

〈原 著〉

## ウィルス誘発サル脳腫瘍のCT像



佐藤 透 仲宗根 進 松本 健五  
西本 詮 藤原 敬\* 田淵 和雄\*

### Computed Tomography of Virally Induced Monkey Brain Tumors

Toru Satoh, Susumu Nakasone, Kengo Matsumoto, Akira Nishimoto,  
Takashi Fujiwara\* and Kazuo Tabuchi\*

*Departments of Neurological Surgery, Okayama University Medical School, Okayama, and  
Kagawa Medical College\*, Kagawa, Japan*

*(Received May 9, 1984)*

**Summary:** Thirty-five (35) Japanese monkeys (*Macaca fuscata*) were inoculated intracerebrally with chick-embryo fibroblasts which were producing the Schmidt-Ruppin strain of the Rous sarcoma virus. These were then studied by means of computed tomography (CT) to detect brain tumors.

Tumors were induced in 54.3% (19/35), with an average latency of 32.6 (15-43) days before a CT image appeared. The brains were sectioned into 5-mm slices, coplanar with the CT images. Various CT features, such as necrosis, hemorrhage, and peritumoral edema, correlated with the pathological findings. Contrast-enhanced CT detected tumors greater than 4-6 mm in diameter, and it was accurate within 2 mm in determining. Following brain tumors by CT in 6 monkeys revealed changes in the tumor size. One monkey was treated by differential hypothermia following craniectomy; the therapeutic effect and the tumor size, as subsequently evaluated for six months, revealed tumor regression during the initial 5 weeks, followed by stabilization and late (6 months) progression.

The large brain size, 90-110 grams in adults, and the availability of these monkeys make them an excellent model system for neurological, neurosurgical, CT, and multimodality therapeutic experimentation.

**Key words :** Brain neoplasms, Animal studies, Experimental brain tumor, Computed tomography  
使用機種 : Toshiba TCT-80A

### はじめに

実験的脳腫瘍モデルとして、CT scan が可能な大動物に原発脳腫瘍を作製することは、経時的な頭蓋内情報の把握が容易で、しかも随時剖検にてCT像と病理学的所見を対比できるため、小動物の場合とは異なった意味で多くの利点を有する<sup>1)11)13)</sup>。

今回、われわれは比較的入手容易な日本ザルにウィルス誘発脳腫瘍の作製を試み、初めて成功した。そこで、本モデルに対して、腫瘍の成長過程をCT scanにて経時的に把握し、CT像と剖検脳とを対比検討した。さらに、治療実験を行った例では、その治療効果をCT scanにて長期間追跡しえた

のであわせて報告する。

### 材料および方法

#### 1) ウィルス誘発脳腫瘍の作製 (Fig. 1)

実験動物には、日本ザル (*Macaca fuscata*) 35頭、年齢2~15歳、雄20頭、雌15頭、体重2.0~12.6kgを用いた。

ふ卵10日目の chick embryo から fibroblast (CEF) の単層培養を行い、継代1~2回目の CEF に Schmidt-Ruppin 株 Rous sarcoma virus (RSV) を感染させた。この RSV を産生する CEF、約  $2 \sim 4 \times 10^7$  個、0.3 ml をサルの右頭頂部脳表下約 1 cm に硬膜を通して接種した。

接種後は、全身および神経症状を観察するとともに適宜 CT scan を施行した。

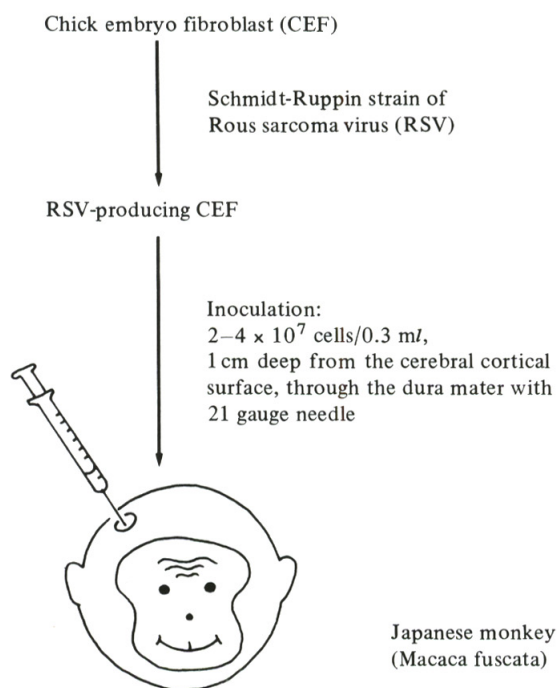


Fig. 1 Induction of experimental monkey brain tumors.

2) CT scan

サルは Ketamine HCL (Ketalar<sup>®</sup>), 2 mg/kg, 筋注による全身麻酔下に, 東芝 TCT-80 A scanner を用いて, スライス厚 5 mm, scan 時間 2.7, 9.0 秒で, 仰臥位にて水平断および前額断を施行した. 造影剤増強 CT は, 60% iothalamate meglumine (Conray-60<sup>®</sup>), 1~3 mg/kg, 静注にて行い, また追跡 CT scan は造影剤増強 CT にて行った.

3) 剖検脳の検索

剖検脳は, CT スライス面にできるだけ平行に厚さ 5 mm の cutting を行い, CT 像と対比検討した.

誘発脳腫瘍は, 光顕的, 電顕的に検索し, 一部 in vitro で腫瘍細胞を培養した.

4) 治療実験

接種後 43 日目に CT 上腫瘍形成が認められた担脳腫瘍サル 1 頭 (3 歳, 雌, 体重 4.0 kg) に対して, 全身麻酔下, 気管内挿管による調節呼吸下に, 右前頭頭頂開頭を行い, 全身を氷水中に漬け, 食道温 30°C の低体温下に, 腫瘍局所を 915 MHz マイクロウェーブ照射により 37°C に加温保持する区別低体温 (differential hypothermia) 療法を 3 時間施行した. 治療後は神経症状の観察とともに, CT scan にて長期間追跡

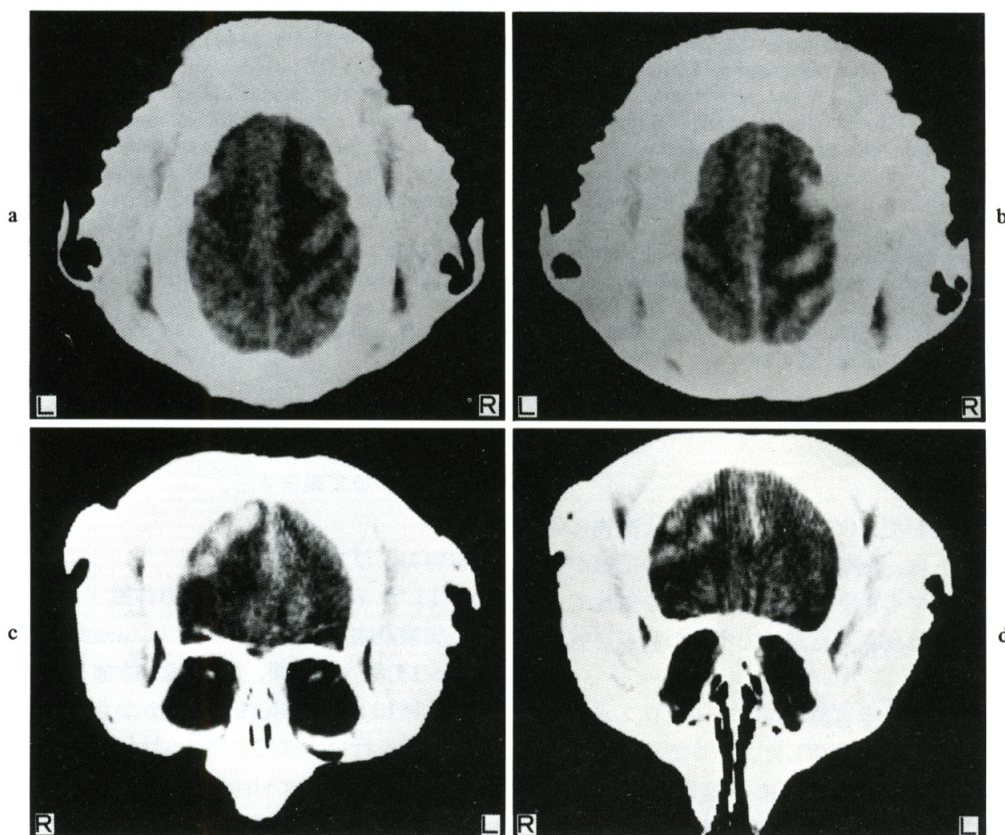
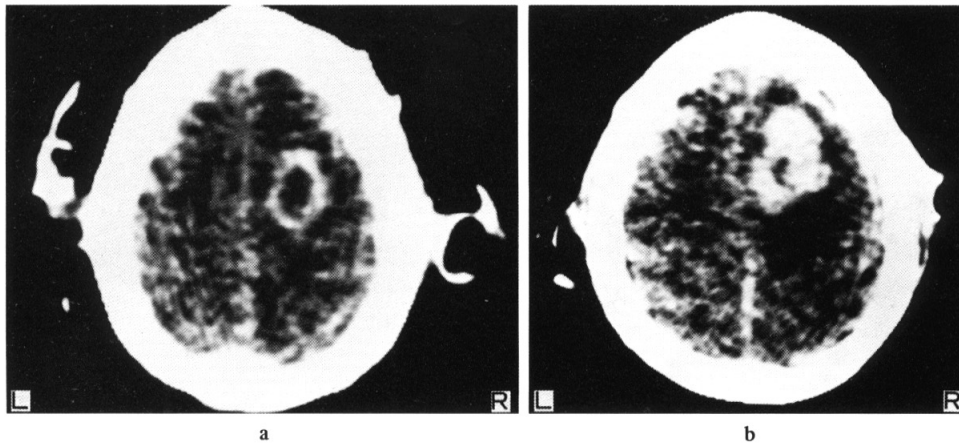
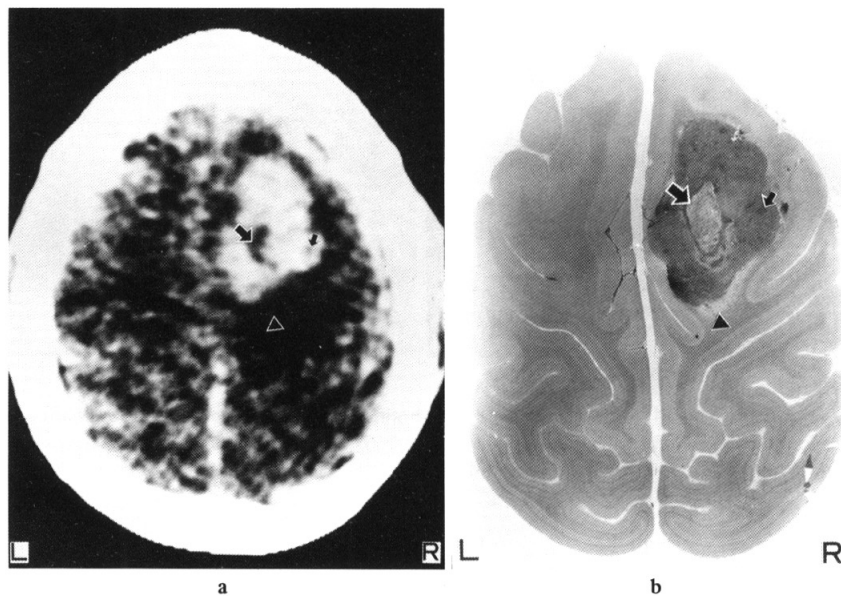


Fig. 2 Plain axial CT (a), 24 days after intracerebral inoculation of RSV-producing CEF, demonstrated isodense masses with marked perifocal low dense areas in the right frontoparietal region. Contrast-enhanced axial (b) and coronal (c, d) CT revealed well-demarcated masses with slight left-shift of the midline.





**Fig. 3** Contrast-enhanced axial CT, 15 (a) and 32 (b) days after inoculation. An irregular, rim-like high dense mass with central lucency, was detected. The mass increased from 11.3 × 17.3 mm to 15.4 × 22.7 mm during the 17 days. The perifocal low dense area also was expanded, with a greatly exaggerated midline shift at 32 days.



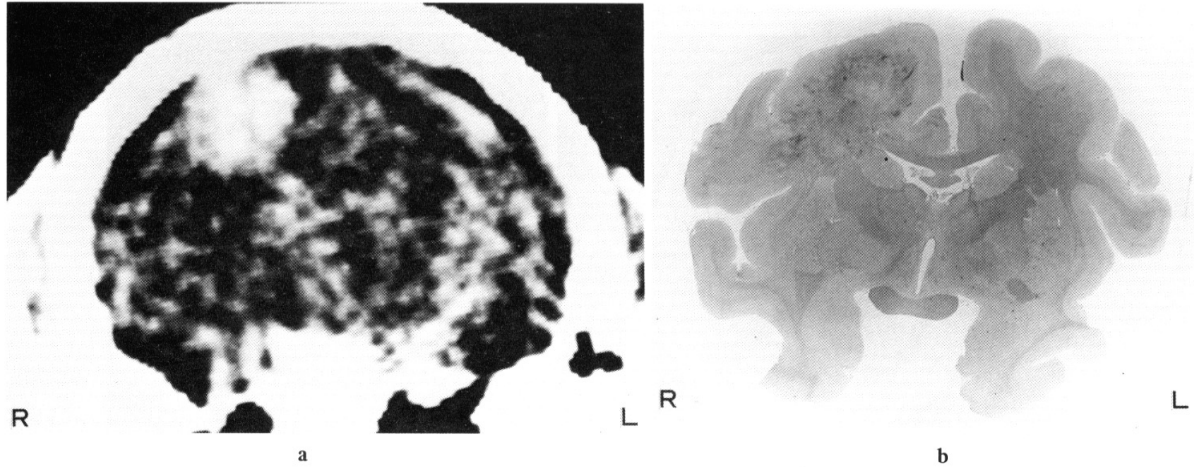
**Fig. 4** Contrast-enhanced axial CT (a) and its coplanar brain slice (hematoxylin and eosin) (b). The same monkey as in Fig. 3 (32 days). CT features correlated well with pathological findings, such as central necrosis (large arrow), hemorrhage (small arrow), and peritumoral edema (arrow head). Tumor size in the brain slice (14.9 × 21.4 mm) was similar to that calculated by CT (15.4 × 22.7 mm).

した。

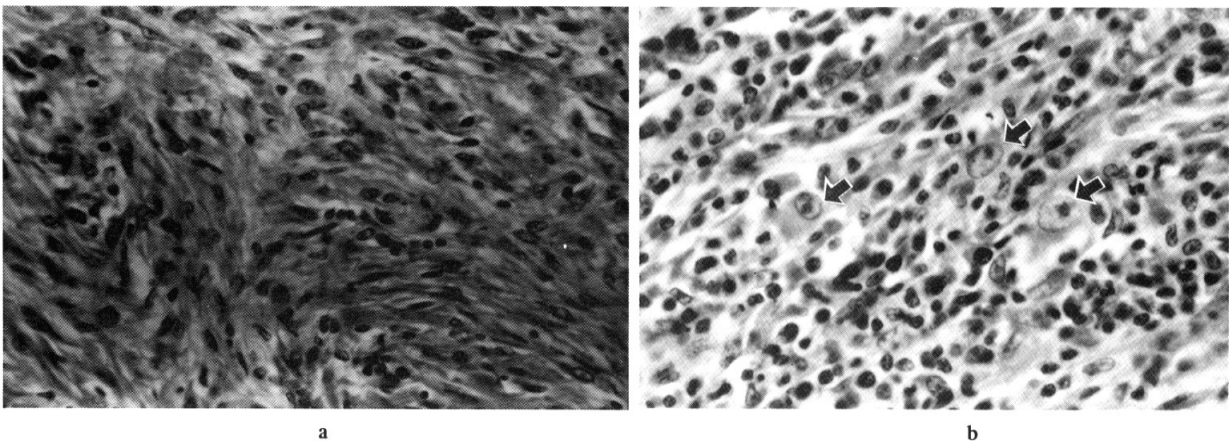
### 結 果

腫瘍は、35頭中19頭 (54.3%) に誘発された。担脳腫瘍サルは、接種後3~5週頃から食思不振、寡動となり、左片麻痺、眼振、痙攣などの神経症状を呈した。このうちCT scan

を施行したサルは10頭であり、CT上腫瘍が出現するまでの期間は、接種後15~43日 (平均32.6日) であった。腫瘍は、単純CT上では周囲に低X線吸収域を伴う比較的境界明瞭な等X線吸収塊として描出され、造影剤静注にて、著明な増強効果が認められた (Fig. 2)。腫瘍は、接種部位を中心に、主として皮質下に形成されたが、大脳半球深部へ進展す



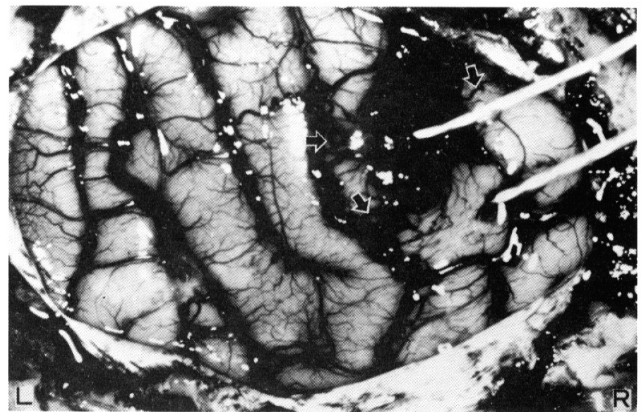
**Fig. 5** Contrast-enhanced coronal CT (a) and its coplanar brain slice (hematoxylin and eosin) (b). Tumor size determinations were within 2 mm. Different monkey than in Figs. 3 and 4 (CT: 12.6 x 15.2 mm; brain slice 10.6 x 14.2 mm).



**Fig. 6** Histology of virally-induced tumors. The brain tumor was composed predominantly of bipolar elongated cells (hematoxylin and eosin, x 200) (a), and round cells with large clear nuclei (arrows) (hematoxylin and eosin, x 400) (b).



**Fig. 7** Chromosomal analysis of cultured tumor cell. The tumors were diploid with 42 chromosomes, indicative of monkey origin.



**Fig. 8** Photograph of differential hypothermia (D.H.) treatment. The monkey was a 3-year-old female, weighing 4.0 kg. Tumor presented abnormal vasculature (arrows). Thermister probes inserted into tumor and cerebral cortex are present.

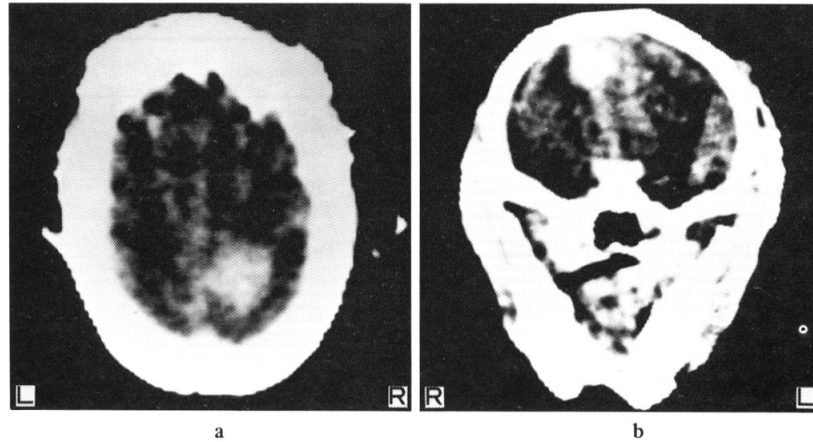


Fig. 9 Contrast-enhanced axial (a) and coronal (b) CT before D.H. treatment of monkey shown in Fig. 8. Well-demarcated, homogeneous, high dense mass was identified in the right frontoparietal region (tumor size: 12.3 × 16.0 mm).

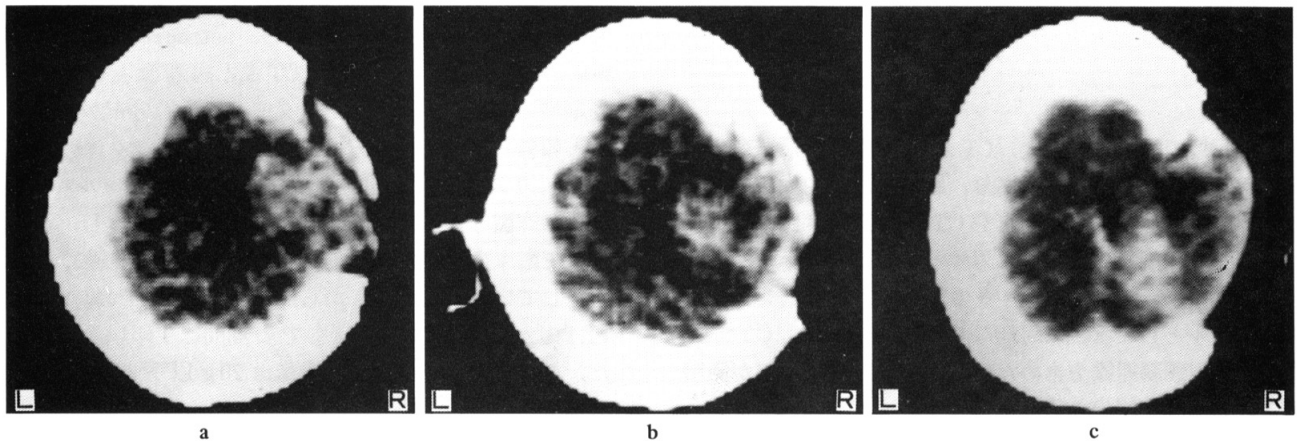


Fig. 10 Contrast-enhanced axial CT, 21 (a), 35 (b), and 187 (c) days after D.H. treatment (monkey in Fig. 9). The high dense mass decreased in size and density 35 days (10.7 × 14.9 mm) after treatment; slight enlargement of the mass was observed 187 days (10.7 × 20.8 mm) after treatment.

るものも認められた。

CT上腫瘍が描出されたサル10頭中6頭に対して、計10回の追跡CT scanを施行した。17-270日の観察期間中、4頭でCT上腫瘍の発育・増大 (Fig. 3) が認められ、また2頭において腫瘍の縮小・消失が認められた。

CTスライス面と平行にcuttingを行った剖検脳と、そのCT像を対比検討した結果、CT像は腫瘍の形態、腫瘍内壊死、出血などの性状および周囲浮腫などをよく反映していた (Fig. 4, 5)。また、造影剤増強CT上での腫瘍の大きさと、剖検脳でのそれとの相違は2mm以内であった。しかしながら、scan時の体動 (motion artefact) や骨に接した脳表の小腫瘍 (bony artefact) などで、CT像の読影が正確に行えな

い場合もあり、局在同定しえた腫瘍の最小径は4.0 × 5.9mmであった。

組織学的に腫瘍は双極性細胞を主体とし、一部卵円形の胞体を持つ大型細胞が認められた (Fig. 6)。電顕下ではRSV粒子は認められなかった。また、培養腫瘍細胞の染色体分析から、染色体数は42で、サルのそれに一致し、本腫瘍はサル原発脳腫瘍であることが確認された (Fig. 7)。

区別低体温療法を施行した担脳腫瘍サル (Fig. 8) に対して、治療後270日の観察期間中、計6回の追跡CT scanを施行した。その結果、治療前 (Fig. 9) に比べ治療後21日目 (Fig. 10a)、35日目 (Fig. 10b) の増強CT上では、片麻痺などの神経症状の改善とともに、腫瘍部の高X線吸収塊は

Table 1 Virally induced monkey brain tumors

investigators	year	animal	virus	incidence (%)
Jänisch, W. et al. <sup>3)</sup>	1968	Rhesus monkey (newborn)	Rous sarcoma virus (RSV)	3/8 (37.5)
Ikuta, F. et al. <sup>2)</sup>	1973	Macaca irus (adult)	Rous sarcoma virus (RSV)	4/9 (44.4)
London, W. T. et al. <sup>7)</sup>	1978	Owl monkey (adult)	polyomavirus (JC virus)	2/4 (50.0)
Rieth, K. G. et al. <sup>11)</sup>	1980	Owl monkey Squirrel monkey (adult)	Polyomavirus (JC virus)	3/26 (11.5) 1/10 (10.0)
This report	1984	Japanese monkey (adult)	Rous sarcoma virus (RSV)	19/35 (54.3)

増強の程度、範囲ともに若干減少した。しかしながら、治療後187日目の増強CT (Fig. 10c) 上でも残存し、神経学的所見に変化はみられないが、腫瘍部の高X線吸収塊の増大がうかがわれた。

#### 考 按

ヒト脳腫瘍の診断・治療上、CT scanは現在、最も有力な神経放射線学的検査の一つであり、腫瘍の部位や大きさ、腫瘍周囲浮腫の程度や広がりなどをCT像として容易に描出可能である。したがって脳腫瘍に対する高張剤やステロイドの併用<sup>8)9)15)</sup>、あるいは集学的治療の効果の検討などを行う実験モデルとしては読影可能なCT像が得られ、CT像と腫瘍や腫瘍周囲脳組織を含めた広範囲な病理学的検討が随時行える、大動物を用いた実験的脳腫瘍が必要となってくる。

さて、実験的脳腫瘍の誘発は、Zimmermanら<sup>16)</sup>以来、主としてマウス、ラット、ハムスターなどの小動物を用いて行われ、ネコ、イヌ、サルなど哺乳大動物を用いたものは少ない<sup>2)10)</sup>。われわれは、比較的人手が容易な日本ザルを用いて、その脳内にRSVを産生するCEFを接種することにより、35頭中19頭(54.3%)と比較的高率に原発脳腫瘍を作製した。これまで霊長類であるサルにウィルス誘発脳腫瘍を作製したとする報告は文献上4例<sup>2)3)7)11)</sup>(Table 1)のみであり、また、日本ザルを用いたのはわれわれが初めてである。本モデルは、単に生物学的特性がヒトに類似するのみならず、外科的手術操作を含む集学的な治療実験にもよく耐えうること、臨床応用の各種装置や設備が使用可能なこと、特にCT scanが容易に施行できることなどから、小動物の場合とは異なった意味で有用と考えられる。

CT scanによる実験的脳腫瘍モデルの検索は、これまでに、ラット<sup>4)</sup>、イヌ<sup>1)13)</sup>、サル<sup>11)14)</sup>についての報告が散見される。Kappら<sup>4)</sup>は、ラット脳内にRSVを接種し作製した腫瘍のCT像を報告したが、false-negativeが9例中4例と高率に

みられ、また、ラットは頭蓋内容が極めて小さく、腫瘍径も小さいため、そのCT像は評価しがたいものであった。Groothuisら<sup>1)</sup>は、イヌ(neonate)7頭を用いて、Rabottiらの方法でRSVを脳内に接種し、astrocytoma 4例、sarcoma 2例を誘発し、これらのCT像と病理像とを対比し、造影剤増強の範囲とペルオキシダーゼの透過分布がよく一致したと報告している。一方、Reithら<sup>11)</sup>は、フクロザル(adult)26頭、リスザル(adult)10頭を用いてJCウィルスを脳内に接種し作製したglioma 4例にCT scanを施行し、このうち3例で臨床症状の出現以前にCT上腫瘍形成が認められたと報告している。しかしながら、このモデルでは、誘発率が11.1%と低く、腫瘍形成までの期間は1年以上と長く、また、これらのサルの平均脳重量は20g以下と小さいものであった。

われわれは、日本ザル(adult, young adult)にウィルス誘発脳腫瘍を54.3%と比較的高率に作製しえた。本モデルでは、接種後15~43(平均32.6)日目にCT上腫瘍形成が認められた。また、追跡CT scanでは、腫瘍の増大あるいは縮小が経時的に観察しえた。本モデルの日本ザル脳重量は90~110gと大きく、得られたCT像は十分評価可能なものと考えられた。CT像と剖検脳との対比検討では、CT像は腫瘍の部位、性状をよく反映し、CT上の腫瘍径と剖検脳でのそれとの相違は2mm以内と極めて近似し、また、4~6mm径以上の腫瘍は局在同定がほぼ可能と思われた。さらに、治療実験として、開頭術後に区別低体温療法を施行した例では、その治療効果を約6カ月の長期間にわたってCT scanにて追跡しえた。

大動物を用いた実験的脳腫瘍モデルに対するCT scanの応用は、CT像の病理学的検討が容易に行えるだけでなく、集学的治療実験の効果を経時的に評価できることから、ヒト脳腫瘍の研究上、極めて意義あるものと考えられる。



本論文の要旨は、第7回脳神経CT研究会（1984年1月、京都）において発表した。

稿を終えるに臨み、本研究に御協力いただいた岡山大学癌源研究施設ウィルス部門、小倉 肇先生に深謝致します。

## 文 献

- 1) Groothuis, D.R., Mikhael, M.A., Fischer, J.M., et al.: Computed tomography of virally induced canine brain tumors: A preliminary report. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 5: 538-543, 1981.
- 2) Ikuta, F. & Kumanishi, T.: Experimental virus-induced brain tumors, progress in neuropathology, Vol. II. Grune & Stratton, New York, 1973, 253-334.
- 3) Jänisch, W., Horn, K.H., Scholtze, P., et al.: Experimental induction of brain tumors by intracerebral inoculation of Rous sarcoma virus in newborn Rhesus monkeys. *Exp. Pathol. (Jena)*, 2: 226-235, 1968.
- 4) Kapp, J.P. & Holla, P.S.: Detection of experimental brain tumor in rat by computed tomography. *Surg. Neurol.*, 16: 455-458, 1981.
- 5) Kretschmar, K. & Schicketanz, K.H.: Measurements of the volume and density of intracerebral tumors by CT following therapy. *Neuroradiology*, 23: 175-184, 1982.
- 6) Levin, V.A., Hoffman, W.F., Heilborn, D.C., et al.: Prognostic significance of the pretreatment CT scan on time to progression for patients with malignant gliomas. *J. Neurosurg.*, 52: 642-647, 1980.
- 7) London, W.T., Houff, S.A., Madden, D.L., et al.: Brain tumors in owl monkeys inoculated with a human polyomavirus (JC virus). *Science*, 201: 1246-1249, 1978.
- 8) 森山隆志, 齊藤和子, Jenö Julow: Contrast enhancement に及ぼす高張 glycerol の意義. *脳神経外科*, 8: 1155-1162, 1980.
- 9) Neuwelt, E.A., Maravilla, K.P., Frenkel, E.P., et al.: Use of enhanced computerized tomography to evaluate osmotic blood-brain barrier disruption. *Neurosurgery*, 6: 49-56, 1980.
- 10) 西田和男: Rous sarcoma virus, Schmidt-Ruppin 株による実験的サル脳腫瘍. *神経進歩*, 20: 172-183, 1976.
- 11) Rieth, K.G., Di Chiro, G., London, W.T., et al.: Experimental glioma in primates: A computed tomography model. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 4: 285-290, 1980.
- 12) Salzman, M., Leviw, H. & Rao, K.: Value of sequential computed tomography in the multimodality treatment of glioblastoma multiforme. *Neurosurgery*, 8: 15-19, 1981.
- 13) Salzman, M., Scott, E.W., Schepp, R.S., et al.: Transplantable canine glioma model for use in experimental neuro-oncology. *Neurosurgery*, 11: 372-381, 1982.
- 14) 田中隆一: 悪性腫瘍の温熱療法, 脳腫瘍治療への応用の可能性. *脳神経外科*, 10: 7-19, 1982.

- 15) Yamada, K., Bremer, A.M. & West, C.R.: Effects of dexamethasone on tumor-induced brain edema and its distribution in the brain of monkeys. *J. Neurosurg.*, 50: 361-367, 1979.
- 16) Zimmerman, H.M. & Arnold, H.: Experimental brain tumors, 1, tumors produced with methylcholanthrene. *Cancer Res.*, 1: 919-938, 1941.

## Comments

立派なよい研究・論文である。一つ気に懸ったのは序言の冒頭に、「大動物に原発脳腫瘍を作製すること」とあることである。「原発脳腫瘍」というのは、「転移性あるいは移植性脳腫瘍」に対する言葉と著者は解されて使用されたのであろうが、実際は「原発性」とは primary であり、「二次的」secondary に対する言葉である。必ずしも「転移性」metastatic に対する意味ばかりではない。本実験のように chick embryo をウイルスで感染させたものを「移植」するものでは、やはりある意味での「移植性」脳腫瘍であり、かつ多分に「二次的」な脳腫瘍である（腫瘍学者によって解釈も異なると思うが）。本研究のように、ウイルスを全身投与したのではなしに、脳内へ投与したものでは、真の「原発性」脳腫瘍と呼んでよいかどうか疑問がある。本実験の方法での腫瘍は、ニトロソ尿素で胎盤を通過する方法で作った仔の脳腫瘍よりも「原発性」が高いとはいえない。

余計な文句を並べたが、本研究は極めてレベルの高いものである。

畠中 坦（帝京大学 脳神経外科）

ウイルス誘発サル脳腫瘍の作製に54%の成功率で作製できたことは、大変有意義なことで嬉ばしいことである。

確かにX線CT像は空間解像力はよくなく、マウス、ラットのごとき小動物での脳のX線CT像の読影は難しく、病理所見との比較は極めて困難と考えられる。その点日本ザルによる両者の比較は、ヒトにおけるそれと大きさの点でより臨床の場合と近いものになり、読影に役立つ研究ができるものと思われる。

同定しえた腫瘍の最小径が4~6mmというのは、ファントムによる空間解像力の約0.5mmに比べると大きいように思われるが、実際の生体ではいろいろな要因が入るので当然のことと思われる。

CT像の腫瘍径と剖検脳での実測値では、前者が約2mm大きめに出るのは window level, window width の設定の仕方にも関係があると思われるがいかがなものであろうか。

本保 善一郎（長崎大学 放射線科）

Axial CTにCoronal CTを加えたBiplane CTを使用  
頭蓋内疾患、眼窩内や副鼻腔疾患の立体的診断のアトラス

# BIPLANE CT アトラス

## 主 要 内 容

- |                                   |                                |
|-----------------------------------|--------------------------------|
| I. 全身用CT装置の使用による<br>Coronal CT撮影法 | VII. 弓隆部と大脳半球における腫瘍とその他の疾患     |
| II. 前頭蓋窩腫瘍およびその他の疾患               | VIII. 傍矢状線と大脳鎌周辺部における腫瘍とその他の疾患 |
| III. 限局性眼窩内腫瘍およびその他の疾患            | IX. 脳室内および脳室周辺部の腫瘍とその他の疾患      |
| IV. 眼窩周辺部（副鼻腔，鼻咽頭）の腫瘍             | X. 小脳天幕および天幕切痕周辺部の腫瘍           |
| V. トルコ鞍近傍部腫瘍およびその他の疾患             | XI. 後頭蓋窩腫瘍およびその他の疾患            |
| VI. 中頭蓋窩腫瘍およびその他の疾患               |                                |

著者紹介

なかがわ ひろし  
中川 洋

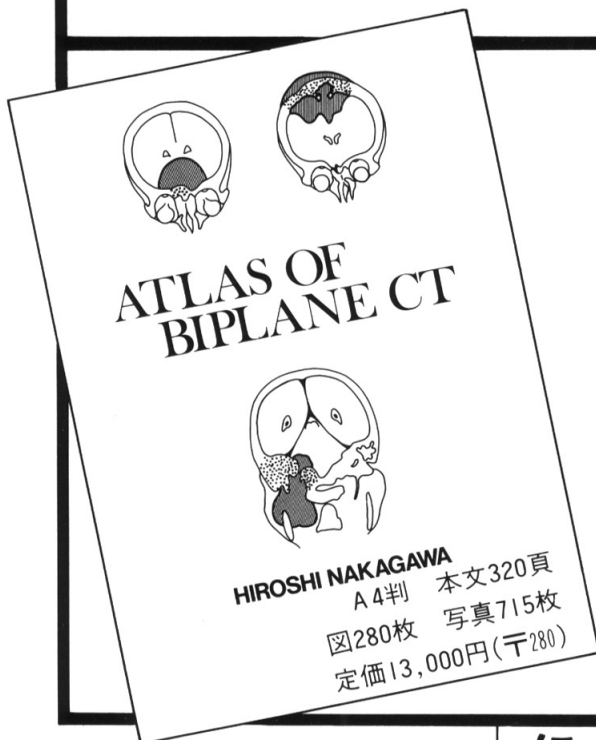
ニューヨーク市立大学

マウントサイナイ医学部脳神経外科助教授

愛知医科大学 脳神経外科助教授

## 本書の特色

- ① 世界に先がけて直接法によるCoronal CTを開発した著者が、過去4年間に集積した1500例の中より厳選した120例のBiplane CTアトラス
- ② 症例を中心として、CT所見、手術所見、経過観察等を記載し、コメントとして、各疾患の頻度、症状、鑑別診断の要点をまとめ、また引用文献も付記した
- ③ 髄膜腫を中心とした部位別の鑑別診断をBiplane CTを使用して検討し、Coronal CTの角度と代表的なCTスライスを図示した



にゅーろん社

〒141 東京都品川区東五反田4-7-26  
☎ 03(445)0358・振替 東京3-13608