female	-	-	21 ^a
6	Female	+	-	41 ^c
7	Female	+	Testosterone	46 ^c
8	Female	+	DES	19

^a:Significantly different from Group 1 value (P<0.01),
^b:Group 3 value (P<0.01), ^c:Group 5 value (P<0.01)

第4表 10Gy 2回照射による腸上皮化生の誘発

Strain	ALP	Histological			Total
		Type A	Type B	Type C	
Hos:Donryu	46±56	1.1±2.1	10.2±13.2	1.0±2.2	12.1±16.1
SHR/NCrj	30±19	1.5±2.2	9.1±5.3	0.5±0.9	11.1±5.8
Crj:CD (SD)	17±19	0.3±0.7	7.3±8.2	0.6	8.3±9.5
Crj:Donryu	16±19	2.4±2.1	7.1±6.9	0.3±0.7	9.8±7.6
F344 /DuCrj	12±14	2.8±1.8	6.4±5.4	0.6±1.1	9.8±7.3
WKY/NCrj	10±10	0.9±0.8	1.8±2.4	0.5±1.1	3.1±3.5
Slc:SD	9±11	1.7±2.9	4.4±5.6	0.1±0.3	6.2±8.2
Slc:Wistar	6±8	0.2±0.4	6.9±6.6	0.8±1.3	7.9±7.1
Lew/Crj	5±9	1.0±1.5	2.4±2.1	0.4±0.7	3.8±3.5
Crj:Wistar	3±4	2.2±2.7	7.2±6.8	0.5±0.9	9.9±9.3
Buffalo	2±6	1.5±2.4	4.0±4.8	0.6±0.9	6.0±6.8
F344 /NScl	1±2	1.3±1.8	3.0±2.4	0.5±0.9	4.7±3.9
ACI	1±2	2.9±5.9	1.2±2.1	0	4.1±7.4
Copenhagen	0.4±1	0.4±1.0	0.9±1.3	0.2±0.7	1.5±2.2

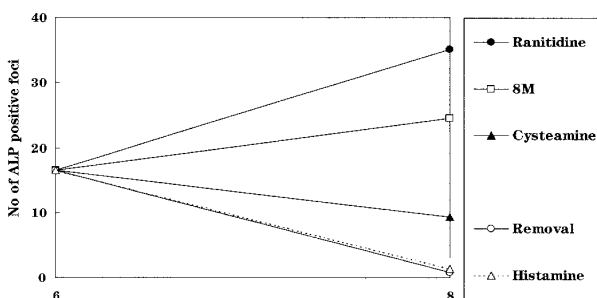
Mongolian gerbils negative
 Mouse negative

は生後かなり後に出現しますのでこのモデルも発生過程と同じ経過をたどっていると思われます。腸上皮化生は雌が雄に比べて感受性が低く、性腺摘出と男性ホルモン投与で多く出現すること、並びに雄の精巣摘出で腸上皮化生の誘発が減少し、女性ホルモンを投与することで減少します(第3表)ので、性ホルモンが腸上皮化生誘発に大切な役割を担っていることが判明しました。マウス、スナネズミ、猿等には同様に照射しても腸上皮化生は出来ませんので、種差があることも見いだしました(第4表)。更に系統差があることも分かりました。又イヌには Paneth 細胞がありませんので、イヌやマウスやスナネズミを使っていたら腸上皮化生は誘発できなかつたと思います。いつも使っている一番安いラットを用いたことが幸いして、腸上皮化生を誘発出来たわけで、大変にラッキーだと思います。私自身は今まで多くの業績が出せたこと、健康に恵まれ退官まで勤めることが出来た事はある意味では運に恵まれていたのではないかと考えています。

実験を始めた頃は腸上皮化生が胃癌の前癌病変だと考えられていました。特に杉村隆先生はそのオピニオンリーダーでしたので、この線にそって実験していましたが、動物実験で得られた結果はその考え方にはまったく合いませんでした。

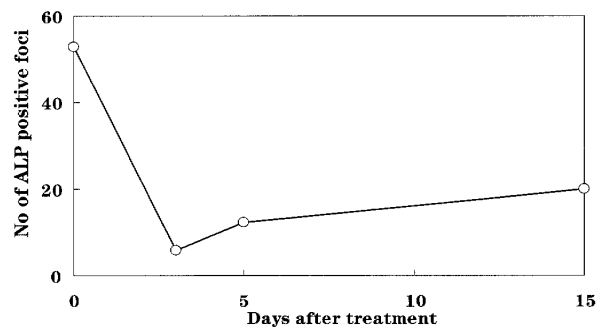
この当時ヒドラの性分化には培養液の炭酸ガス分圧が関係していると考えられていました。そこで腸上皮化生を起こす原因として胃酸ではなかろうかと考えて実験を行いました。酸の分泌を減少させますと腸上皮化生が多く出現し、ヒスタミンや唾液腺摘出を行い酸の分泌を高めますと腸上皮化生が減少しました(第3図)。腸上皮化生を誘発させヒスタミン投与と唾液腺摘出を行いますと3日目では化生の数は急激に減少し、その後、徐々に数が

Animals: 5-week-old Crj:CD male rats
 X-rays: 10Gy x 2
 Chemicals: Ranitidine (200mg/kg in diet)
 Cysteamine (0.1% in drinking water)
 Histamine (in silicone tube)
 Operation: Removal of salivary gland



第3図 種々の処理による腸上皮化生の誘発

Animals: 5-week-old male CD rats
 X-rays: 10 Gy x 2
 Diet: 1%NaCl
 Chemical: Histamine in silicone tube
 Operation: Removal of salivary gland



第4図 ヒスタミン処理並びに唾液腺摘出による腸上皮化生数の推移

増加しました（第4図）。その間上半分が腸で下半分が胃というキメラの腺管が観察されました（第5図）。又、学生だった木下健君達がなにか実験の手伝いがしたいとのことで、ボランティアで動物の手術をやってくれました。彼に胃底腺の摘出（第6図）と更に胃部照射を行ってもらいますと、単独よりも同時に両者の処理を行った方が腸上皮化生は多く出現しました（第5表）。この仕事で木下君達は医学部で表彰されました。

又、胃腸吻合術や、幽門形成を行ったり、5日目の動物にMNNGを投与しますと、胃底腺が扁平上皮に置き換わり、この様な動物を検索すると腸上皮化生が出現していました（第7図）。更にヒトの胎児の胃に杯細胞の存在が報告されていますので、ラットの新生仔の胃を検索しますと、酸の分泌が少ない時期には二糖類分解酵素（第6表）や杯細胞が認められました（第8図）。即ち胃は始めは小腸で固形物を食べ始めると急速に壁細胞の分化が始まり、酸の分泌が高まり、胃へと分化すると思われました（第9図）。そこで腸上皮化生は酸の分泌が減少すると、胃の幹細胞が腸の方に分化し、酸の分泌が増加すると、胃へ再分化する可逆的な現象であるという作業仮説を提案しました（第10図）。この考え方を私達の系で田辺製菓の湯浅君がX線誘発腸上皮化生は遺伝子の変化が無いことを証明してくれて東大の獣医の学位を拝受されました。

この様な考え方は胃の素人だったから出来たのではないかと考えています。玄人でしたらこの様な考え方は出来なかったのではないかと思います。

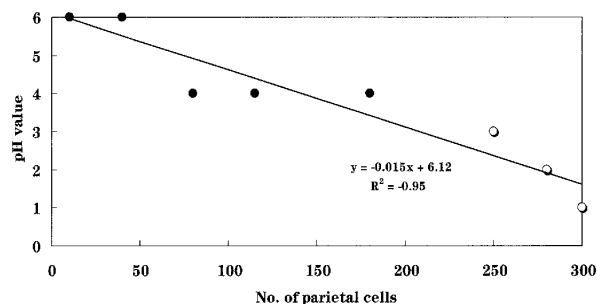
第5表 胃底腺摘出と X 線照射による腸上皮化生の誘発

Treatments	Effective No	BW	Incidence ALP	No of ALP
Operation	22	595.0±74.8**	17 (77.3)	9.5±12.4 ^a
Operation+X-ray	19	557.5±61.7**	14 (73.7)	42.5±71.3**
X-ray	20	635.7±36.1	18 (90.0)	28.0±22.9
Control	19	655.4±61.1	14 (73.7)	4.9±5.1

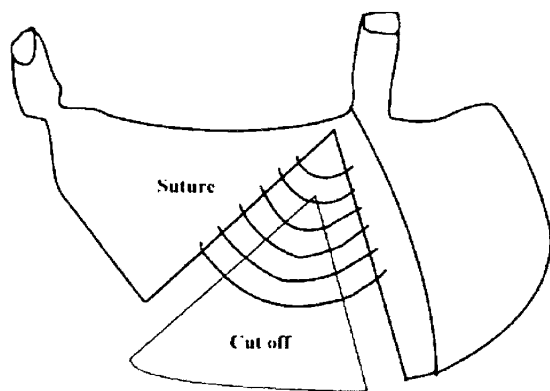
** : Significantly different from the Control value (P<0.01)
^a : Significantly different from the Operation+X-ray value (P<0.01)

第6表 胃発生過程での pH 値、二糖類分解酵素の活性と杯細胞

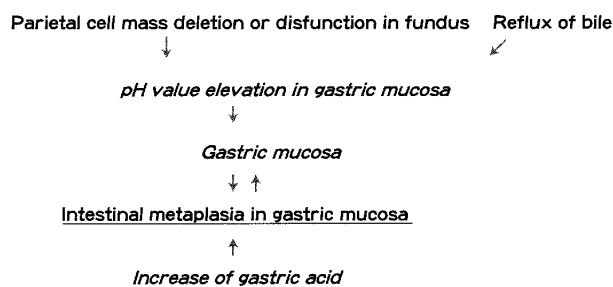
Age in days	pH value	Enzyme activity				Goblet cells
		Lactase	Trehalase	Sucrase	Maltase	
0	6	+	-	-	+	+
1	6	+	-	-	±	+
3	4	+	±	-	+	+
5	4	+	-	-	±	+
7	4	+	+	+	±	+
14	3	+	-	-	+	-
28	2	-	-	-	-	-
180	1~2	-	-	-	-	-



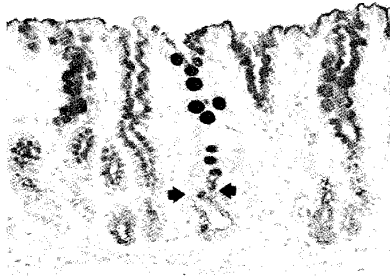
第9図 pH 値と杯細胞の出現 (●杯細胞あり, ○杯細胞なし)



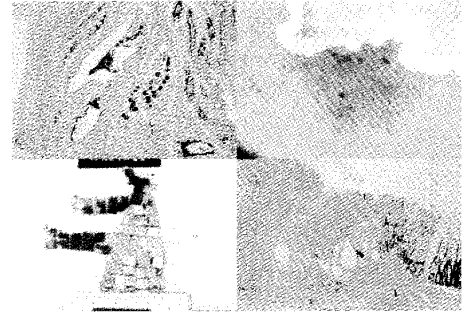
第6図 胃底腺摘出術の模式図
 胃底腺を切り取り縫合する。



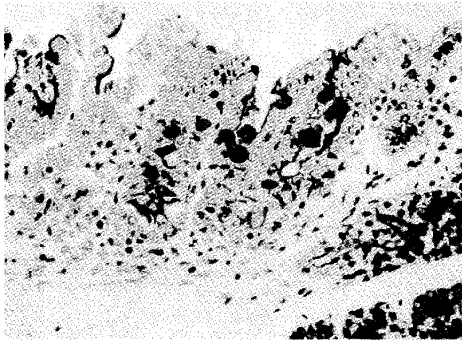
第10図 腸上皮化生発生の作業仮説



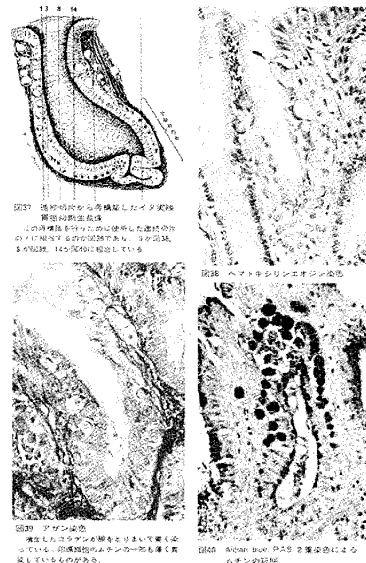
第5図 上部が腸, 下部が胃の形質を持つキメラの腺膵



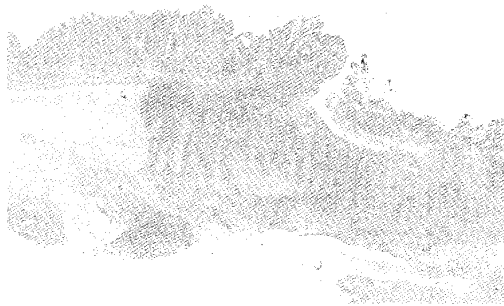
第7図 種々の処理による腸上皮化生の誘発。
左上:幽門形成術, 右上:生後5日目のラットに
MNNG 1回投与後の胃粘膜, 下段:胃腸吻合術。



第8図 生後7日目のラットの胃部に見られた杯細胞



第11図 藤田哲也先生の「慢性胃炎と癌」に掲載された犬の印環細胞癌発生



第12図 低カタラーゼマウスの胃部照射により生じた印環細胞癌



第13図 X線と食塩投与で生じた動脈炎

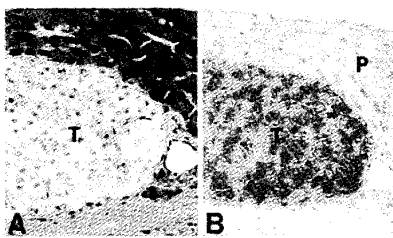
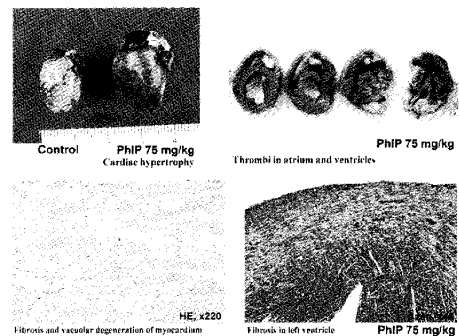


Figure 1 (a) Haematoxylin and eosin staining, and (b) immunohistochemistry for insulin of pancreatic tumour. The pancreatic tumours induced by X-irradiation morphologically resemble giant islets of Langerhans. The arrangement of the tumour cells is characterized by cell columns and clusters surrounded by a fibrous capsule (a). The tumour cells show intense immunoreactivity for insulin (b). P, normal pancreatic tissue; T, tumour tissue.

第14図 X線照射で生じたインスリノーマ



第15図 PhIP 投与による拡張性心筋症

動物実験

話を少し変えて、ライフワークとしての細胞分化の研究を進めている間に学位の論文を手伝ったり、お金儲けの仕事をしたりと、色々な仕事を行い、思わぬ結果が出て来て吃驚もし、嬉しく思いました。

ラットに NBU を投与しますと白血病が出来ます。当時大北教授がイヌに白血病を作ろうと思われ、NBU の投与が行われました。しかし白血病は出来ず、多発性に胃に印環細胞癌が出来ました。この胃を検索しますと印環細胞癌の初期像が見つかり班会議でその結果をお話しますと、京都府立大学の藤田哲也先生が大変興味を持って下さって、先生の宿題報告の一部に使って頂きました (第11図)。人の印環細胞癌は若い女性に多く、人工や自然流産でホルモンのバランスが急に乱れると起こると考えられていますので、ラットでも作ろうと思ひホルモン処理を行いました。成長ホルモンは分化型胃癌を増加させたにすぎませんでした。この仕事は安東保海君の学位となりました。又、プロゲステロンも同様な働きがありました。私の研究室では過酸化水素の発癌性を調べていた関係上、低カタラーゼマウスを維持していますが、このマウスはカタラーゼ活性が低く、反対に SOD 活性が高く、数種の酸化還元酵素も C3H と異なることが分かりました。更に数種の酸化還元酵素に系統により差があることが判明しました (第7表)。この仕事は薬学科の杉原数美、北村繁樹先生と共同研究を行いました。この低カタラーゼマウスの胃部に X 線照射を行いますと少数ではありますが印環細胞癌が出現しました (第12図)。この印環細胞癌の発生機構は未だ解決されていませんので今後の研究課題です。

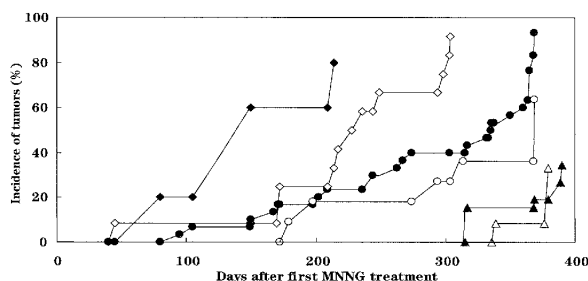
私自身、腸上皮化生を始めるとき前癌病変と信じていました。食塩は胃癌のプロモータと考えられていますので、そこで腸上皮化生を作り食塩を投与しました。しかし胃癌は出来ず、結節性動脈炎が偶然の出来事として誘発されました (第13図)。この仕事は保健学科の梶原博毅教授と共著で発表しました。腸上皮化生を誘発した動物を長く飼いますと、膵臓のランゲルハンス島に腫瘍が出来ることを見いだしました。この腫瘍はインスリノーマでした (第14図)。この仕事を発展させ城戸聡一郎君は学位を取得しました。更に腸上皮化生から胃癌を作ろうと思ひ18週齢の Donryu ラットに焼けこげの一種の PhIP を投与しますと拡張型心筋症が誘発されました (第15図)。

この仕事が石村美祐君の学位となりました。この系は広島発の研究となると思われますので、現在吉栖正生教授と共同研究を行っています。

第7表 低カタラーゼマウスの酵素活性

Strain	Catalase k/mg protein	SOD NU/mg protein	N ¹ - methnico tinamide oxidase nmol/min /mg protein	Benzalde hyde oxidase nmol/min /mg protein	Xanthine oxidase	Xanthine dehydro genese
C ^b _g	23.7	234	0.377	6.72	0.372	1.76
C3H	57.0	159	0.469	3.64	0.607	2.35

SD ラットの新生仔に ACI の貰い乳を行いますと、誘発する腫瘍の発生時期が異なること (第16図) や、大塚製薬工場の小原正之君は青色発光ダイオードが癌細胞を抑制したり、転移を抑えたり、メラニン合成を阻害することを見いだしました。彼の第1報は Japanese Journal of Cancer Research に受理され、93巻第5号の表紙として採用されました。なぜ青い光のみがこの様



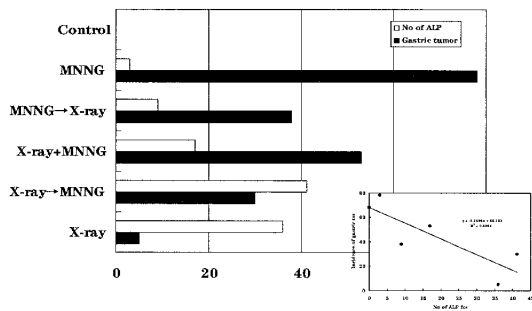
第16図 貰い乳による腫瘍発生

◇: MNU 投与, ○: MNU+MNNG, △: MNNG 投与。黒印: 母親 SD ラット, 白印: 母親 ACI ラット。

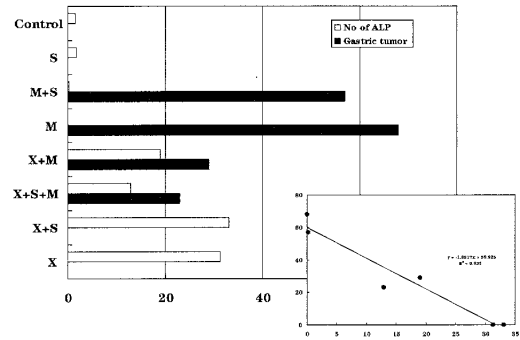
第8表 大腸粗抗原を投与後直腸に X 線照射後の腫瘍発生

Materials and Methods			
Animals: A/HeJ mouse			
Crude extract: 2 times (1 week interval)			
2 weeks before X-irradiation			
X-ray: Pelvic region 20 Gy x 2			
Incidences (%) of rectal adenocarcinomas developing after local X-irradiation			
Group	Weeks after the last X-irradiation		
	6-32	33-84	6-80
Immunized+X-ray	21/34 (62) ^a	4/11 (36)	25/45 (56) ^b
X-rays	4/22 (18) ^a	8/14 (57)	12/36 (33) ^b
Non-irradiation	0/16	0/35	0/51

^a: Significantly different (P<0.01), ^b: Significantly different (P<0.05)



第18図 SD ラットに X 線で腸上皮化生を誘発し MNNG 処理を行うと腸上皮化生と胃癌は逆相関を示す。



第19図 Wistar ラットに X 線照射し MNU 投与を行うと腸上皮化生と胃癌とは逆相関を示す。

なことを行うかと言う作用機序に大変興味があり、今後の研究が待たれます。

学位の指導で寺田和貴君が大腸の抗原感作を行い、直腸に X 線照射を行いますと直腸腫瘍が早く認められました (第8表)。このようなことは胃でも生じます。また高橋忠照君は放射線誘発マウス肝腫瘍の発生で、小原正之、白木克尚君はお味噌で、また上海からの留学生陸恵梅君は灵芝で各々学位が授与されました。

米国ウイコンシン大学での仕事はラットの甲状腺を単細胞にし、それを脂肪組織に移植しますと、濾胞を作り、更に動物を飼育しますと癌が出来ます (第17図) が、放射線をかけた細胞と照射していない細胞を混ぜて移植しますと、癌を抑制する事が判明しました。更にパターンソン癌研究所の Hendry 博士の下で甲状腺の仕事の続けました。ここは昔から幹細胞の考え方のメッカで消化管の幹細胞で有名な Potten 博士とコンタクトが出来、この2カ所の留学で幹細胞の考え方を更に発展することが出来ました。

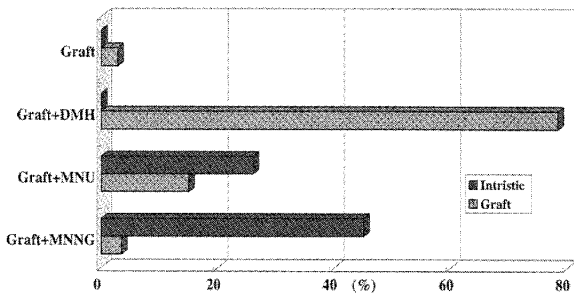
腸上皮化生から胃腫瘍並びに移植による細胞分化

さて話を元に戻し、今度は腸上皮化生から癌が出来る場合の作用機序の実験を行いました。腸上皮化生を作り胃癌を誘発する MNNG (第18図) や MNU 投与 (第19図) を行いまして、胃粘膜からは癌が生じますが、腸上皮化生から癌は生じませんでした。即ち腸上皮化生を持つ胃には癌が少なく、逆に癌を持つ胃には腸上皮化生が

少ないことが判明しました。そこで腸上皮化生から胃癌が出来る場合に大腸型の腸上皮化生から生じるという疫学的な結果があることから、大腸を胃に移植することを思いつきました。大変困難な手術を試行錯誤しながら中川義基君がやってくれました (第20図)。この系を使い MNNG や MNU を投与しても移植部位には癌は出来ませ

Materials and Methods

- Animals: 8-week-old F344 rats
- Transplantation: Colon into fundus
- MNU: Orally, 100ppm for 16 weeks
4 weeks after surgery
- MNNG: Orally, 100ppm for 16 weeks
- DMH: Im, 20mg/kg, weekly for 29 weeks
- Autopsy: 12 months after initial chemical treatment



第21図 大腸を胃に移植後発癌物質を処理し、移植部位に見いだされた腫瘍の発生

第9表 SD ラットに腸上皮化生を誘発し DMH 処理後に胃にみられた腫瘍

Group	Effective no of animals	Group tumors	Large intestinal tumors		Small intestinal tumors	Other tumors	
			Incidence	No. of tumor/rats			
1	30	2 (7) ^{a)}	21 (70)	1.48±0.93**	4.99±4.00	9 (30)	9 (30) ^{b),*}
2	23	0	16 (70)	2.32±1.14**	7.00±6.35	12 (52)	1 (4) ^{c),*}

^{a)} One animal had 2 lesions
^{b)} Two Sarcomas, 1 Leukemia, 1 Squamous cell carcinoma, 1 Pancreatic tumor, 1 Fibroadenoma, 1 Mammary tumor
^{c)} One Seminoma
^{**} Significantly different (P<0.01)
^{*} Significantly different (P<0.05)

第10表 Wistar ラットに腸上皮化生を誘発し DMH 処理後胃に認められた腫瘍

Group	Effective No of animals	Mean survival	Total tumor	Gastric	Small intestine	Large intestine	Other
Xray+ DMH	23	318±49	17 (74)	5 (22)	3 (13)	9 (39) ^{a,b}	5 (22) Kidney 3 (13) Pancreas 3 (13) Adrenal 1 (4) Lung Sarcoma
Xray	12	328±47	7 (58)	0	0	0	5 (42) ^a Pancreas 2 (17) Adrenal
DMH	12	308±72	8 (67)	0	2 (17)	5 (42)	1 (8) Hemangioma
Control	9	334±32	0	0	0	0	0

^a: Significantly different from Control value (P<0.05)
^b: Significantly different from Xray value (P<0.05)

第11表 F344 ラットに腸上皮化生を誘発し AOM 並びに PhIP 投与で認められた胃腫瘍

Group	Animal No	Mean survival	Total	Gastric	Tumor		
					Colon	Number	Pancreas
X-ray+PhIP	25	356±32	16 (64) ^a	4 (17) Ad-ca 1 ATP 3	2 (8) ^b	0.08±0.28	8 (32)
X-ray+AOM	29	337±50	27 (93) ^a	4 (10) Ad-ca 3 ATP 1	23 (79) ^{a,b}	1.31±0.9	75 (17)
X-ray	32	365±11	15 (47)	0	0	0	12 (38)
PhIP	25	364	4 (16) ^a	0	3 (12)	0.12±0.33	0
AOM	28	359±10	23 (79) ^a	0	21 (72)	1.17±1.04	0
Control	30	364	0	0	0	0	0

^a: Significantly difference from X-ray group (P<0.05)
^b: Significantly difference (P<0.05)
^c: Significantly difference (P<0.01)

第12表 色々な臓器を胃底腺並びに十二指腸へ移植後の移植片の分化

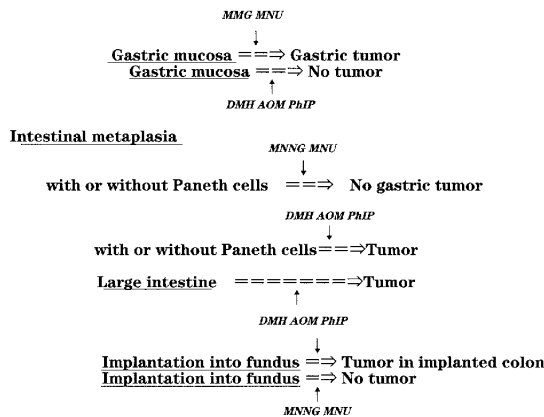
Graft	Transplantation site	
	Fundus	Duodenum
Esophagus	Changed into glandular stomach	Changed into duodenum
Diaphragm	Not found	Not found
Trachea	Cartilage remained	Changed into duodenum
Bladder	Changed into glandular stomach	Appearance goblet cells and alkaline phosphatase

第13表 膀胱を十二指腸へ移植した際の経時的分化

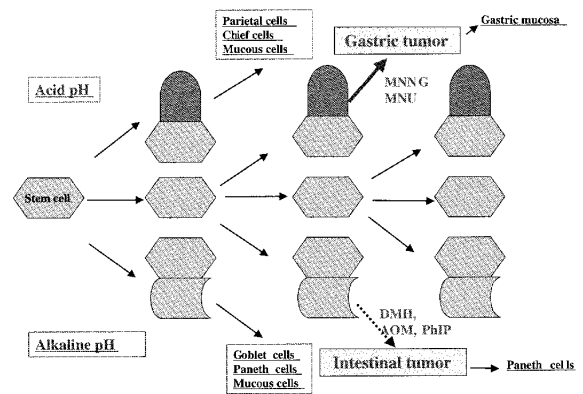
After operation	Appearance goblet cells	Appearance alkaline phosphatase in cytoplasm	Remain tranplanted epithlium
1 month	No	No	Yes
3 months	Yes (little)	Yes	Yes
6 months	Yes (strong)	Yes	Yes
12 months	Yes (little)	No	Yes

んが、大腸癌を発生する DMH を投与すると移植部位に癌が出来ました (第21図)。このことで彼は学位を授与され、この移植の方法が代々受け継がれています。

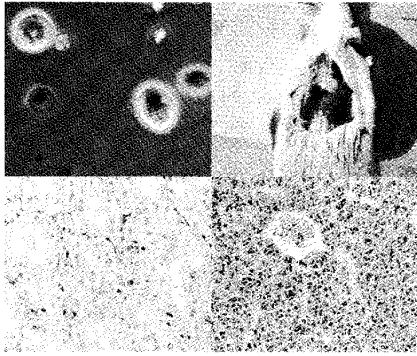
そこでこの考え方を発展させるために再度実験を計画し、X 線で誘発した腸上皮化生に DMH を投与しますと少数例ですが胃に大腸の癌が発生しました (第22図, 第9表, 第10表)。この事は腸上皮化生から胃に癌が出来る場合大腸の発癌物質が作用して癌化する場合がありますと判明しました。更に最近柏原昌次君により AOM や PhIP でも腸上皮化生を持つ胃に大腸の形質を持つ胃に出来る癌もあることが確かめられました (第23図, 第11表)。



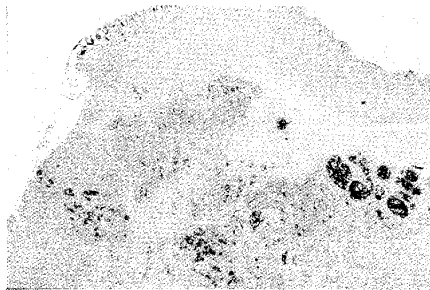
第24図 腸上皮化生や移植した大腸の発癌物質への感受性



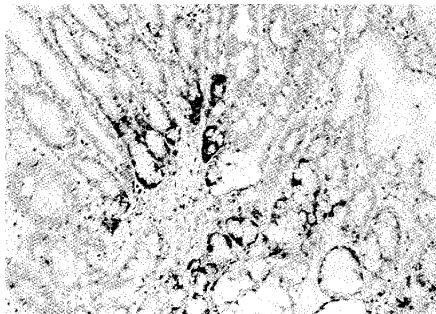
第25図 胃の幹細胞の分化過程



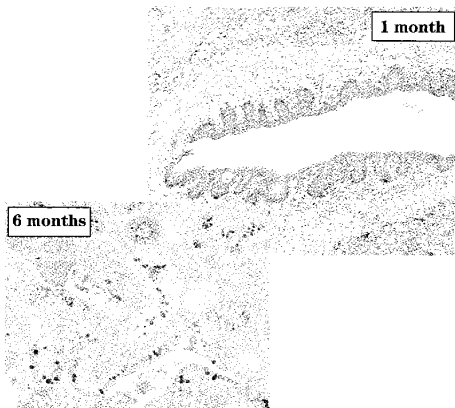
第17図 甲状腺単離細胞の移植による腫瘍発生
 左上：単離細胞，右上：脂肪組織へ移植，左下：移植
 1ヶ月目 濾胞形成を行っている，右下：移植部位で
 の腫瘍形成，血管内へ腫瘍細胞が浸潤している。



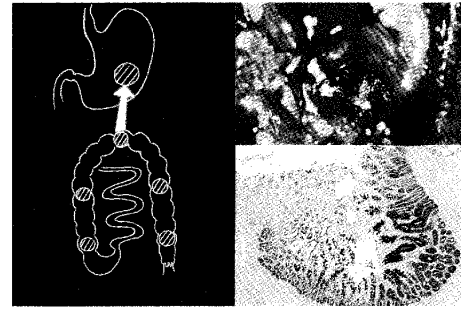
第22図 移植部に見られた印環細胞癌



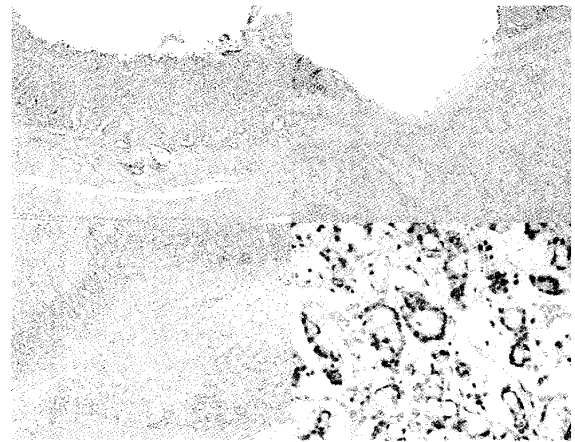
第26図 胃を十二指腸へ移植するとペプシノーゲン
 活性を持ち，杯細胞を持つキメラ腺窩が認められる。



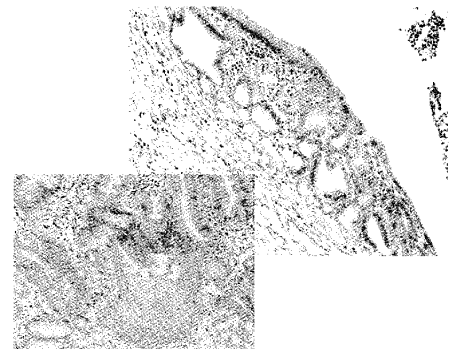
第29図 膀胱を十二指腸へ移植後，移植片は十二指
 腸への分化を示す。



第20図 中川義基による大腸組織の胃への移植
 右下：移植1年後の大腸組織，一部は胃へ分化を示唆
 している。



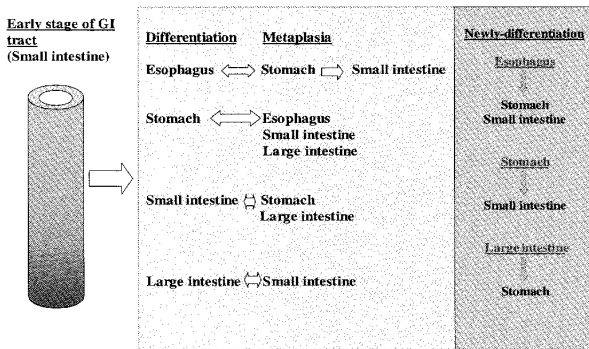
第23図 F344 ラットに腸上皮化生を誘発し AOM 投
 与で胃に認められた腫瘍。
 左上：前癌病変，右上：印環細胞癌，左下：高分化化
 腺癌，右下：CDX2 抗体染色，核は陽性である。



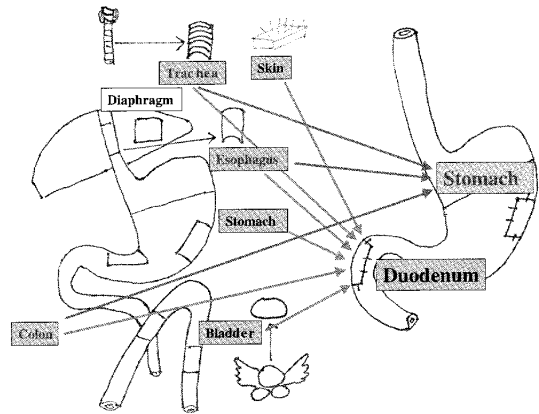
第27図 食道を胃並びに十二指腸へ移植すると各々
 の移植部位へ分化する。



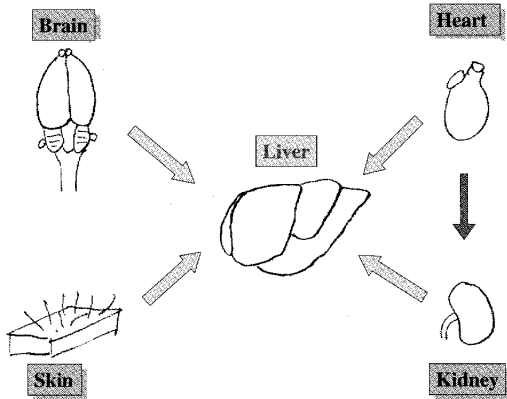
第30図 GFP ラットの皮膚を十二指腸へ移植し 1ヶ
 月後 GFP 抗体で染色された十二指腸。



第28図 消化管での分化



第31図 色々な臓器を十二指腸に移植し、分化が確認された例を示す。



第32図 幹細胞の分化の可能性

第24図に腸上皮化生や移植した部位での発癌物質の感受性を示しています。腸や腸上皮化生は胃癌を誘発するような発癌物質では癌は生じませんが、大腸を癌化するような発癌物質で癌化するという大変当たり前のことが判明しました。この様なことをふまえ、幹細胞の分化の模式図を第25図に示しています。このたった1枚の図を作るために31年という年月がかかりました。

次に大腸を胃に移植した場合、大腸が胃に分化している像を見いだしました。そこで胃を十二指腸に移植しますとペプシノーゲン活性を持ち、なお杯細胞を持つキメラの腺窩が見いだされました(第26図)。これは胃が十二指腸という環境で腸に分化したことを示唆しています。更に医学部の学生だった片山正典君に食道を胃や十二指腸に移植して貰いますと、食道が胃や腸に分化しました(第27図)。この事から消化管の幹細胞は消化管という環境

でその環境に適応して分化するという考えに至りました(第28図)。

そこで消化管以外の臓器を消化管に移植するとどうなるかという実験を行おうとしているときに医学部の小南陽子、権理奈、西亀正代、林昌臣君、歯学部の佐々木淳、白石美帆君達が手術の手伝いをしてくれました。器用に動物の手術してくれたお陰で膀胱が腸に分化することが判明しました(第29図、第12表)。Donor か何かでマークが出来ないかと考え、雄を雌に移植しましたが、ラット Y 染色体のペインティングプローブは無く、どうしようと悩んでいました。丁度その折、非常勤講師でお見えになっていた国立がんセンターの落谷孝広博士がそれでは「私が GFP ラットを作ってあげよう」とおっしゃって頂き、GFP ラットを作って貰いました。これを Donor として移植しますと膀胱は当然ですが、気管や皮膚も消化管に移植することにより消化管に分化する事が判明しました(第30図)。すなわち臓器にある幹細胞は環境が替わることによりその環境に分化する、言い換えるとその環境の色に染まると言うこととなります(第31図)。即ち生体内に存在する幹細胞は多分化能を持っていますが、その場所に居る限りはその場所の分化を続けますが、移植という方法で場所を変えることにより移植した部位に速やかに分化する能力があることが分かりました(第32図)。この事は落谷孝広博士のラットと若い学生諸君との協力なくしてはこの様な新しい研究の芽は出なかったと考えています。この様な新しい再生医療の芽を若い諸君が育て、花を咲かせ、実らせる事を切に希望します。

おわりに

私はこの様に動物実験を通して多くのことを学びました。動物実験では体力勝負です。体を動かさなければ結果は出ませんし、いくら考えても動物に起こるイベントは私達の考えるよりも更に上を行っています。動物に起こる様々なイベントは私達の時間よりもはるかに速く動いています。生体にある幹細胞が移植という手段を使うことにより移植部位に分化することが出来る、すなわちどんな色にも染まるという可塑性があることを動物実験を通じて学びました。

この31年間楽しく仕事をやることが出来ました。最後にご援助、支えて下さいました多くの皆様に深謝します。