

イヌの膀胱腫瘍における自然史の病理組織学的検討

I. 加齢イヌの膀胱粘膜上皮の病理組織学的検討

奈良県立医科大学泌尿器科学教室

常 深 邦 彦

HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF NATURAL HISTORY OF BLADDER TUMOR IN DOGS I. HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF THE URINARY BLADDER EPITHELIUM IN AGED DOGS

KUNIHICO TSUNEMI

Department of Urology, Nara Medical University

Received July 29, 1993

Abstract: Apparently normal urinary bladder of beagle dogs of both sexes were examined histopathologically. Materials were obtained from fifty autopsied aged beagle dogs and six autopsied young beagle dogs. Changes of urinary bladder epithelium were classified into five types: Brunn's nest, squamous metaplasia, lymphocytic infiltration, epithelial hyperplasia, and atypia. Brunn's nests in aged dogs were found at all ages and in both sexes. Squamous metaplasia in aged dogs was found in 25.0 per cent of males and 50.0 per cent of females. Scattered lymphocytic infiltration in aged dogs could be observed in 18.0 per cent of both sexes. Epithelial hyperplasia and atypia in aged dogs were found in 82.0 per cent and 28.0 per cent of cases, respectively; however, no difference between sexes was found. Sites of predilection for Brunn's nests were the trigone and anterior wall; however, those for other types of lesion were not found. As for young dogs, Brunn's nests were found in 66.7 per cent of both sexes, and sites of predilection were the trigone and anterior wall; the other lesions were not observed. These chronic changes of urinary bladder epithelium in aged beagle dogs should be considered in the bladder carcinogenesis and natural history of bladder tumor in dogs.

Index Terms

urinary bladder epithelium, aged changes, beagle dogs

緒 言

ヒト膀胱癌は乳頭状非浸潤癌と非乳頭状浸潤癌の2つに大別されるが、この同一臓器において、発育と進展様式をまったく異なる癌について、未だその自然史が十分に解明されていないのが現状である。これまでにイヌおよび小動物のマウス、ラットを用いて、実験的膀胱腫

瘍モデルの開発ならびに発癌過程に影響を及ぼす諸因子の検討が進められてきたが、ヒト膀胱癌の実験モデルとしてはヒト膀胱癌の自然史に類似した組織発生と進展形式を有することが必要である。われわれは、イヌを用いてヒト膀胱癌と類似した乳頭状非浸潤癌および非乳頭状浸潤癌の発生に成功し¹⁾、さらに、膀胱上皮内癌 (Carcinoma *in situ*: CIS) の発生も観察し得た²⁾。したがっ

て、イヌを用いる実験的膀胱腫瘍モデルは、ヒト膀胱癌にもっとも類似したモデルと考えられる。わが国のヒト膀胱癌の好発年齢は60から70歳代で30%強と最も多く認められ、尿路粘膜上皮腫瘍のない高齢者における剖検例の膀胱粘膜上皮の変化についても報告はみられる³⁾。しかし、イヌの加齢ともなう膀胱粘膜の変化については報告されていない。そこで今回、実験動物として使用頻度の高いビーグル犬の加齢イヌの膀胱粘膜を病理組織学的に観察し、粘膜変化の分類、分布およびそれら変化の性と年齢による相関を検討した。

材料および方法

CSK リサーチパーク株式会社 (伊那市) で繁殖犬 (種犬) として使用されていた8~13歳齢のビーグル犬50頭 (雄: 8頭, 雌: 42頭) を用いた。これらのイヌは山間部のいわゆる良質の環境下で、生後離乳時より屠殺されるまでイヌ用固型飼料 (CD-5; 日本クレア株式会社, 東京) のみで飼育されており、生前、膀胱に異常を示す臨床所見は認められず、外科的処置などはまったく施されていないものである。また、これとは別に同繁殖所で飼育された8および9カ月齢のビーグル犬6頭 (雄: 3頭, 雌: 3頭) を比較対照群として用いた (Table 1)。これらのイヌはすべて、ベントバルビタール系麻酔剤 (ネプタール) で深麻酔し、安楽死させた後、開腹し膀胱を全摘出した。膀胱は、直ちにホルマリン固定液を経尿道的に注入して膨らませた後、尿道部を結紮し同固定液に浸漬固定した。固定後、膀胱は「泌尿器科・病理膀胱癌取り扱い規約」⁴⁾ に準じて切開し、組織学的標本のために両尿管口を結ぶ線に平行で約5mm間隔の連続平行剖面切片を作製した。1頭につき44から80切片を切り出し、パラフィン包埋後、薄切しH・E染色を施し病理組織学的に検索した。

なお、膀胱の組織学的分類は「Atlas of Tumor Pathology (AFIP)」⁵⁾ および「泌尿器科・病理膀胱癌取り扱い規約」⁴⁾ を基にして行った。

Table 1. Age and sex distribution of cases

Age	Male	Female	Total
~1	3	3	6
8	0	3	3
9	3	12	15
10	3	21	24
11	0	6	6
12	0	0	0
13	2	0	2
Total	11	45	56

結 果

1. 粘膜上皮の分類

粘膜上皮の変化は以下の5タイプに分類された。なお、表層に大型の被蓋細胞を持ち、およそ3層の移行上皮からなる正常粘膜上皮をPlate 1に示した。

(1) ブルン細胞巢

移行上皮細胞より成る病巣が粘膜固有層内に、結節性に増殖している。しかし構成細胞には異型を認めない (Plate 2)。

(2) 扁平上皮化生

膀胱粘膜上皮は部分的に扁平上皮で置換されている。しかし扁平上皮の重層化がみられる例は稀で、角質化は認められない (Plate 3)。

(3) リンパ球浸潤

粘膜固有層へのリンパ球の浸潤が限局性あるいはびまん性に認められた。粘膜面に肉眼で異常を認めた3例では、リンパ濾胞の形成がみられ、明中心を持つものも認められた。また、形質細胞の浸潤も多数みられた (Plate 4)。

(4) 単純性過形成

膀胱粘膜上皮は4から6層に多層化しているが細胞異型はほとんど認められない (Plate 5)。

(5) 異型性

上皮細胞に異型を認めるが、膀胱粘膜上皮の乳頭状発育などはみられない。上皮の単純性過形成がみられる部位に比較的良好に認められた (Plate 6)。

2. 粘膜上皮変化の年齢および性との相関 (Figs. 1& 2)

ブルン細胞巢は加齢イヌの雌雄で100%にみられた。また、弱齢イヌでは雌雄ともに3頭のうち2頭 (66.7%) にみられた。

扁平上皮化生は加齢イヌでは50頭のうち23頭 (46.0%) にみられ、雄で8頭のうち2頭 (25.0%)、雌で42頭のうち21頭 (50.0%) にみられた。雄では10歳齢でのみ認められたが、雌では9歳齢よりみられるようになり12頭のうち7頭 (58.3%) に、10歳齢で21頭のうち9頭 (42.9%) に、11歳齢では6頭のうち5頭 (83.3%) にそれぞれ認められた。雌では加齢により発生率が増加した。また、弱齢イヌでは雌雄ともに認められなかった。

リンパ球浸潤は加齢イヌでは50頭のうち9頭 (18.0%) でみられ、雄で8頭のうち1頭 (12.5%)、雌で42頭のうち8頭 (19.0%) にみられた。雄では10歳齢で3頭のうち1頭 (33.3%) でみられたが、その他の年齢での

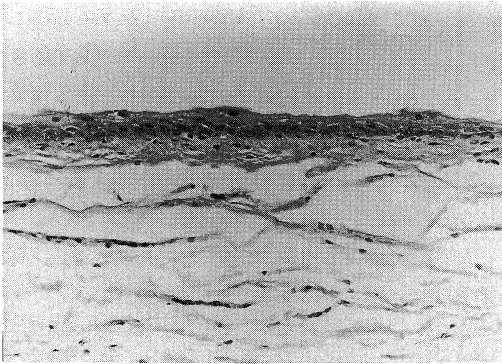


Plate 1. Normal transitional epithelium. Note the large superficial umbrella cells stretching over many cells of the adjacent lower epithelial layer. (H & E. $\times 200$)

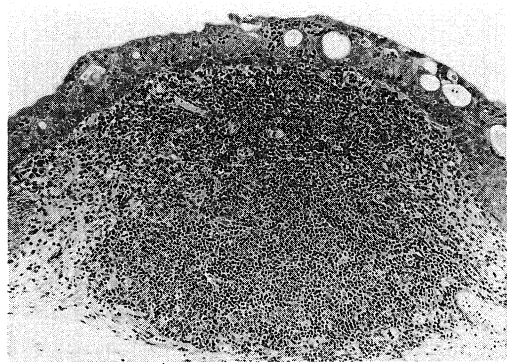


Plate 4. Lymphocytic infiltration. Formation of lymphoid follicle in the lamina propria and reactive proliferation are observed at the epithelium. (H & E. $\times 100$)

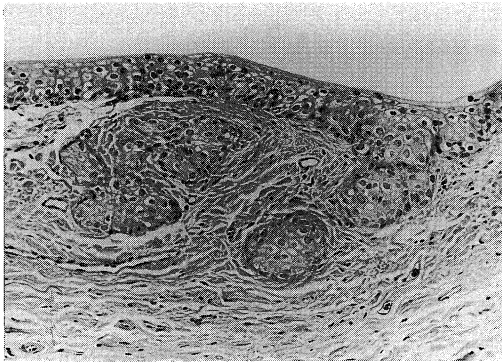


Plate 2. Typical Brun's nests. Nest of transitional cells lying in the lamina propria. (H & E. $\times 200$)

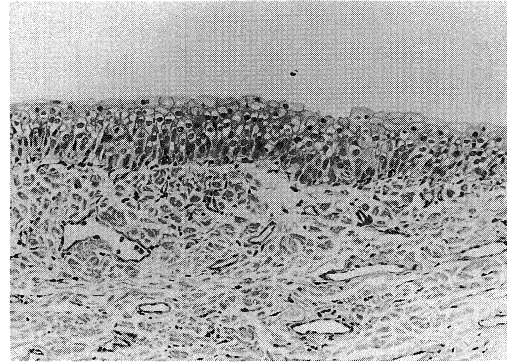


Plate 5. Simple hyperplasia. Number of cell layers of the transitional epithelium increased, but no atypia is noted. (H & E. $\times 200$)

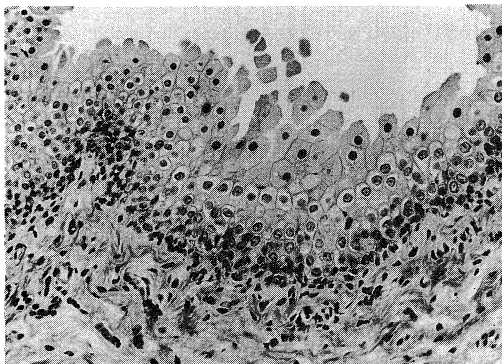


Plate 3. Squamous metaplasia. The surface urothelium is replaced by squamous epithelium but it is not keratinized. (H & E. $\times 200$)

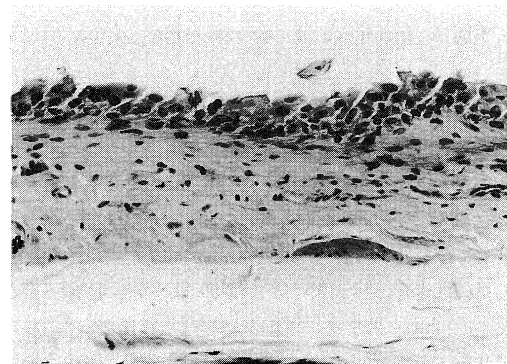


Plate 6. Atypia. Irregular transitional epithelium composed of large nuclei. (H & E. $\times 200$)

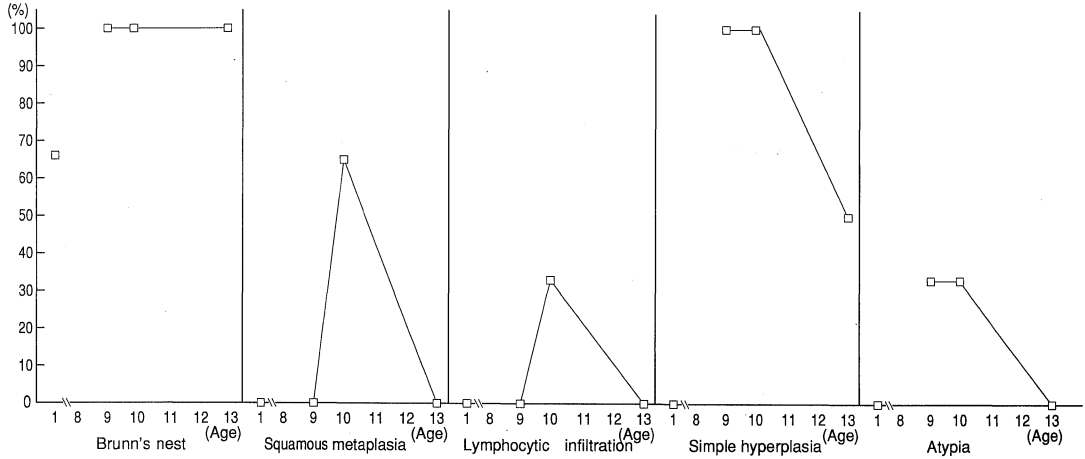


Fig. 1. Incidence of various lesions of the urinary bladder epithelium as related to age on male dogs.

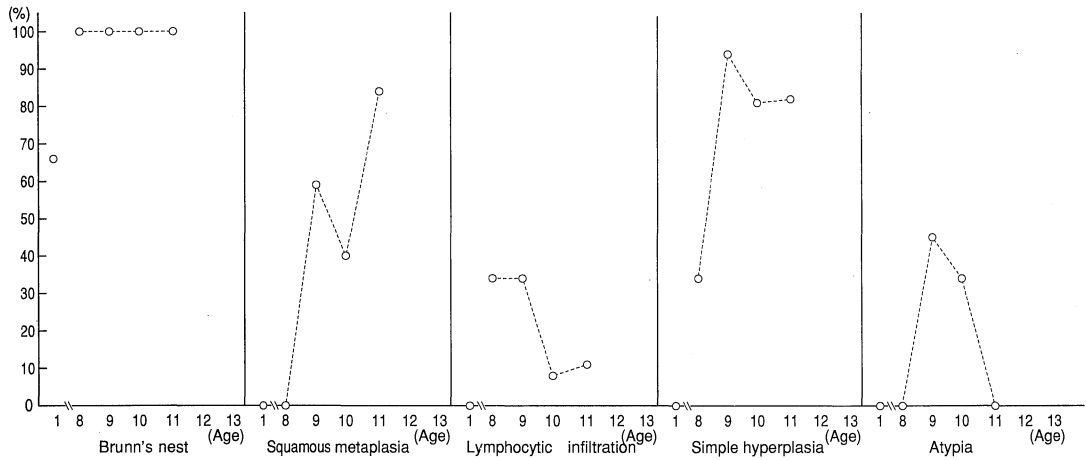


Fig. 2. Incidence of various lesions of the urinary bladder epithelium as related to age on female dogs.

発生はなかった。雌では8歳齢で3頭のうち1頭(33.3%)、9歳齢で12頭のうち4頭(33.3%)、10歳齢で21頭のうち2頭(9.5%)および11歳齢で6頭のうち1頭(16.7%)でそれぞれみられた。また、弱齡イヌでは雌雄ともに認められなかった。

単純性過形成は加齡イヌでは50頭のうち41頭(82.0%)にみられ、発生率に雌雄差は認められなかった。雄では9および10歳齢で全例に、13歳齢では2頭のうち1頭(50.0%)にみられ、また雌では8歳齢で3頭のうち1頭(33.3%)、9歳齢で12頭のうち11頭(91.7%)にみられ、10および11歳齢ではそれぞれ21頭のうち17頭(81.0%)、6頭のうち5頭(83.3%)でみられた。弱齡イヌでは雌雄ともに認められなかった。

粘膜上皮の異型性は加齡イヌでは50頭のうち14頭(28.0%)にみられ、雌雄差は認められなかった。また、雌雄ともに9歳および10歳齢で33.3~41.7%に認められたが、雌の8歳齢、11歳齢および雄の13歳齢では認められなかった。弱齡イヌでは雌雄ともに認められなかった。

3. 粘膜上皮変化の分布 (Table 2)

ブルン細胞巢は加齡イヌでは膀胱粘膜のすべての部位に認められ、好発部位は三角部(42/50頭; 84.0%)と前壁(38/50頭; 76.0%)であり、頂部での発生率は少なかった(7/50頭; 14.0%)。ブルン細胞巢の認められた弱齡イヌ4頭では頸部および右側壁を除く全ての部位に認められ、好発部位は三角部(3/4頭; 75.0%)と前

Table 2. Distribution of various lesions of the urinary bladder epithelium on aged dogs(%)*

Location	Brunn's nests	Squamous metaplasia	Lymphocytic infiltration	Simple hyperplasia	Atypia
Neck	33 (66.0)	1 (4.3)	3 (33.3)	4 (9.8)	0 —
Trigone	42 (84.0)	3 (13.0)	4 (44.4)	23 (56.1)	2 (14.3)
Posterior wall	16 (32.0)	10 (43.5)	5 (55.6)	20 (48.8)	6 (42.9)
R-lateral wall	26 (52.0)	8 (34.8)	4 (44.4)	16 (39.0)	4 (28.6)
L-lateral wall	30 (60.0)	4 (17.4)	5 (55.6)	18 (43.9)	6 (42.9)
Dome	7 (14.0)	12 (52.2)	4 (44.4)	19 (46.3)	3 (21.4)
Anterior wall	38 (76.0)	9 (39.1)	6 (66.7)	25 (61.0)	9 (64.3)
Total	50(100.0)	23 (46.0)	9 (18.0)	41 (82.0)	14 (28.0)

* Percentages represent the proportion of cases of each given lesion found at the various sites.

壁(3/4頭; 75.0%)であった。

扁平上皮化生は加齢イヌのみに認められ、特に好発部位は見られなかったが、頂部(12/23頭; 52.2%)、後壁(10/23頭; 43.5%)および前壁(9/23頭; 39.1%)で発生率が高かった。

リンパ球浸潤は加齢イヌのみに認められ、雄では1頭の頸部にみられたのみである。雌では好発部位はみられず、4頭ではほぼ全域に、他の4頭で全粘膜面の1~2カ所にそれぞれ認められた。

単純性過形成は加齢イヌのみに認められ、好発部位は認められず、41頭のうち頸部(4頭; 9.8%)を除く粘膜全面に39.0~61.0%の発生率で認められた。

上皮の異型性は加齢イヌのみに認められ、粘膜面のどの部位にも認められたが、前壁での発生率(9/14頭; 64.3%)が比較的高かった。

なお、すべての膀胱で外表に異常が認められるものはなかったが、3頭で粘膜全面に粟粒大・黄白色の結節性変化が認められ、一部に出血がみられた。その他、粘膜面に異常を認めた個体はなかった。

考 察

8から13歳齢の加齢イヌおよび1歳齢未満の弱齢イヌの雌雄について光学顕微鏡による膀胱粘膜上皮の変化を観察した。

弱齢イヌでは雌雄ともにブルン細胞巣が66.7%に認められ、三角部と前壁での発生率が高かったが、その他の変化は観察されなかった。

加齢イヌではいくつかの変化が認められた。ブルン細胞巣はもっとも多くみられた変化で、雌雄ともに100%の発生率であった。この増殖性的変化は粘膜面でのどの部位においても認められたが三角部および前壁において発生率が高かった。ブルン細胞巣はヒトの観察結果にお

いて、特に前癌病変を示唆する変化ではないとされているが^{6,7)}、ビーグル犬においても弱齢イヌで雌雄ともに66.7%の発生がみられており、良性的増殖性変化であると考えられる。発生率についてはヒトで93.6%⁷⁾、加齢イヌでは100%と類似しており、好発部位では三角部と前壁⁷⁾と一致しているが、頂部での発生率は加齢イヌでは14.0%と少なかった。また、組織像ではイヌでは充実性のものしか認められず、その腔内にコロイド様物を認めたものはなく、ヒトでみられたような扁平上皮化した細胞巣⁸⁾もみられなかった。

扁平上皮化生は加齢イヌの約半数例に認められたが、好発部位はみられず頂部、後壁および前壁での発生率が高かった。また、雌では雄の2倍例に認められ、加齢と共に発生率の増加傾向がみられた。ヒトにおいては三角部での好発が観察されているが^{6,7,8,9)}、加齢イヌでは頂部(52.2%)、後壁(43.5%)および前壁(39.1%)で発生率が高かった。この好発部位の相違は直立歩行するヒトと四足歩行するイヌとでの、膀胱の姿勢の違いによる尿との接触およびその刺激を受ける部位が異なることに起因することも考えられる。また、組織像では加齢イヌでは移行上皮は部分的に扁平上皮で置換されてはいるが、重層化がみられる例は稀で角質化はみられず、ヒトにおいて認められたものと比較して程度の軽いものであった。扁平上皮化生はエストロゲン刺激^{6,9)}あるいは慢性感染⁹⁾が原因で起こるとする説も否定できないが、加齢イヌの場合、23頭の扁平上皮化生例のうち4頭にリンパ球浸潤をともなう例がみられたのみである。また、エストロゲンは測定しなかったものの加齢とともに発生率が増加しており、Ito⁷⁾らの報告にあるように扁平上皮化生の発生はホルモン刺激や慢性感染によるよりも他の因子による可能性も否定できない。

リンパ球の浸潤は加齢イヌの9頭に認められたが、そ

のうち3頭では肉眼的に異常を認めた個体で、その組織像は濾胞性膀胱炎 (Follicular cystitis)⁵⁾であった。また、1頭では粘膜固有層に濾胞の形成はないものの全面にリンパ球の浸潤および小集簇を認めた。他の5頭では全粘膜の1~2カ所の粘膜固有層にリンパ球の小集簇を認めた程度であった。好発部位については特定の部位はなかった。濾胞性膀胱炎の発生はヒトでは稀である⁵⁾と言われているが、本研究においても3頭と少数例ではあるが、加齢イヌの場合ヒトで高率にみられる腺性膀胱炎や嚢胞性膀胱炎は認められておらず、ヒトとイヌとの一つの相違点と考えられる。また、リンパ球浸潤と他の粘膜変化との間に明確な関連性はみられなかった。ヒトで高率にみられるこの変化が加齢イヌでは18.0%と低率であったことは、これらの加齢イヌの生後より一定の調整された飼育環境によるものであることが考えられる。すなわち、これら加齢イヌにおいては、生活環境中に膀胱に対する発癌物質や発癌プロモーター^{10,11,12,13)}が数多く存在する環境に暴露されているヒトに比べ、極めて良質の飼育環境下で飼育されていたことなどにより発癌の危険因子に暴露されることなく、その尿性状^{14,15)}や免疫状態に良い影響を与えたのではないかと考えられる。

単純性過形成は加齢イヌでは普通に見られた変化で、好発部位および雌雄差は認められなかった。リンパ球浸潤との相関も明確ではなく、慢性的炎症性変化との関連も考えられなかった。膀胱粘膜の単純性過形成はラットを用いた実験的膀胱腫瘍研究^{16,17)}において、正常粘膜との可逆性の変化として認識されているところであるが、本研究においては弱齢イヌで認められず加齢イヌで高率に認められており、その成因にはリンパ球浸潤と同様、加齢による尿性状、ホルモン活性および免疫状態の変化が関与していると考えられる。

粘膜上皮の異型性は加齢イヌの14頭に認められた。いずれも移行上皮の異型性であり、ブルン細胞巢の移行上皮にはみられなかった。単純性過形成がみられた粘膜上皮の一部によく認められており腫瘍への移行を予期させる変化であるが、発癌との関連性については不明である。

なお、弱齢イヌで認められた粘膜の変化は、ブルン細胞巢のみであり他の変化は認められなかった。したがって扁平上皮化生、リンパ球浸潤、単純性過形成および異型性などの変化は加齢による変化であることが示唆された。

乳頭状非浸潤性と非乳頭状浸潤性の2者に大別されるヒト膀胱癌の発生と進展様式の研究において実験動物モデル、とくにビーグル犬の有用性については既に報告さ

れている¹⁸⁾。本研究は、今後再生産の困難な加齢イヌでのデータであり、イヌを用いた実験的膀胱腫瘍研究において極めて重要な基礎的データを提供するものと考えられる。

結 語

加齢ビーグル犬50頭および1歳齢未満の弱齢ビーグル犬6頭の膀胱粘膜の変化を病理組織学的に観察し、変化の分類、分布および性と年齢による相関を検討した。

- 1) 粘膜の変化は、ブルン細胞巢、扁平上皮化生、リンパ球浸潤、単純性過形成および異型性に分類された。
- 2) ブルン細胞巢は加齢イヌの雌雄全例で膀胱粘膜のどの部位にもみられたが、好発部位は三角部と前壁であった。
- 3) 扁平上皮化生は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち23頭(46.0%)にみられたが好発部位はみられず、雌42頭のうち21頭(50.0%)、雄で8頭のうち2頭(25.0%)の発生率であった。また、雌では加齢とともに発生率が増加した。
- 4) リンパ球浸潤は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち9頭(18.0%)にみられたが、好発部位および性差は認められなかった。
- 5) 単純性過形成は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち41頭(82.0%)にみられたが、好発部位および性差はみられず、雌では加齢とともに発生率が増加した。
- 6) 粘膜上皮の異型性は加齢イヌの雌雄全体50頭のうち14頭(28.0%)にみられ、好発部位および性差はみられなかった。また、雌の8歳齢、11歳齢および雄の13歳齢では認められなかった。
- 7) 弱齢イヌではブルン細胞巢が雌雄各々66.7%にみられ、好発部位は三角部と前壁であった。その他の変化は認められなかった。

以上、加齢イヌの膀胱粘膜の病理組織学的変化についての観察結果は、今後、イヌを用いた実験的膀胱腫瘍の研究の基礎的資料になりうるものと考えられる。

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜りました恩師岡島英五郎教授に深甚なる謝意を捧げると共に、御校閲を賜りました第2病理学教室の日浅義雄教授ならびに腫瘍病理学教室の小西陽一教授に深謝致します。また、直接御指導頂きました馬場谷勝廣講師ならびに本研究を行うにあたり多大なる御協力を頂きました奈良県立医科大学泌尿器科学教室の諸兄に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Okajima, E., Hiramatsu, T., Hirao, K., Ijuin, M., Hirao, Y., Babaya, K., Ikuma, S., Ohara, S., Shiomi, T., Hijioaka, T. and Ohishi, H. : Urinary bladder tumors induced by N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine in dogs. *Cancer Res.* **41**: 1958-1966, 1981.
- 2) Samma, S., Uemura, H., Tabata, S., Iwai, A., Nakatsuji, F., Matsuki, H., Babaya, K., Hirao, Y. and Okajima, E. : Rapid induction of carcinoma in situ in dog urinary bladder by sequential treatment with N-methyl-N'-nitrosourea and N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Gann* **75**: 385-387, 1984.
- 3) Shirai, T., Fukushima, S., Hirose, M., Ohshima, M. and Ito, N. : Epithelial lesions of the urinary bladder in three hundred and thirteen autopsy cases. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* **78**: 1073-1080, 1987.
- 4) 日本泌尿器科学会, 日本病理学会: 泌尿器科・病理膀胱癌取扱い規約. 第1版, 金原出版, 東京・大阪・京都, 1980.
- 5) Koss, L. G. : Tumors of the urinary bladder. *Atlas of Tumor Pathology, Fascicle 11.* Washington, Armed Forces Institute of Pathology, 1975.
- 6) Wiener, D. P., Koss, L. G., Sablay, B. and Freed, S. Z. : The prevalence and significance of Brunn's nests, cystitis cystica and squamous metaplasia in normal bladders. *J. Urol.* **122**: 317-321, 1979.
- 7) Ito, N., Hirose, M., Shirai, T., Tsuda, H., Nakanishi, K. and Fukushima, S. : Lesions of the urinary bladder epithelium in 125 autopsy cases. *Acta Pathol. Jpn.* **31**: 545-557, 1981.
- 8) Packham, D. A. : The epithelial lining of the female trigone and urethra. *Br. J. Urol.* **43**: 201-205, 1971.
- 9) Widran, J., Sanchez, R. and Gruhn, J. : Squamous metaplasia of the bladder. *J. Urol.* **112**: 479-482, 1974.
- 10) Fukushima, S., Thamavit, W., Kurata, Y. and Ito, N. : Sodium citrate: A promoter of bladder carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* **77**: 1-4, 1986.
- 11) Fukushima, S., Kurata, Y., Shibata, M., Ikawa, E. and Ito, N. : Promoting effect of sodium o-phenylphenate and o-phenylphenol on two-stage urinary bladder carcinogenesis in rats. *Gann* **74**: 625-632, 1983.
- 12) Cohen, S. M., Arai, M., Jacobs, J. B. and Friedell, G. H. : Promoting effect of saccharin and DL-tryptophan in urinary bladder carcinogenesis. *Cancer Res.* **39**: 1207-1217, 1979.
- 13) Ito, N., Fukushima, S., Shirai, T. and Nakaniishi, K. : Effects of promoters on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in the rat. *Environ. Health Perspect.* **50**: 61-69, 1983.
- 14) Ito, N., Makiura, S., Yokota, Y., Kamamoto, Y., Hiasa, Y. and Sugihara, S. : Effect of unilateral ureter ligation on development of tumors in the urinary system of rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Gann* **62**: 359-365, 1971.
- 15) Oyasu, R., Iwasaki, T., Matsumoto, M., Hirao, Y. and Tabuchi, Y. : Induction of tumors in heterotopic bladder by topical application of N-methyl-N-nitrosourea and N-butyl-N-(3-carboxypropyl)nitrosamine. *Cancer Res.* **38**: 3019-3025, 1978.
- 16) 伊東信行: 膀胱癌一発生と進展並びにその修飾. *日病会誌.* **75**: 3-37, 1986.
- 17) Fukushima, S., Murasaki, G., Hirose, M., Nakanishi, K., Hasegawa, R. and Ito, N. : Histopathological analysis of preneoplastic changes during N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. *Acta Pathol. Jpn.* **32**: 243-250, 1982.
- 18) 岡島英五郎: 図説臨床癌シリーズ, No. 4, 膀胱癌, 発生と進展—3 イヌ. メジカルビュー社, 東京, p136-148, 1986.