

[原著] Rous 肉腫ウイルスと 3-Methylcholanthrene との併用効果

中 村 和 成*

(昭和48年2月16日受付)

要 旨

Rous 肉腫ウイルス Schmidt-Ruppig 株 (SR-RSV) と 3-Methylcholanthrene (MCA) とを併用して、マウス、ウズラを処置し、両者の協同作用の有無を検討した。

生後3~4日のマウスに0.075 mgのMCAを接種した場合、MCA単独処理群に比して、MCA, RSV重複処理群においてより早く腫瘍の発生が認められた。しかしRSV単独処理では腫瘍の発生は認められなかった。MCA単独、および重複処理によって生じたマウスの肉腫を摘出してin-vitroの培養に移して継代し、形態、増殖のパターンなどを比較したが、両者に著しい相違点は認められなかった。重複処理によって生じた肉腫の培養細胞はニワトリヒナ翼下に接種することによってRSVゲノムの存在することが証明された。

ふ化後1カ月前後のウズラの翼下にRSV単独、あるいはRSVとMCAとを重複接種した場合にも、腫瘍は一旦生じた後退縮し、腫瘍抽出液中に感染性RSVは証明されなかった。他方、MCA単独処理群では、3カ月の観察期間中、腫瘍の発生は認められなかった。

Keywords: Rous 肉腫ウイルス, SR-RSV, 化学発癌剤, メチルコラントレン。

略語一覧: SR-RSV: Rous 肉腫ウイルス Schmidt-Ruppig 株, BS-RSV: Bryan Standard 株, MCA: 3-Methylcholanthrene, MEM: minimum essential medium.

緒 論

Rous 肉腫ウイルス (RSV)¹⁾ は Zilber, Svet-Moldavskie らの研究以来、ほ乳動物にも発癌性のあることが明らかにされた²⁾。とくに、その亜株である Schmidt-Ruppig 株 (SR-RSV) は宿主域が広く、ニワトリ以外にハムスター、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、サルの新生児に接種すると、肉腫の発生が認められる³⁾。

一方、3-Methylcholanthrene (3-MCA) は dibenz-anthracene, benzopyrene などとともに多核芳香炭化水素系の発癌剤に属し、種々のほ乳動物に対する強い癌原性は早くから知られている⁴⁾。

化学発癌剤と腫瘍ウイルスとの協同作用についての報告は以前より認められるが⁵⁾、その作用機序については

現在のところ明確ではない⁶⁾。RSV と MCA による協同作用についての最初の報告は、1942年の Carr の報告に始まり⁷⁾、それ以後、重複処理による研究が2, 3報告されているが⁸⁾⁹⁾、それらの報告はいずれもRSVの本来の宿主であるニワトリを用いて検討したものである。そこでRSVとMCAとの重複処理実験を主としてマウスを用いて行ない、つぎにSR-RSVに対してニワトリより抵抗性を示すウズラを用いてもその協同作用を検討し、併わせてウイルス学的検索を行なった。

実験材料および方法

1) ウイルス

スウェーデン Lund 大学の Ahlström 博士より教室

* 千葉大学医学部微生物学教室 国立千葉病院・内科

KAZUNARI NAKAMURA: Combined effects of Rous sarcoma virus and 3-methylcholanthrene. Department of Microbiology, School of Medicine, Chiba University, Chiba
Received for publication, Feb. 16, 1973.

の桑田教授に分与された SR-RSV 株を使用した。SR-RSV をニワトリヒナで数代継代し、接種後 10 日前後の肉腫組織を無菌的に摘出し、ハサミで細切後、型のごとく 0.25% トリプシン (1: 250, Difco) で 20~30 分間数回消化を行なった。この Rous 肉腫細胞を、成牛血清を 10% の割合で加えた Eagle の MEM に浮遊、細胞数を算定し、ウイルス産生 Rous 肉腫細胞による処理材料とした。あるいは肉腫摘出後、Eagle の MEM を加えて乳鉢で磨細し、20% 肉腫抽出液を作成し、2000 回転、30 分間遠心沈澱し、その上清のウイルスを定量後、処理材料とした。一部の実験には Bryan standard 株 (BS-RSV) も用いた。

2) ウイルス単独による処理方法

生後 2~5 日前後の幼若マウスの肩甲骨間皮下に Rous 肉腫細胞 (SR-RSV) の $1.2 \times 10^6 / 0.1 \text{ ml}$ 浮遊液をツベルクリン注射器を用いて接種した。ふ化後 30 日前後のウズラヒナ翼下へは、SR-RSV の $10^{4.5} \text{ TD}_{50} / 0.2 \text{ ml}$ を接種した。

3) 化学発癌剤とその使用方法

市販の 3-MCA (和光純薬工業株式会社) を使用し、溶剤には tri-n-caprylin (glycerol tri-n-octanoate, 東京化成工業株式会社) を用い、両者を乳鉢中で溶解した。実験には 0.075~0.1 mg/ml の濃度のものを用いた。接種部位は幼若マウスの肩甲骨間皮下、ふ化後 30 日前後のウズラヒナ翼下皮下にツベルクリン注射器でそれぞれ 0.1 ml 接種した。

4) 実験動物

市販 (船橋農場) の dd/Y 系の妊娠マウスを購入し、当教室で出生させ、生後 2~5 日目のものを用いた。ウズラは日本ウズラ社 (豊橋) より購入し、ふ化後 30 日前後のものを使用した。

5) 細胞培養法

処理マウスの皮下に発生した肉腫を無菌的に摘出し、型のごとくトリプシン処理し、細胞数算定後、ストッパーで密栓した 60 ml 容量ガラスびん、あるいは直径 60 mm プラスチック容器にそれぞれ容器あたり 2×10^6 コを接種し、37°C で培養した。プラスチック容器は 5% 炭酸ガス中で静置培養した。液変えは週 3 回行ない、ほぼ full sheet になったところで継代した。培地としては Eagle MEM 培地に biotin 0.25 mg/l, penicillin 100 u/ml, streptomycin 100 µg/ml および 10% 成牛

血清を加えた変法培地を使用した。培養細胞の観察、写真撮影は位相差倒立顕微鏡 (ニコン, MS 型) を用い、メタノール固定後 May-Grünwald Giemsa 染色を行なった。

6) 組織学的検索

腫瘍組織は摘出後、10% ホルマリンで固定、組織片は hematoxylin-eosin 染色、あるいは Pap 鍍銀染色を適宜行なった。

7) RSV ゲノムおよび感染性ウイルスの証明法

SR-RSV 処理によりマウスに発生した肉腫、あるいはその培養細胞をトリプシン処理後単個細胞を集めて、その $3-8 \times 10^5 / 0.2 \text{ ml}$ を生後 2 週間以内の市販白色レグホンヒナ翼下にツベルクリン注射器で接種し、一週間ごとに Rous 肉腫の発生を約 1 カ月観察した。感染性ウイルスの証明は、培養細胞の上清を集めて 2000 回転、20 分遠心沈澱後、その上清 0.3 ml を同様の方法でニワトリに接種することにより行なった。

実 験 結 果

(1) マウスに対する SR-RSV と MCA の重複処理

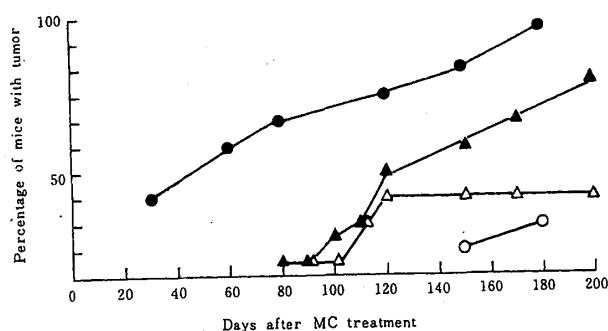
予備実験

生後 30 日前後の dd/Y 系マウスを用い、1 群は SR-RSV と MCA との重複処理群とし、ほかの 1 群は対照として MCA 単独処理群とし、SR-RSV $1.8 \times 10^6 \text{ cells} / 0.1 \text{ ml}$ を肩甲骨間皮下に、24 時間後 0.1 mg/0.1 ml の MCA を同部皮下に注射することにより重複処理を行なった。以上の条件下で 5 カ月間経過観察したところ、接種後 45 日で単独処理群に腫瘍の発生を認め、重複処理群の初発は 60 日であった。その後、腫瘍の発生は順調にのび、5 カ月後には両者とも 100% に達した。

以上の結果より両者の有意の差は認められず、重複処理による併用効果は、とくに認められなかった。しかしながら、接種後 90 日目の重複処理群のマウスに生じた肉腫を型のごとくトリプシン処理し、その細胞数 1.6×10^6 コをニワトリヒナ翼下へ接種し、3 週間観察して 5 匹中 5 匹に Rous 肉腫の発生を認め、RSV ゲノムの存在が証明された。そこでマウスの年齢および MCA の量を検討し本実験に移った。

本実験 (1)

生後 2~5 日の dd/Y 系幼若マウスを用い重複処理群



- Expt. 1. ●: SR-RSV, 2×10^6 Cells+MCA, 0.075 mg 処理群
 ○: MCA, 0.075 mg 単独処理群
 Expt. 2. ▲: SR-RSV, 10^6 Cells+MCA, 0.075 mg 処理群
 △: MCA, 0.075 mg 単独処理群

図 1. SR-RSV と MCA の併用, および MCA 単独処理によるマウスの肉腫発生率。

40 匹, 単独処理群 10 匹とした。1 週間後の生存は前者が 24 匹, 後者が 7 匹であり, これらの動物について観察した。SR-RSC の量は 2×10^6 cells/0.1 ml, MCA は 0.075 mg/0.1 ml とし, 重複処理は 24 時間後とした。経過観察期間は 180 日, 観察間隔は 7~10 日間とした。

肉腫の発生は重複処理群では 30 日目に認められた。その後 1 カ月ごとの観察で肉腫の発生率は直線的増加を示し, 6 カ月後 24 匹中 20 匹に肉腫の発生を認めた。MCA 単独処理群では 5 カ月目に初発を認め, 6 カ月後 7 匹中 2 匹に肉腫の発生が認められた (図 1)。つづいて重複処理群および単独処理群より発生した肉腫をそれぞれ *in-vitro* で培養し経過を観察した。

重複処理によって生じた肉腫の培養細胞は形態的に輪廓明瞭な紡錘形の細胞で配列が乱れ, criss-cross, piling up などさまざまな悪性細胞の特徴を示し, 分裂, 増殖が著明で急速に培地を酸性化し, split ratio 1:4 の割合で 1 週間前後で継代が可能であり, 50 代, 約 11 カ月

間継代するも旺盛な増殖, 分裂を示した。単独処理培養細胞も形態的に前者と非常に似ており, とくに両者の差異は認めなかった (図 4, 図 5)。

つぎに重複処理後 45 日目の肉腫をトリプシン処理して, その 8×10^5 コをニワトリヒナ翼下へ接種し, 1 カ月間観察したところ, 9 匹中 7 匹に Rous 肉腫の発生を認めた (表 1)。さらに前記重複処理培養細胞, 5 代継代, 120 日目のもの 5×10^5 コをニワトリヒナ翼下へ接種したところ, 1 カ月後に 4 匹中 4 匹に Rous 肉腫が発生した。したがって, 肉腫細胞および培養細胞中には RSV ゲノムが安定して存在していることが確かめられた。同時にその細胞培養上清を集め, 2000 回転, 20 分遠心沈澱後, その 0.3 ml をニワトリヒナ翼下へ接種し, 1 カ月間観察したところ, 全例に肉腫の発生を認めなかった。したがって, SR-RSV 処理による肉腫の培養細胞は感染性ウイルスを産生していないことが確かめられた。

発生した肉腫を組織学的に検索すると全例線維肉腫の像であった (図 6, 図 7)。

本実験 (2)

生後 3~4 日の dd/Y 系幼若マウスを用いて, I 群には SR-RSC 10^6 cells/0.1 ml 処理後, 同部位に 24 時間後 0.075 mg/0.1 ml の MCA で重複処理を行なったもの 39 匹, II 群には対照として SR-RSC 10^6 cells/0.1 ml の単独処理によるもの 33 匹, III 群も対照として MCA 単独 0.075 mg/0.1 ml 処理によるものとした。1 週間生存匹数は, I 群 20 匹, II 群 25 匹, III 群 10 匹であった。

肉腫の発現は, 処理後約 80 日目に重複処理群においてみられ, 約 1 週間遅れて MCA 単独処理群にも肉腫の発生が認められた。SR-RSV 単独処理群においては経過観察期間中, 肉腫の発生は認められなかった。最終結果において肉腫の発生は重複処理群では 20 匹中 15 匹, MCA 単独処理群では接種後早期にマウスが死亡したた

表 1. 重複処理により発生したマウスの肉腫における感染性ウイルスおよび RSV ゲノムの存在の有無

	ラウス肉腫ウイルス処理後日数	肉腫細胞の培養日数	継代数	培養上清*	培養細胞	細胞
				肉腫出現数 ニワトリの数	接種細胞数	肉腫出現数 ニワトリの数
第一実験	45	0	1	—	8×10^5	7/9
	75	0	1	—	6×10^5	4/5
	80	35	5	0/5	5×10^5	4/4
第二実験	115	0	1	0/4	3×10^5	0/4
	150	0	1	—	9×10^5	6/7

* 0.3 ml 接種

め 10 匹中 3 匹に陽性例を認めたにすぎなかった (図 1, 図 7)。SR-RSV 単独処理群では 25 匹全例陰性であった。

重複処理後 115 日目の肉腫をトリプシン処理し、その細胞 3×10^5 コおよびその遠心沈澱上清 0.3 ml をそれぞれニワトリヒナ翼下に接種したが肉腫の発生は両者共陰性であった。細胞接種によっても肉腫の発生が見られなかったのは、接種細胞数が不足していたためと考えられる。同様の処理により 150 日目の肉腫細胞 10^6 コをニワトリヒナの同部位に接種し、1 カ月間観察したところ 7 匹中 6 匹に肉腫の発生を認め、はじめて肉腫細胞中に RSV ゲノムが安定して存在していることが確かめられた。

つぎに重複処理および MCA 単独処理の肉腫を *in-vitro* に移し、増殖曲線を比較したところ、両者とも約 8

～9 日間で full sheet に達し類似した曲線が得られた。また ONA 依存性 RNA 合成酵素を抑制するクロモマイシンに対する感受性テスト (chromomycin-A₃, 0.1 μg/ml) でもほぼ同様の所見が得られた (図 2)。

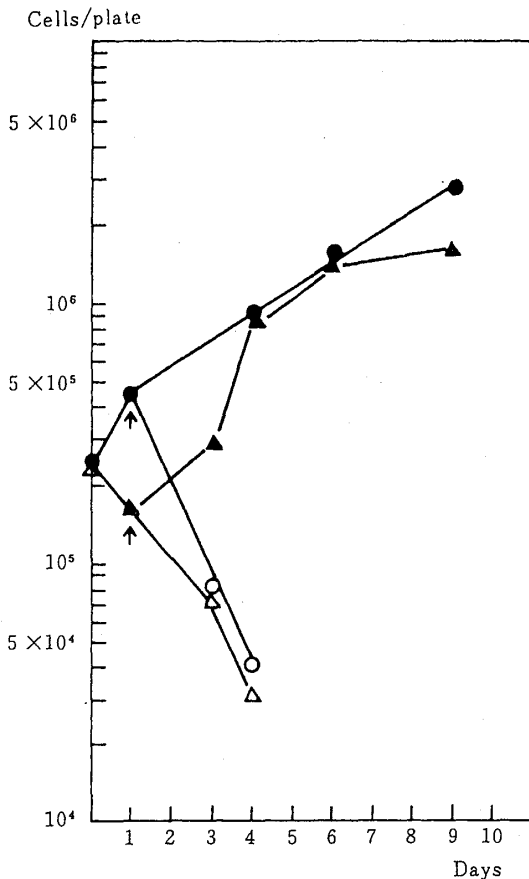
(II) ウズラに対する SR-RSV および MCA の重複処理

SR-RSV は 20% 肉腫抽出液の遠沈上清 0.3 ml (約 $10^{4.5}$ TD₅₀) を MCA は 0.1 mg/0.1 ml の濃度のものを使用し、ウズラヒナ翼下へ SR-RSV 単独, MCA 単独あるいは重複処理を行なった。

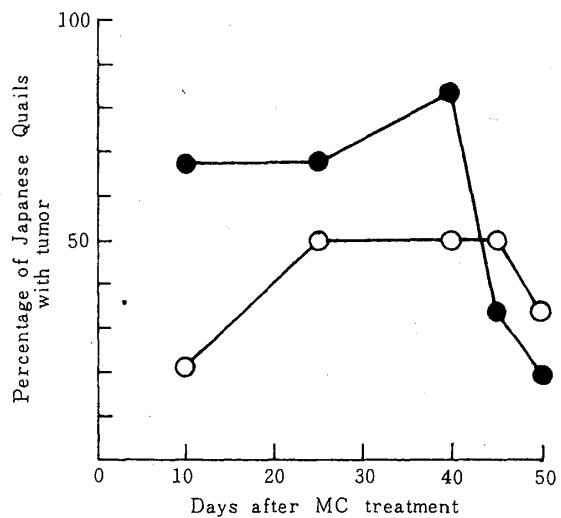
I 群 6 羽とし、I 群は重複処理群, II 群は MCA 単独処理群, III 群は SR-RSV 単独処理群とした。観察期間は 40 日とした。

肉腫の発生は重複処理群で 4 羽, 単独処理群では、2 羽に処理後 13 日目で認められ、処理後 30 日前後においては、重複処理群で 5 羽, SR-RSV 単独処理群では 3 羽であった。それ以後、腫瘍の退縮が両群に認められた。また MCA 単独処理群においては、肉腫の発生はその後 2 カ月観察するも認められなかった (図 3)。

同様の実験を繰り返して行ない、SR-RSV 単独処理により発生したウズラの肉腫における RSV の増殖を比較してみた。表 2 に示すように、両群の肉腫にはいずれも感染性 RSV の存在は認められず、ウイルス増殖に及ぼす MCA の影響は見られなかった。BS-RSV 接種により生じたウズラの肉腫が感染性 RSV を含んでいることは先人の報告に一致する。



↑ : chromomycin A₃, 0.1 μg/ml を加える
 ▲ : SR-RSV+MCA 処理による肉腫細胞
 △ : chromomycin A₃, 0.1 μg/ml 追加後の同上細胞
 ● : MCA 単独処理により発生した肉腫細胞
 ○ : chromomycin A₃, 0.1 μg/ml 追加後の同上細胞
 図 2. 重複処理および MCA 単独処理により生じたマウス肉腫細胞の *in-vitro* の増殖曲線と chromomycin A₃ に対する感受性。



● : SR-RSV, $10^{4.5}$ TD₅₀+MCA, 0.1 mg 処理群
 ○ : SR-RSV, $10^{4.5}$ TD₅₀ 接種群
 図 3. SR-RSV と MCA の併用, および SR-RSV 単独接種によるウズラの肉腫発生率。

表 2. SR-RSV 単独および MCA との併用により生じたウズラの肉腫における感染性 RSV の有無

接種材料	SR-RSV 単独接種群 の肉腫	SR-RSV と MCA 併用群の肉腫	BS-RSV 単独接種群 の肉腫
10%肉腫抽出* 液 (0.3 ml)	0/6** 0/6	0/8	8/8

* RSV 接種後 10 日前後で抽出

** 腫瘍の発生したニワトリ数/接種ニワトリ数

考 察

化学発癌剤 (MCA) と腫瘍ウイルス (RSV) との協同作用については, Carr⁷⁾, ついで Engle および Groupé⁸⁾ の研究があり, ニワトリを用いての両者の協同作用の効果は確かめられている。しかしほ乳動物を使用している報告が少ないためウイルスの量および化学発癌剤の量が問題となった。

Bryan ら⁹⁾¹⁰⁾ は MCA 0.125 mg をマウスの皮下に接種すると約 3 カ月半後に 100% に肉腫の発現を認め, 0.062 mg の接種では 4 カ月で 86.3% に肉腫の発現を認めた。そこで本実験では両者の中間をとり, 0.1 mg を接種量とし, 経過を観察したところ, 接種後 45 日で肉腫の初発を認め, 5 カ月後肉腫の発生は 100% に達した。RSV との重複処理群においては, 肉腫の初発はやや遅れ 70 日目であった。それゆえ, MCA 0.1 mg 接種では, 単独処理群の肉腫発生率が強調されてしまい, 協同作用の検討には MCA の接種量が多すぎると思われたため, 本実験における MCA 接種量を 0.075 mg と決定した。

本実験における MCA 単独処理群での肉腫発生率は約 30% であるのに対し, Bryan らは 0.062 mg 接種で 86.3% のマウスに肉腫の発生を認めている。この相違は Bryan らの使用したマウスが生後 1.5~3 カ月の成熟マウスであるのに対し, 本実験では生後 2~7 日前後の幼若マウスを使用したため MCA および溶剤の毒性で接種後 1 週間以内に 40% が死亡してしまったために発生率が低下したと思われる。

Ahlström ら¹¹⁾¹²⁾ によれば生後 24 時間前後の新生児マウスに SR-RSV を接種すると 9 カ月後 25% のマウスに肉腫の発生を認めた。マウスの SR-RSV に対する感受性はラットよりも低く, 生後 10 日以上の子マウスには SR-RSV 処理により肉腫の形成はみられなかったことを報告した。他方, Schmidt-Ruppin¹³⁾ は生後 6 週目のマウスに SR-RSV を 6~7 回くり返し接種することにより肉腫が発生したことを報告した。しかしながら, 現在に至るまで RSV 処理では幼若なマウスの方がより肉腫の発生率が高いことがわかっている。それゆえ,

本実験では生後 5 日以内の dd/Y 系マウスを使用し, MCA と RSV の重複処理実験を 2 回行なったところ, いずれも重複処理群が MCA 単独処理群よりも早期により高率に腫瘍の発現がみられた。このことから果して RSV が関与しているかどうか問題となる。

Svoboda ら¹⁴⁾ はほ乳動物の細胞を RSV で処理すると悪性化し, *in vivo* での腫瘍細胞あるいは *in vitro* での悪性変換細胞は感染性ウイルスを産生しないが, ウィルスゲノムを常に保持しており *in vivo* でのニワトリヒナ翼下接種, あるいは *in vitro* でのニワトリ胎児線維芽細胞との接触培養により感染性ウイルスが産生される事実で証明されることを見出した。本実験では MCA および RSV 重複処理することにより, 発生した肉腫細胞 10⁶ 個前後をニワトリヒナ翼下に接種し, その約 90% に Rous 肉腫の発生をみた。この事実は重複処理によりマウスに発生した肉腫が明らかに RSV ゲノムを安定して保持していることを示すものである。すなわち, MCA および RSV の重複処理により発生したマウス肉腫に RSV が関与していることの重要な証明となるとと思われる。以上の結果より, MCA および RSV 重複処理群は明らかに相互の協同作用によりその“neoplastic potential”が増強されたものと思われる。

Sinkovic ら¹⁵⁾ は RSV によるラットの変換細胞 XC 株¹⁶⁾ を培養に移し, その形態学的, ウィルス学的性状を検討している。そこで, 著者は重複処理によりできた肉腫を培養に移したところ, 重複処理細胞は急速な増殖曲線を示し, 不規則な配列をみせ, 約 11 カ月, 継代数 50 代にても旺盛な増殖を示し容易に継代可能であった。また培養細胞をニワトリヒナ翼下に接種したところ, 4 匹中 4 匹に肉腫の発現を認め, ウィルスゲノムの存在を確認することができた。このことは Sinkovic らの報告と一致する。

重複処理群の肉腫を組織学的に検索すると比較的増殖のよい線維肉腫の像を示し, RSV 単独接種による肉腫細胞と多くの類似点を示した。

ウズラを用いた本実験では, MCA との重複処理群に 80%, RSV 単独処理群では 50% に RSV 処理 7 日前後

から肉腫の発現を認めたと過ぎなかった。肉腫の退縮は約1カ月前後で始まり、観察期間中にほとんどの肉腫は重複処理、あるいは単独処理にかかわらず退縮した。

RSVにはウズラに対する癌原性の強い株と弱い株があり、本実験に使用したSR-RSVは後者に属する¹⁷⁾¹⁸⁾。SR-RSVをMCAとともにウズラに接種しても、ウズラを腫瘍死させるような結果が得られなかった。

稿を終るに臨み、ご指導とご批判を賜った桑田次男教授に深く謝意を表しますとともに、ご助言を賜った国立千葉病院検査科医長、川上仁博士ならびに共同研究者、関谷宗英博士に衷心より感謝いたします。また、常に暖かい目をもってご援助をいただいた教室の皆様には厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨は第30回日本癌学会総会にて発表した。本論文は千葉大学医学部審査学位論文の一部である。

SUMMARY

Combined effects of Rous sarcoma virus (SR-RSV) and 3-methylcholanthrene (MCA) were examined in mice and quails. When 3- to 4-day old mice were treated with 0.075 mg MCA and SR-RSV, tumors appeared earlier in these mice than in mice treated with MCA alone. Single treatment of mice with RSV did not elicit any tumors. Tumors induced by RSV and MCA were cultivated in vitro and morphology and multiplication pattern of cells were compared. There were no appreciable differences between these cells in biological characteristics. When tumor cells induced by combined treatment were injected into wing webs of chickens, tumors appeared and existence of RSV genome in the cells were demonstrated.

In quails, which received combined treatment of SR-RSV and MCA, tumors once appeared and then regressed. Infectious RSV was not demonstrated in such tumors.

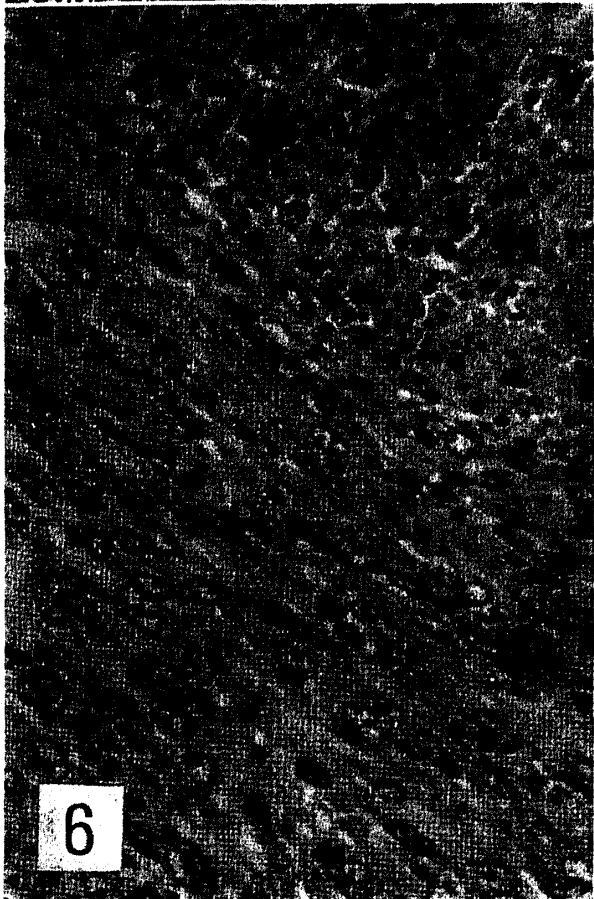
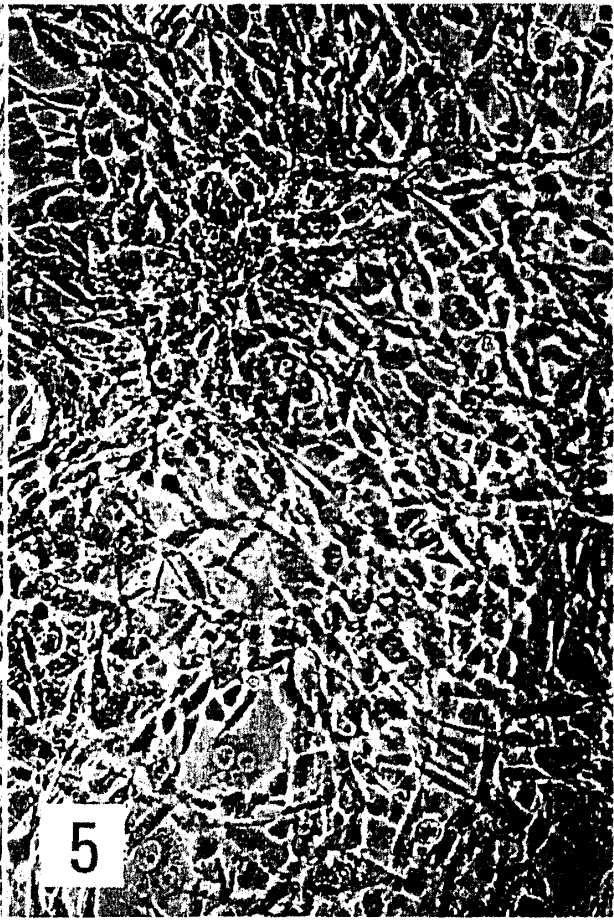
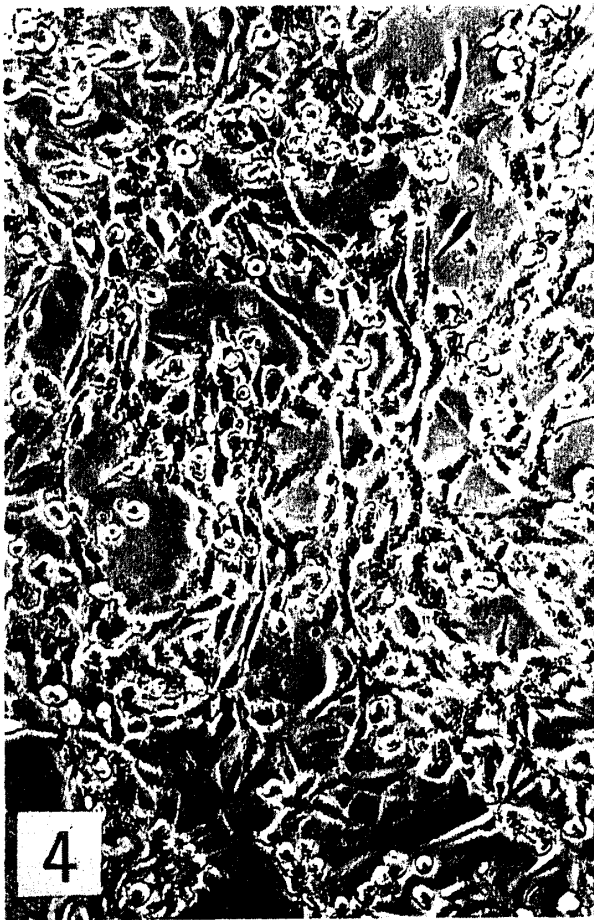
文 献

1) Rous, P.: A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cells.,

J. Exp. Med., 13, 397-411, 1911.

- 2) Zilber, L. A.: Pathogenicity and oncogenicity of Rous sarcoma virus for mammals., Prog. Exp. Tumor. Res., 7, 1-48, 1965.
- 3) Vogt, P. K.: Avian tumor virus., Advances in Virus Research, 11, 293-385, 1965.
- 4) Haddow, A.: Chemical carcinogens and their modes of action., Brit. Med. Bull., 14, 79-92, 1958.
- 5) Duran-Reynals, M. L.: Combined effects of chemical carcinogenic agents and viruses., Prog. Exp. Tumor. Res., 3, 148-185, 1963.
- 6) Martin, C. M.: Virus-carcinogen interactions., Bact. Rev., 28, 480-489, 1964.
- 7) Carr, J. G.: The effect of substances influencing cell activity upon the growth of Rous No. 1 sarcoma., Brit. J. Exp. Path., 23, 221-228, 1942.
- 8) Engle, C. G. and Groupé, V.: Effect of chemical carcinogens on virus-induced Rous sarcoma., Cancer Res., 29, 1345-1349, 1969.
- 9) Bryan, W. R. and Shimkin, M. B.: Quantitative analysis of dose-respons data obtained with carcinogenic hydrocarbons., J. Nat. Cancer. Inst., 1, 807-833, 1941.
- 10) Bryan, W. R. and Shimkin, M. B.: Quantitative analysis of dose-respons data obtained with three carcinogenic hydrocarbons in strain C₃H male mice., J. Nat. Cancer. Inst., 3, 503-531, 1942.
- 11) Ahlström, C. G.: Neoplasms on mammals induced by Rous chicken sarcoma material., Nat. Cancer. Inst. Monograph. 17, 299-317, 1965.
- 12) Ahlström, C. G., Bergman, S., Forsby, N. and Jonsson, N.: Rous sarcoma in mammals., Acta Union. Inst. Cancer., 19, 294-298, 1963.
- 13) Schmidt-Ruppin, K. H.: Heterotransplantation of Rous sarcoma and Rous sarcoma virus to mammals., Oncologia., 17, 242-272, 1964.
- 14) Svoboda, J.: Basic aspects of the interaction of oncogenic viruses with heterologous cells., Int. Rev. Exp. Path., 5, 25-66, 1966.
- 15) Sinkovic, D., Valentova, N. and Thurzo, V.: In vitro cultivation of rat sarcoma XC cells containing Rous virus., Folia. Biol., 8, 221-229, 1962.

- 16) Svoboda, J.: The tumorigenic action of Rous sarcoma in rats and permanent production of Rous virus by induced rat sarcoma XC., *Folia Biol.*, 7, 46-60, 1961.
- 17) Yamanouchi, K., Hayami, M. and Fukuda, A.: Tumor development and induction of resistance by Rous sarcoma virus in Japanese quail., *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 21, 393-404, 1968.
- 18) Smida, J. and Smidova, V.: Propagation of B77 virus and three strains of Rous sarcoma virus in Japanese quail., *Neoplasma*, 15, 439-441, 1968.
- 19) 岡崎卓見, 桑田次男: Rous 肉腫ウイルスのウズラにおける腫瘍形成能, 第19回日本ウイルス学会総会抄録, II-49, 1971.
-





- 図 4. 重複処理後 45 日目の肉腫を培養に移し, 139 日目, 12 代の位相差像。×100
- 図 5. MCA 単独処理後 190 日目の肉腫を培養に移し, 15 日目, 2 代の位相差像。×100
- 図 6. 重複処理後 45 日目の肉腫組織像。細胞は紡錘形で, 多形性も見られ核は比較的大, いわゆる線維肉腫の像である。hematoxylin-eosin 染色。×200
- 図 7. MCA 単独処理後 190 日目の肉腫組織像。重複処理後発生した肉腫と同様線維肉腫の像である。hematoxylin-eosin 染色。×100
- 図 8. 重複処理後 175 日目, マウスに出現した肉腫。