

動物腫瘍の蛋白基, 各種酵素およびこれに及ぼす制癌剤の 影響に関する組織化学的研究

第 2 編

固型腫瘍の蛋白基およびこれに及ぼす制癌剤の 影響に関する組織化学研究*

岡山大学医学部第1外科教室 (指導: 陣内傳之助教授)

石 原 清

〔昭和37年12月24日受稿〕

第1章 緒 言

第1編においては, 蛋白成分として蛋白質結合SH基, SH・SS基, SS基, NH₂基, 蛋白質含有チロシン, フェノールおよびその化合物を対象とし, Ehrlich 腹水癌, 吉田肉腫(腹水型)を用いて, 各種制癌剤投与による反応の変化を細胞化学的に観察した。

本編においては, 固型腫瘍すなわち, Ehrlich 固型癌 (以下「Eh」), NF肉腫 (以下「NF」)を用い, 第1編と同様に表1に示すごとく各種組織化学的反應を施行し, 各種制癌剤投与による反応の影響を, 組織化学的に観察した。

表1 蛋白質の諸組織化学的反應

- A) 蛋白質結合 SH 基 (以下 SH 基)
- B) 蛋白質結合 SH・SS 基 (以下 SH・SS 基)
- C) 蛋白質結合 SS 基 (以下 SS 基)
- D) 蛋白質含有チロシン (以下チロシン)
- E) 蛋白質結合 NH₂ 基 (以下 NH₂ 基)
- F) フェノールおよびその化合物 (以下フェノール)

第2章 実験材料および実験方法

実験動物

実験動物には, 体重 20g 前後の dd-s 純系マウスを用いた。腫瘍の移植は, 「Eh」では腹水を1匹あたり 0.2cc 宛マウスの背部皮下に注入する。「NF」では一定の大きさに達した腫瘍組織を剔出し, 約 1mm³ の大きさに細片し, これをマウスの側腹部皮下に注射する。

* (本論文の要旨は, 第21回日本癌学会において発表した),

表2 各種制癌剤投与量

	Ehrlich 固型癌	NF 肉 腫
Colchicin	10 γ ×10d	10 γ ×10d
Nitromin	1mg×10d	1mg×10d
Sarkomycin	4mg×10d	4mg×10d
Mitomycin C	10 γ ×10d 20 γ ×10d	10 γ ×10d
Endoxan	1mg×10d	1mg×10d
Merphyrin	200mcg×10d	200mcg×10d

d : day

実験方法

制癌剤としては Colchicin, Nitromin, Sarkomycin, MitomycinC, Endoxan および Merphyrinを用い, 腫瘍移植後8~10日頃, すなわち腫瘍の大きさが小指頭大となつた頃の動物の腹腔内に, 表2のごとく各種制癌剤を投与した。制癌剤投与量は, 形態学的あるいは病理組織学的変化のもつともよく現われるような投与量を選んだ。

切片の作製および組織化学的証明法

第1編において詳述した方法によつた¹³⁾。

第3章 実験成績

実験成績を一括表示すれば, 表3に示すごとくである。

A. Ehrlich 固型癌

1) 制癌剤非投与群 (対照群)

i) H-E 染色: 腫瘍周辺部では細胞の分裂像が多

表 3 各種制癌剤に対する各蛋白質の組織化学的反応態度

	Ehrlich 固型癌								NF 肉腫							
	K	C	N	S	M 10%	M 20%	E	Mr	K	C	N	S	M	E	Mr	
SH	P	+	+~++	+	++	++	+	+	+	+	+~++	+	+	++	+	
	D	++	++	++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++~+++	++	
	N	±	±	±	+	+	+	±~+	±	±	±	+	±	±	±	
	S	+	±	±	++	++	+++	+	++	-	±	±	+	+	+	
SH・SS	P	+	+	+	++	+	+	+	++	+	++	+	++	+	+	
	D	++	++	++	+++	+++	++	++	+++	++	+++	++	+++	++~+++	++	
	N	±	±	±	+	+	+	+	±	±	±	±~+	±	±	±	
	S	+	+	+	++	++	+++	+	++	+	±	±	+	+	++	
SS	P	+	+	+	+	±	+~++	±~+	±	+	+~++	±	±	±	±~+	+
	D	++	++	+~++	+~++	+	++	++	+	+~++	++	+	+	+	+	
	N	±	+	+	±	+	+	±~+	±	±	±	±	±	±	±	
	S	+	++	-	±	+	±	+	±	+	++	±	±	±	±	
Tyrosin	P	±	+	+	±	±	++	±	-	±	±	+	±	±	±	
	D	+	+	±	+	+	++	++	-	±	±	+	++	+	+	
	N	+	+	±	+	+	++	++	-	±	±	+	++	+	±	
	S	+	+	±	+	±	++	±	-	±	++	+	++	++	+	
NH ₂	P	±	+	+	+	±	±	±	±	±	±	+	++	++	±	+
	D	+	+	±	±	+	+	+	±	+	±	+	±	±	+	+
	N	±	+	±	±	+	+	+	±	±	±	+	±	±	+	
	S	-	++	±	±	±	+	±	±	±	+	+	-	+	±~++	
Phenol	P	+	+	±	±	+	±	±	±	+	±	±	+	±	±	
	D	+	+	±	±	+	+	+	+	+	++	+	±	±	+	
	N	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	
	S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+	

++ : 高度陽性

- : 陰性

S : 間質結合組織部

S : Sarkomycin

++ : 中等度陽性

P : 増殖部

K : 対照

M : MitomycinC

+ : 軽度陽性

D : 変性部

C : Colchicin

E : Endoxan

± : 微弱陽性

N : 壊死部

N : Nitromin

Mr : Merphyrin

く細胞の異型性が著しい(増殖部)。これに対し、やや中心部に向くと核破壊、核崩壊、核染色性の低下等の類壊死の像がみられ(変性ないし類壊死部)、さらに中心では完全な壊死に陥っている(壊死部)。

ii) SH 基 : 増殖部では瀰漫性に弱陽性を示す。細胞質では陽性であるが、核では反応を認めない。変性部では、反応は増強して中等度陽性を呈し、微細な色素顆粒が細胞質を満たす。壊死部では反応は微弱となる。

iii) SH・SS 基 : SH 基に比し反応は増強する。増殖部では反応は弱く、変性部では反応は増強し中等度で、多数の色素顆粒の出現を認め、各細胞により陽性度に強弱の差が認められる (Fig. 1)。

iv) SS 基 : 増殖部にて陽性度が強く現われるが、各細胞の反応に強弱の差が認められる。間質も中等度の陽性を示す。

v) チロジン : 増殖部は軽度の陽性を示すが、各細胞による反応の差は認められない。変性部および壊死部では、やや増強する。

vi) NH₂ 基 : 増殖部の細胞は軽度の陽性を示す。核の反応は明瞭でない、ところどころ反応の強陽的な細胞集団が認められるが、これは H-E と対比し観察するに、変性に向わんとする組織部分と考えられる (Fig. 2)。

vii) フェノール : 組織の周辺部はやや強く、中心部は軽度の陽性を示す。細胞は瀰漫性に反応し、

核は陰性である (Fig. 3).

2) Colchicin 投与群

i) H-E染色: 増殖部にては腫瘍細胞の大小不同と, 巨細胞の出現が認められる. 中心に向うに従い, 結合組織の増殖と腫瘍細胞間の疎鬆化が著しい. 中心部は壊死に陥っている.

ii) SH 基: 増殖部は一般に中等度の陽性を示すが, 反応は部位により相当な強弱の差がみられる. なお結合組織の増殖著しい部および変性部では, 対照に比し反応が増強し, 細胞には微細な色素顆粒の出現をみる.

iii) SH · SS 基: 増殖部の反応は, 多彩かつきわめて不規則に現われる. 間質の増殖および類壊死の著しいところでは, 反応の強弱により格子状の像が認められる.

iv) SS 基: 増殖部の反応は瀰漫性に軽度に出現し, 間質の増殖, 組織の疎鬆化の部分では反応も多彩となり, 全般に中等度に反応する.

v) チロジン: 全般に瀰漫性に軽度に陽性を示す. 増殖部と壊死部とで反応の差は認められない.

vi) NH₂ 基: 軽度に陽性を示す.

vii) フェノール: 腫瘍組織および細胞とも, 全般に軽度の陽性を示す. 間質は比較的反応が強く出現する.

3) Nitromin 投与群

i) H-E染色: 増殖部では核の染色が不規則, 不明瞭となり, ところどころ巨細胞の出現, さらには核の膨化, 空泡変性が認められる. 中心部に向い結合組織の増殖, 出血壊死が認められる.

ii) SH 基: 活潑な増殖をみる部分では, 反応は比較的弱く現れ, 変性, 線維化, 出血をみる部では強く現れる. 巨細胞の反応は増強する.

iii) SH · SS 基: SH 基におけるより反応が増強する他, 差違は認められない. 変性部では増強し, 間質ないし増殖部では比較的弱い (Fig. 4).

iv) SS 基: 全般に反応は微弱であり, 変性部, 出血部にては陽性を, 増殖部は均等に弱陽性を示す (Fig. 5).

v) チロジン: 増殖部の腫瘍細胞は軽度の陽性, その他の部では微弱, 瀰漫性に反応する.

vi) NH₂ 基: 増殖の先端部は軽度の陽性を示すが, その他は微弱である.

vii) フェノール: 出血部, 壊死部にては, 中等度の陽性を示す. その他の部は瀰漫性で, 軽度ないし弱陽性を示す.

4) Sarkomycin 投与群

i) H-E 染色: 増殖部における巨細胞の出現, 細胞の膨化変性, さらには結合組織の増殖をみる. 中心壊死層もかなりの増大を認める.

ii) SH 基: 増殖部では中等度, ほぼ瀰漫性の反応を示す. 腫瘍細胞の反応は弱く, 間質の反応はむしろ強く現れる. 変性部では反応が増強し, 壊死部にては減弱する.

iii) SH · SS 基: SH 基におけるより全般に反応が増強する. 増殖部においても, 変性しかかっている部分では陽性度が強い. 変性部および間質では反応が増強する.

iv) SS 基: 全般に弱陽性で, 変性部ではやや反応が増強する.

v) チロジン: 増殖部は軽度, 変性部ではやや増強する. 腫瘍細胞の細胞質では微弱, 瀰漫性である (Fig. 6).

vi) NH₂ 基: 増殖部は弱陽性, 変性部, 壊死部ではさらに微弱である.

vii) フェノール: 全般に弱陽性で, 間質では反応がやや強く現れる.

5) MitomycinC 投与群

A群: 10%, 10日間連続投与

i) H-E染色: 腫瘍組織の変性, 壊死部の増加, 核の濃縮, 巨細胞の出現, 細胞の空泡変性が認められる.

ii) SH 基: 増殖部では反応はかなり強く, この部の腫瘍細胞は, 細胞質の周辺部で微細なる色素顆粒に富んでいる. 変性部では反応がさらに強く, 間質も中等度に反応する.

iii) SH · SS 基: SH 基の場合とほぼ同様の所見を呈する.

iv) SS 基: 増殖部では反応が弱くなり, 間質, 変性部ではやや反応が強い.

v) チロジン: 増殖部の反応は弱瀰漫性である. 組織破壊の著しい部分では, 反応は増強する (Fig. 7).

vi) NH₂ 基: 全般に弱陽性を示す. 変性部, 壊死部では, 反応がやや増強する.

vii) フェノール: 全般に軽度陽性を示し, 増殖部, 変性部, 壊死部で反応の差違は認められない.

B群: 20%, 10日間連続投与

i) H-E 染色: 10% 投与群に比し, 変性, 壊死の増加が著しく, 間質結合組織の増加も中等度に認められる.

ii) SH 基：増殖部の腫瘍細胞は軽度に、変性部は強く反応する。とくに結合組織の反応が著しい。

iii) SH・SS 基：増殖部は軽度の陽性を示し、巨細胞の陽性度が強くなる。

vi) SS 基：増殖部は軽度ないし中等度の陽性を示し、各細胞は顆粒に富む。巨細胞は反応が比較的強い。変性部では反応は増強し、壊死に向うに従い減弱する (Fig. 8)。

v) チロジン：全般に中等度の陽性を示す。間質結合組織は軽度に増強する。

vi) NH₂ 基：全般に弱く反応する。間質結合組織および変性部、壊死部では、反応がやや強い。

vii) フェノール：増殖部の反応は弱く、腫瘍細胞もその細胞質が瀰漫性に反応する。変性部、壊死部、間質にては、やや反応が強く現れる (Fig. 9)。

6) Endoxan 投与群

i) H-E 染色：腫瘍細胞の核濃縮、核破壊が著明で、巨細胞の出現もかなり認められる。全般に変性、壊死の増加が著しく、結合組織の増加は中等度である。

ii) SH 基：増殖部は中等度の陽性を示し、増殖部より中心部の変性部では、反応が増強する。なお巨細胞では、反応が軽度増強する (Fig. 10)。

iii) SH・SS 基：SH 基の場合に比し、軽度の増強をみる他、同様の所見を示す。

iv) SS 基：増殖部、壊死部は弱陽性、変性部では中等度に増強する。

v) チロジン：増殖部、間質結合組織は、瀰漫性に微弱陽性を呈する。変性部では中等度であるが、反応はきわめて強弱の差が強い。

vi) NH₂ 基：変性部、壊死部が軽度の陽性を示す他は、きわめて微弱に反応する (Fig. 11)。

vii) フェノール：増殖部では弱瀰漫性に、変性部、壊死部では反応がやや増強し、各細胞の反応もそれぞれ強弱の差が認められる。

7) Merphyrin 投与群

i) HE-染色：増殖部では、一部は変性に陥っているが、腫瘍細胞にはなお旺盛な核分裂が認められる。中心に向うと変性。壊死の増加はかなり著明となり、線維細胞の増加も認められる。

ii) SH 基：増殖部では腫瘍細胞集団は、瀰漫性、弱陽性で、反応の強さには一定の傾向が認められない。変性に向うに従い反応は増強し (Fig. 12)、組織構造の不規則な部位では、ことに著明である。間質の反応も著しい。

iii) SH・SS 基：全般に陽性度は著明に増強し、増殖部に近い変性部ではさらに強い。

iv) SS 基：SH・SS 基の場合に比し反応は減弱する。増殖部より変性部にて反応が強い。

v) チロジン：陰性を呈する。

vi) NH₂ 基：全般に反応は微弱である。

vii) フェノール：変性部の反応がやや強く、細胞質もよく反応する。

B. NF 肉腫

1) 制癌剤非投与群 (対照群)

i) H-E 染色：周辺の増殖部では、腫瘍細胞は紡錘形で活潑に増殖している。中心部に向うと、細胞は胞体の膨化、核破壊等の変性像がみられ、さらに中心部では完全な壊死に陥っている。

ii) SH 基：腫瘍細胞は中等度瀰漫性で、微細な顆粒の集積が認められる。増殖部は軽度陽性、変性部でやや増強する (Fig. 13)。

iii) SH・SS 基：変性部の反応がやや増強する他、SH 基の場合と大差は認められない (Fig. 14)。

iv) SS 基：増殖部は軽度陽性、変性部では微細顆粒が密に集合し、反応が強く現れる (Fig. 15)。

v) チロジン：全般に弱陽性に反応する。

vi) NH₂ 基：全般に弱陽性を示す。細胞の核の反応に強弱が認められる。

vii) フェノール：全般に軽度、瀰漫性に染まり、組織部位にて差違は認められない。

2) Colchicin 投与群

i) H-E 染色：Colchicin の影響は少い。僅かに腫瘍中心部に壊死像を認めるが、腫瘍細胞はなお活潑な分裂増殖を示している。ところにより radio-mimetic な核の破壊像が散見される。

ii) SH 基：全般に中等度の陽性を示し、変性部では増強する。ために反応が濃淡不規則な像を示す。

iii) SH・SS 基：SH 基におけるよりやや反応が増強し、同じく濃淡不規則な像を示す。

iv) SS 基：変性部には反応が著明に現われ、やや粗大な顆粒の集積が認められる。結合組織の反応も強く、増殖部ではところにより反応の強弱をみるが、全般に中等度に反応する。

v) チロジン：結合組織が中等度に反応する他、弱瀰漫性に反応する。

vi) NH₂ 基：腫瘍被膜および結合組織がやや濃染する他は、弱く反応する。

vii) フェノール：増殖部は全般に弱瀰漫性に、変性部では濃染し中等度に反応する。

3) Nitromin 投与群

i) H-E 染色: ところどころ変性部が増殖部に接して認められ, 巨細胞の増加および細胞間の疎鬆化が顕著である。間質結合組織も中等度に増加が認められる。

ii) SH 基: 増殖部の反応はやや増強する。変性部の反応も中等度に増強し, むしろ褐紫調が強くなる。

iii) SH・SS 基: SH 基の場合より反応はやや強く現れる。特異なことは, 巨細胞に顆粒が密集して認められることである (Fig. 16)。

iv) SS 基: 全般に弱反応を示す。変性部はやや強く, とくに雲絮状に不規則に反応する部分が認められる。

v) チロジン: 全般に軽度瀰漫性に反応する。とくに間質結合組織の反応が強くなる。

vi) NH₂ 基: 軽度に反応し, 腫瘍細胞はよく反応する (Fig. 17)。

vii) フェノール: 増殖部はごく軽度に反応する。変性部, 壊死部にてやや増強を示す。

4) Sarkomycin 投与群

i) H-E 染色: 腫瘍組織の疎鬆化, 間質結合組織の増殖および壊死の増加, さらに細胞密度の減少, 細胞質の膨化, 核の染色の大小不同が認められる。

ii) SH 基: 増殖部は瀰漫性, 軽度に陽性を示す, ところどころ変性に陥つたところでは陽性度が高まる。壊死部では組織の疎鬆化, 結合組織の増加にて, 反応の強弱の差をみ不规则となる (Fig. 18)。

iii) SH・SS 基: 増殖部で軽度, 変性部で著明に反応が増強する他 (Fig. 19), SH 基の場合とほぼ同様の所見を呈する。

iv) SS 基: 変性部の反応が軽度である他, 全般に微弱である。

v) チロジン: 増殖部は軽度, 変性, 壊死両部は中等度に反応し, 結合組織の反応はかなり著明である。

vi) NH₂ 基: 増殖部はかなり強く, 細胞の反応もよく認められる。細胞質で弱く, 核で強く反応するが, 同一部位同種の細胞でも反応の強弱の差が強い。また細胞間隙が疎となり, 変性に向うにつれて反応は微弱となる (Fig. 20)。

vii) フェノール: 増殖部および間質に軽度に反応する他, 微弱である。

5) MitomycinC 投与群

i) H-E 染色: 腫瘍組織内には壊死が著明で, 細

胞核は脱落, 消失する。壊死の周辺部には変性像あり, 増殖部における細胞の核にも破壊像が認められる。

ii) SH 基: 増殖部では顆粒は密で, 軽度の陽性を示し, 変性部では反応がやや増強し多彩な像を示す。

iii) SH・SS 基: SH 基に比しやや増強する (Fig. 21)。

iv) SS 基: 全般に弱陽性を示す。変性部では反応がやや強い。

v) チロジン: 増殖部は弱く瀰漫性に反応する。変性部, 壊死部の順に反応は増強する。結合組織の反応はかなり強く現れる。

vi) NH₂ 基: 増殖部では反応が著しく, 中等度に反応し, 結合組織の反応も強い。変性部, 壊死部となるに従って, 反応は微弱となる。

vii) フェノール: 全般に弱く反応する。壊死部および結合組織では, 活性はやや強い。

6) Endoxan 投与群

i) H-E 染色: 壊死が増加し, 腫瘍細胞の密度少く疎となり空泡化を見る。その間に巨細胞を認め, 結合組織は中等度に増殖する。

ii) SH 基: 増殖部は中等度に陽性で, 比較的よく反応する。変性部ではやや増強し, 腫瘍細胞の反応は同一部位同種の細胞でも強弱の差を示し, 一定の傾向を示さないが, 巨細胞は濃染する。

iii) SH・SS 基: SH 基の場合とほぼ同様の所見を示す。微細な顆粒が, 変性部に密集して認められる (Fig. 22)。

iv) SS 基: 全般に反応は弱い, 変性部がやや強く反応を示す。

v) チロジン: 変性部にて増強し, 軽度の陽性を示す。

vi) NH₂ 基: 壊死部よりむしろ変性部にて陽性が強い, 全般には弱く反応する。腫瘍細胞の核はかなりよく反応し, 巨細胞にとくに著明である。

vii) フェノール: 全般に微弱陽性を呈する (Fig. 23)。

7) Merphyrin 投与群

i) H-E 染色: 腫瘍細胞間の浮腫が高度で, 疎化が著しく, 細胞は膨化あるいは縮小を示し, きわめて大小不同が著しい。結合組織の増殖, 壊死巣が中等度に認められる。

ii) SH 基: 腫瘍の被膜は中等度に, 増殖部は軽度に反応する。変性部にてはやや増強し, 細胞の核

もよく染まり顆粒の集積も著しい。

iii) SH・SS基：SH基の場合より反応は著明に増強する。とくに結合組織の反応の増強が著しい。

iv) SS基：全般に弱陽性を示す。ところどころに斑点状に反応の高まつた部分が認められる。

v) チロジン：増殖部では微弱陽性、変性部および結合組織は軽度に反応を示す。壊死部は僅かに反応する (Fig. 24)。

vi) NH₂基：腫瘍の被膜はかなり強く、中等度に陽性を示す。増殖部は軽度、変性部、壊死部ではやや反応が強くなる。細胞核はよく反応する。

vii) フェノール：変性部、壊死部は軽度に陽性、増殖部は弱陽性。被膜および結合組織では、かなり強い。

第4章 総括ならびに考按

腹水腫瘍に制癌剤を投与した場合の各種蛋白基の変化については、第1編において報告したが、この場合は制癌剤を直接に腫瘍細胞に接触せしめたため、各制癌剤によりそれぞれ特有の破壊像をとり、各細胞に含まれる蛋白質の質的な変化が、細胞化学的によく認められた。

本編では固型腫瘍に制癌剤を投与したため、おのずからその組織化学的な反応態度も、第1編の腹水腫瘍の場合とは異つて現れてくるものと思われる。しかしながら、病理組織学的に観察した場合、腫瘍組織の変性、壊死像は制癌剤非投与例にも多少とも認められ、制癌剤によつておこる組織の変性、壊死像に特長的な像は認められず、多くは変性、壊死部分の増加ならびに間質結合組織の増殖、巨細胞の出現に量的な差異が認められるにすぎなかつた。

「Eh」をH-E染色でみるに、活潑な浸潤性の強い増殖を示しているが、Merphyrin以外の各種制癌剤では巨細胞がすべて出現し、それぞれに変性部、壊死部の増加、結合組織の増殖をみている。そして間質結合組織の増殖は、制癌剤の種類によりそれぞれ程度を異にしている。腫瘍細胞に対して破壊像をとくに強く示すのは、Nitromin, MitomycinC, Endoxanで、おのおの核の濃縮、膨化、破壊、空泡形成および細胞質の空泡変性が認められた。

「NF」をH-E染色でみるに、腫瘍周辺の増殖部では肉腫特有の活潑な増殖を示し、腫瘍細胞が充滿している。対照群では壊死巣や結合組織の増殖が少いが、制癌剤投与群では、制癌剤の影響がかなり著明にみられた。すなわち変性部、壊死部の増加は

Colchicinを除いて、それぞれ軽度ないし中等度に認められたが、間質結合組織の増殖は比較的著しくない。巨細胞の出現は、Nitromin, Endoxan投与群に認められ、とくに前者では顕著であつた。腫瘍細胞に対する影響は、とくにSarkomycin, MitomycinC, Endoxan, Merphyrinにて認められ、それぞれ細胞核の脱落、消失、細胞質の膨化、縮小、大小不同、空泡変性が認められた。この癌細胞に由来する巨細胞の出現は、対照群ではほとんど見当らぬものであり、組織化学的には反応の増強を示し、腫瘍組織の変性、崩壊機転に密接な関係をもつものと考えられる。

次に、各蛋白基の組織化学的所見を総合して考按するに、SH基は両腫瘍とも、組織内の各部分にて反応を異にはしているが、軽度ないし中等度に反応を示す。全般に制癌剤により、とくに反応は減弱を示さない、むしろ「Eh」でMitomycinC, Sarkomycin投与の場合は、全般に著明な反応の増強が認められる。なお増殖部の反応は、対照群に比し不変ないし軽度の増強を示しているが、とくに組織化学的に興味のある反応を示すのは、変性ないし、類壊死の部分である。変性部は、両腫瘍ともに制癌剤の投与の有無にかかわらず、組織のなかでもつともよく反応を示し、とくに「Eh」の場合にMitomycinC, Sarkomycin投与にて高度の陽性を示している。壊死部では組織の崩壊が著しく、反応も中心壊死部に近づくとつれ漸次減弱の傾向をたどり、それぞれ微弱ないし軽度に反応を示す程度で、反応も暗赤紫色調をおびる。間質結合組織は全般に弱く反応するが、「Eh」にSarkomycin, MitomycinC, Merphyrinを投与した場合には中等度ないし高度に反応する。巨細胞では、反応は他の組織部分より一般に強く現れ、「NF」にEndoxan投与の場合は濃染を示す。この制癌剤投与により、出現する巨細胞の組織化学的反應の陽性度がとくに増強することについては、巨細胞が、癌細胞が変性、崩壊への過程において生じた一特殊形態であると考えらるならば、変性部の細胞が陽性度を増強して来る事実と自ら軌を一にするのではないかと考えられる。また増殖部においても、明らかに島状にdiffusに反応の高まつた細胞集団の部が認められ、同じ増殖部においても、その内部においては、必ずしも同一の細胞内蛋白代謝が営まれているものではないことを窺わしめる。前述のごとく、変性部位にて反応が強まる事実より考え、このような部位は恐らくは機能的にみて増殖と

いうよりは変性への過程が強いとみるのが妥当であろうと考えられる。したがって、このようにSH基反応で組織化学的に見れば、H-E染色で一見一様に増殖していると思われる部分でも、機能的な差異が発見できるわけで、きわめて興味深い。この組織の変性部でSH基反応が増強するという事実は、生化学的には、第1編でのべたように蛋白の変性が生じると、環状構造をもつた蛋白の構造が開いて、SH基が表面に出て、反応性を帯びるようになるためであるといわれている¹⁾。

SH基の組織化学的研究についてみるに、Foraker³⁾は、腫瘍組織に含まれるSH基量は非腫瘍組織よりはるかに多量であり、SH基を組織化学的に検索すると、すべての癌細胞の核および細胞質において陽性を示し、壊死部分では陰性であることを見ている。そしてこの反応は、腫瘍細胞が増殖性であるか、角化あるいは変性、壊死に向っているかでそれぞれ態度を異にし、非腫瘍性発育あるいは成熟過程にあるかでは、反応様式は変わらないとのべている。私の成績も、同氏の報告とほとんど一致した成績を示したのであるが、変性部において反応がいかに展開して行ったかについては、同氏の記述は見当らない。またSerra⁴⁾も、SH基の反応の強いことは蛋白代謝ないし発育過程の旺盛なことを示し、蛋白変性には反応性のあるSH基の増加を伴うとのべている。またBahr and Moberger⁵⁾も、悪性腫瘍のSH基反応は正常組織より増強し、核とくに巨大な核仁に顕著であり、SH基の反応性と各癌組織の悪性度との間には相関性は認め難いが、癌組織のSH基反応は、一般に不規則多彩であることが特長的であるとしている。さらに未分化の上皮性癌および腺癌では、いわゆる外層の増殖の強い部ではしばしば強い反応を見せ、それに反して中央の部分は反応が弱いと報じている。しかしながら、組織の変性、壊死部の反応という問題をとりあげていない。最近Oka⁶⁾は、methylcholanthrene投与によるマウス皮膚癌についてSH基の反応を報じ、Hayashiも同じく腫瘍組織についてのべているが、ともにSH基の組織反応部位あるいは分布状態のべたとどまつている。

ところで、間質結合組織におけるSH基反応についてであるが、がいして弱く、腫瘍組織間質よりもかえって筋細胞や血管壁に、より高度の反応を示しており、この事実はBahr and Mobergerの成績と一致している。

またSH基反応と抗癌剤投与との関連についてであるが、「Eh」にMitomycinC 10 γ またはSarkomycinを投与した場合、変性部の反応はともに高度の陽性を示した。この所見は、両抗癌剤の「Eh」に対する抗癌効果が著明で、多くの腫瘍細胞を変性に導いて来たと考えられると同時に、SH基の代謝に対して選択的、特異的に作用したとも考えられ、両剤の作用機序とも関連し興味ある所見と考えられる。

次にSH・SS基反応についてであるが、両腫瘍ともSH基反応における所見と平行し、SS基反応が後述するごとく腫瘍組織においてがいして弱い関係もあり、SH基反応より軽度の増強を見せる程度であつて、「Eh」にMerphyrin投与、さらに「NF」にSarkomycin投与した場合に、増殖部、変性部ともかなりの増強を見せているにすぎない。また反応はやや不規則、多彩な像を示し、顆粒がよく識別される傾向をもっている。

SH・SS基の組織化学的研究としては、橋口⁷⁾が人体腫瘍について報告し、浸潤性に増殖する癌細胞では多少とも反応が増強し、変性、壊死に陥つた部分では強染することを見ている。同氏の成績は、私の成績ともほぼ平行しているが、私の研究では壊死部の反応は、増殖部ないし変性部に比して明らかに弱く現れた。

SS基については、両腫瘍ともがいしてSH基に比し弱く反応する。SH基反応におけると同様、同一の組織内にも変性部では強い反応を示し、一般的に軽度ないし中等度に反応する。抗癌剤投与により、とくに増強あるいは減弱を示すような所見は認められないが、ただColchicin投与の場合にのみ中等度の増強を示した。増殖部の反応は、対照群に比して「NF」ではがいして減弱の傾向があり、「Eh」でもMitomycinC, Endoxan, Merphyrin投与にてやや減弱を示している。壊死部の反応は全般に微弱ないし軽度である。間質結合組織の反応も全般に弱いが、非投与群では弱陽性、Colchicin投与では両腫瘍とも中等度の陽性を示すのは特異的である。

SS基の組織化学的研究をみるに、橋口⁷⁾SS基反応は、多くの腫瘍細胞の核でよく染まり強陽性を示し、とくに線維肉腫では著しい濃染を示したとのべている。またSS基反応は、扁平上皮癌にては一般に弱く、腫瘍細胞壊死に由来する顆粒状のdebrisに軽度陽性を示し、癌真珠と癌細胞内角化部に軽度

に増強することより、Foraker らは、SS 基反応は細胞の角化と関連し、正常および腫瘍細胞の成熟度ないしは角化度の指標となりうるとし、角化との関連の重要性をのべているが、組織の変性部、壊死部における反応ということについてはのべていない。私の研究材料には全く角化という所見はなく、本問題には言及できない。また Oka⁶⁾ らも、前述の実験的皮膚癌における SS 基反応についてのべ、SH 基反応よりも弱く現れ、SH 基反応の分布状態とはほぼ同様の所見を示すことをみている。

チロジン反応は、両腫瘍とも弱いし中等度の陽性を呈する。「Eh」では各種制癌剤により相異つた所見を呈し、MitomycinC、Endoxan により反応が増強するが、一方 Merphyrin では反応は陰性に陥る。「NF」では、Sarkomycin にて反応が中等度に増強する。また増殖部では全般に反応が弱く、変性部では反応が増強する傾向をもっているが、不変の場合も認められる。間質結合組織の反応も、場所により陰性から中等度陽性までのいろいろ多彩なる反応を示し、ことに「NF」では大部分が中等度に反応する。以上のように、チロジン反応では、前述の SH 基、SS 基反応のごとき一定の規則性は認められない。

チロジンの組織化学的研究について、安田⁸⁾ は吉田肉腫では反応が貧弱であると報じ、三富⁹⁾¹⁴⁾ が切除胃についてチロジンの反応を検討しているが、詳細な記述を欠いている。

私の研究では、組織変性部にチロジン反応の増強の傾向が認められたが、これは蛋白の変性によつて、その分子構造とくに重合の状態に変化を生じたためと推定される。今堀も⁷⁾、生化学的に SH 基が蛋白変性に際して増強すると同様な理由で、蛋白のチロジン基も増強することを報告しているが、私の研究の組織化学所見ともよく一致している。

NH₂ 基は、一般に軽度の陽性を示す程度で、とくに核がよく反応する。巨細胞ではとくに反応が著明である。壊死部の反応は弱く、間質結合組織も陰性ないし軽度の反応を示す。増殖部では一般に微弱ないし軽度に反応するが、中等度に認められる部分もある。「Eh」の非投与例で、ところどころ陽性度の高まつた細胞集団が認められるのは特異的である。制癌剤投与により、変性部の反応は増殖部より増強することもあり、あるいは減弱することもあり、一定の傾向を示さない。この所見は、他の蛋白基反応の場合に、制癌剤投与で変性部は増殖部に比してや

応が一般に増強する傾向にあるという事実と比べて注目に値することで、各制癌剤の作用機序とも関連する問題と考えられよう。

NH₂ 基の組織化学的研究としては、Weiss¹⁰⁾、Potter¹¹⁾および橋口⁷⁾¹²⁾ らの研究がある。Weiss らは、NH₂ 基は一般に細胞の核に強くとくに核小体、nuclear sap にて著しく、細胞質はやや弱く反応し、間質結合組織は弱いし中等度に反応するとのべ、反応の強さは固定液の種類によつて差異があるとしている。また Potter は、人間の皮膚および良性腫瘍について NH₂ 基の組織化学的研究を行い、細胞核および細胞質が同一程度の強さでよく反応し、間質結合組織の反応も良好であることをみているが、腫瘍では必ずしも一定の反応を示さず、とくに巨細胞は H-E 染色の方がより明瞭な染色を示したとのべている。しかしながら両氏とも、腫瘍性増殖あるいは蛋白変性という問題と NH₂ 基反応との関連については、何ら言及していない。腫瘍組織における NH₂ 基反応をとりあげているのは橋口¹²⁾ で、同氏は扁平上皮癌その他の人体腫瘍につき NH₂ 基反応を行い、角化部の反応が非角化部に比し強陽性であり、後者では核仁および核膜に強陽性であることをみ、一般に NH₂ 基反応は各腫瘍の母組織により特有の像を示し、角化や発育増殖の強弱に相当強く修飾されるとのべている。また組織内で壊死に傾いている部分で、反応の著明な濃染をみているのは注目に値する。以上、NH₂ 基反応についての報告をのべたが、制癌剤投与との関連についてのべた論文には接しない。

私の研究の制癌剤投与による影響という点では、NH₂ 基反応は一定の傾向を示さず、増殖部では両腫瘍とも不変ないしは軽度の増強をみ、とくに「NF」に対して Sarkomycin、MitomycinC を投与した場合には、中等度に増強をみせている。かかる所見からみると、一見 H-E 染色で活潑な細胞分裂を営んでいる増殖部と考えられる部分でも、制癌剤の影響が及んで来たためか、NH₂ 基の蛋白代謝という面から同部の蛋白が変性に向いつつあるのではないかと考えられ、ために反応の増強が認められたのであろうと推定される。

フェノールの腫瘍に関する組織化学的反應についての関連論文は、ほとんど認められないが、本反応は両腫瘍とも、増殖部では軽度の陽性を示している。制癌剤投与により、著明な影響は認められない。変性部、壊死部の反応は、他の部位の反応に比してや

や強く現れる傾向が認められる。ことに「NF」の変性部は Colchicin にて著明で, 中等度に反応する。しかしながら, 前述した各種蛋白基の反応で認められた変性による反応の増強という傾向は, 必ずしも明瞭でなかつた。また本反応では, 一般に細胞質あるいは核の反応の陽性度に差異が認められず, 瀰漫性の反応を示すことが多く, 細胞の内部構造とくに核, 核小体あるいは巨細胞等の反応を詳細に観察することは困難であつた。間質結合組織の反応は, 他の蛋白基の反応に比して比較的明瞭に現れた。

以上のごとく, フェノール反応は反応そのものが全般に弱く, かつ組織の各部分でも反応の差が著しいとはいえず, 制癌剤の影響を組織化学的に云々するには不十分で, なお十分の検討を要する。

第5章 結 論

2種の動物腫瘍, Ehrlich 固型癌, NF 肉腫の各種蛋白基, SH 基, SH·SS 基, SS 基, チロジン, NH₂ 基およびフェノールの6種の組織化学的反応を行い, 同時に各種制癌剤 (Colchicin, Nitromin, Sarkomycin, MitomycinC, Endoxan, Merphyrin)

投与後のこれら各蛋白基に及ぼす影響を組織化学的に検索し, 次の結果を得た。

1) SH 基および SH·SS 基反応は, 各種制癌剤投与により全般に軽度に増強するが, 両腫瘍とも組織中の変性ないし類壊死の部分は, 常に中等度ないし高度に増強を示し, この傾向はとくに MitomycinC Sarkomycin に著明である。

2) SS 基反応は, 制癌剤投与によりとくに増強あるいは減弱を示さない。ただし Colchicin 投与の場合では中等度に増強する。

3) チロジン反応は, 制癌剤投与により一定の規則性を示さない。

4) NH₂ 基反応は, 制癌剤投与により一定の傾向を示さない。NF肉腫では, 増殖部が Sarkomycin, MitomycinC 投与にて中等度に増強を示す。

5) フェノール反応は, 制癌剤投与によりほとんど変化をうけない。

稿を終るにあたり, 御校閲を賜つた陣内教授, 田中助教授および緒方講師に深謝する。

文

- 1) 豊島 滋, 加納晴三郎: 薬学研究, 25, 3, 151—172, 昭28.
- 2) 今堀和友: 蛋白化学 (安藤・倉谷編), 143, 共立出版, 東京, 昭30.
- 3) Foraker, A. G. and Wingo W. J.: Surg. Gyn. Obst., 101; 346—352, 1955; J. Histochem. Cytochem., 2, 472, 1954.
- 4) Serra, J. A.: Stain Technol., 21: 5, 1946.
- 5) Bahr G. F. and Mobererger G.: Acta Path. Microbiol. Scand., 42, Supp. 124—5. 109—132, 1958.
- 6) Oka, R., Okamoto, Y., Go. J. and Nagasuna, H.: Gann, 52, 4, 305—312, 1961; Gann, 51, Supp, 152, 1960.

献

- 7) 橋口孝雄: Gann, 47, 3—4, 759—761, 昭31: 大阪医学雑誌, 10, 1, 63—81, 昭33.
- 8) 安田常男: Gann, 43, 2—3, 64—65, 昭27.
- 9) 三富京子: Gann, 44, 120—122, 1953.
- 10) Weiss, L. P., Tsou, K. C., Seligman, A. M.: J. Histochem. Cytochem., 2, 29—49, 1954.
- 11) Potter, B.: J. Invest. Dermat., 1. 33, 245—256, 1959.
- 12) 橋口孝雄, 佐々木豊彦, 吉村浩輔, 篠山喜則, 杉本顕俊: 癌, 48, 4, 395, 昭32
- 13) 石原 清: 岡山医学会雑誌に投稿中.
- 14) 三富京子: 十全医学会誌, 57, 1, 281—319, 昭30.

A Histochemical Study on the Effect of the Antitumor
Agents in Animal Tumor.

Part II The Protein and Protein-Bound Amino-Bases in the
Ehrlich Solid Carcinoma and NF Sarcoma.

By

Kiyoshi Ishihara

First Department of Surgery, Okayama University Medical School, Okayama, Japan.

The protein and protein-bound amino-bases in the Ehrlich solid carcinoma and NF sarcoma were histochemically examined. And the influences of the antitumor agents, i. e. Colchicine, Nitromin, Sarcomycin, Mitomycin C, Endoxan and Merphyrin on these tissues were also observed, and the following results were obtained.

1. The stainability of the protein-bound SH and SH-SS was slightly increased by the administration of the antitumor agent. Both tumors showed moderate reaction in the proliferating area of tissue, while they showed always moderate or high reactions in the area of necrobiosis or degeneration, and especially remarkable by the administration of Mitomycin C and Sarcomycin.

2. The protein-bound SS reaction did not reveal so remarkable changes by antitumor agents in both tumors, but was moderately increased by Colchicine administration.

3. The tyrosine reaction did not show the definite regularities in both tumors by the administration of the antitumor agent.

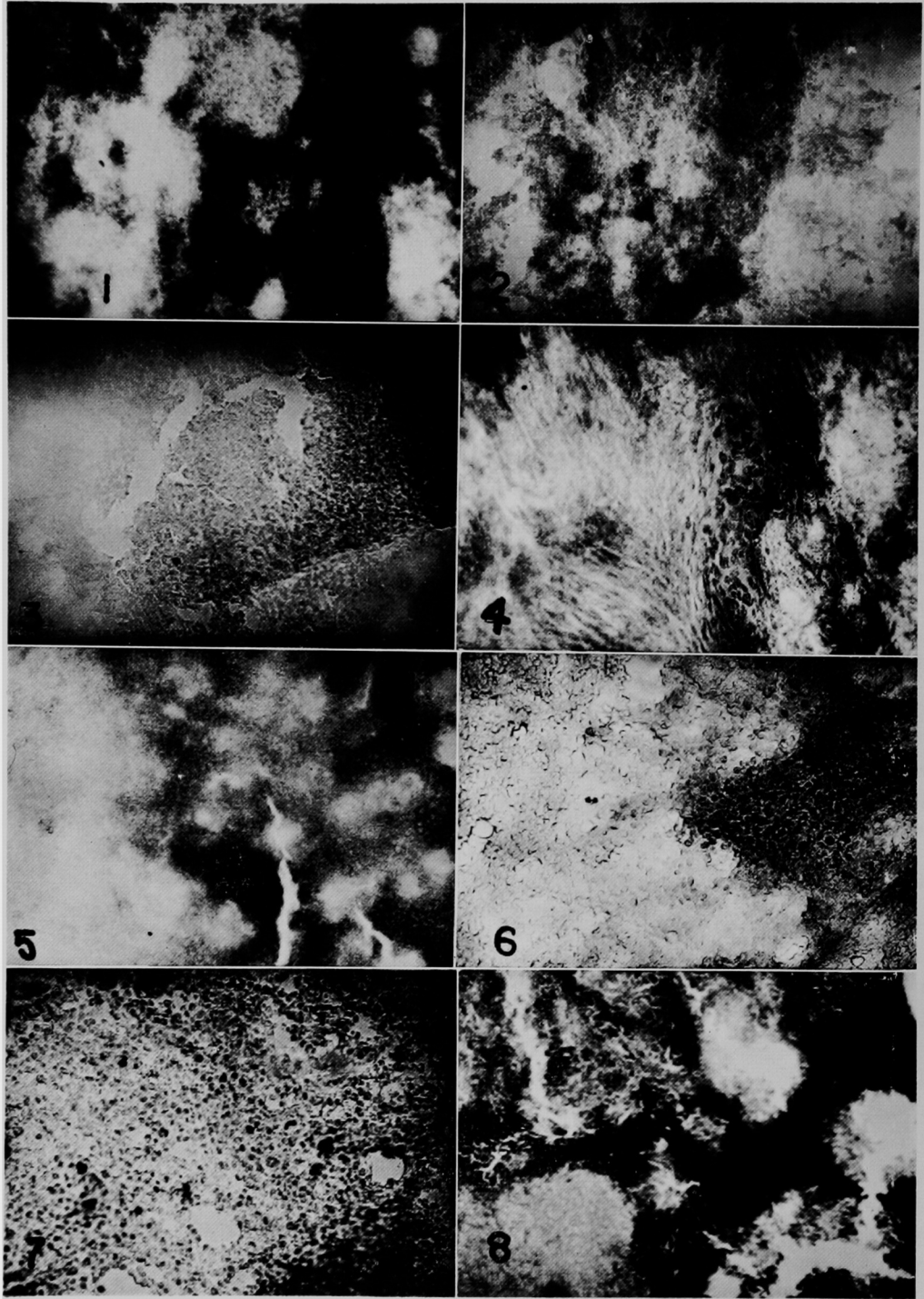
4. The protein-bound NH_2 reaction did not show the definite regularities in both tumors by the administration of the antitumor agent. Especially, the reaction in the proliferating area of the NF sarcoma was moderately increased by the administration of Sarcomycin and Mitomycin C.

5. The phenol and its compounds reaction did not show the remarkable changes in both tumors by the administration of the antitumor agents.

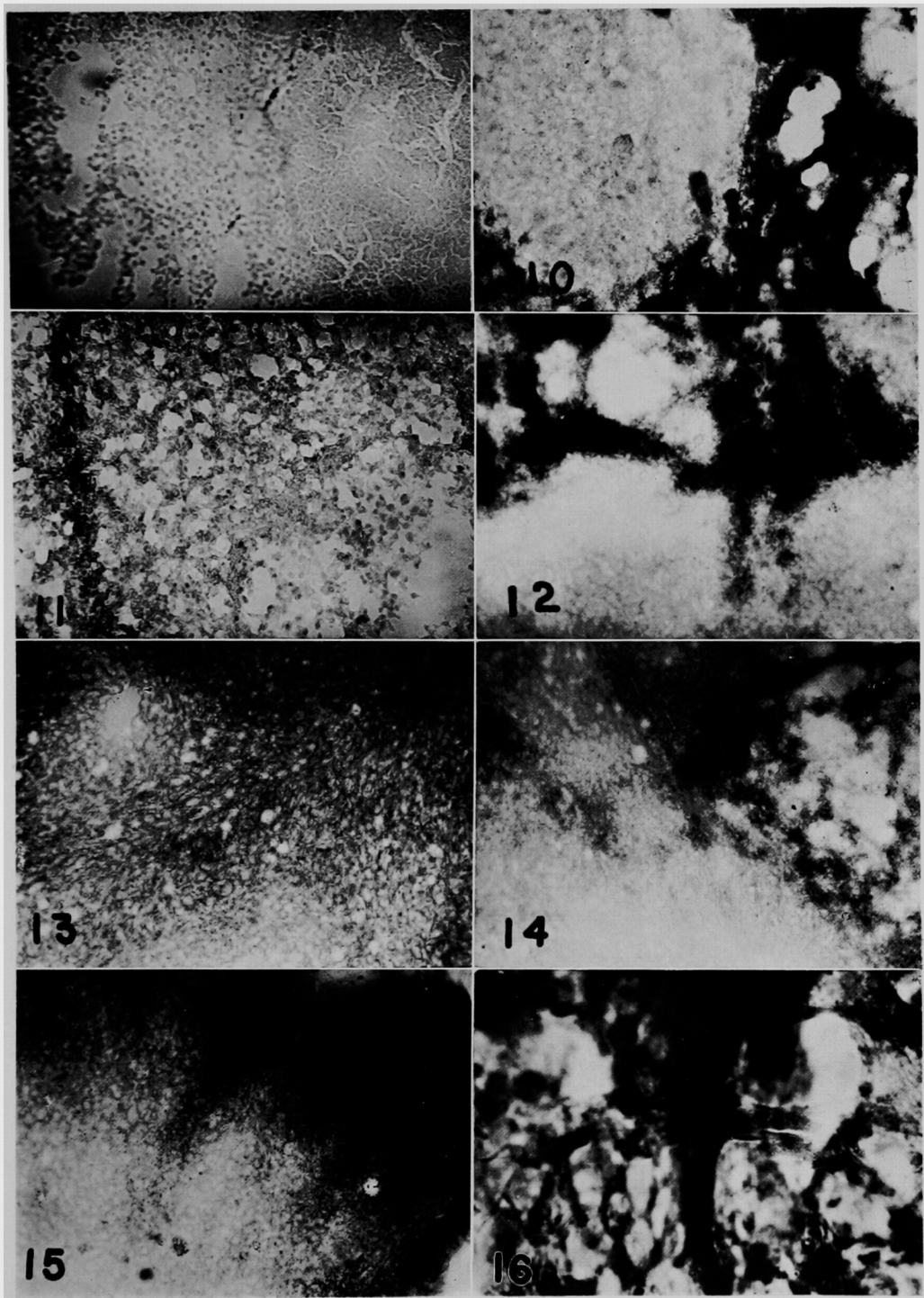
Explanation of Figures

- 1) Fig. 1—12: Ehrlich solid carcinoma; $\times 100$
 - Fig. 1: SH-SS reaction, control sections;
 - Fig. 2: NH_2 reaction, control sections;
 - Fig. 3: phenol reaction, control sections;
 - Fig. 4: SH-SS reaction, Nitromin Img;
 - Fig. 5: SS reaction, Nitromin Img;
 - Fig. 6: tyrosine reaction, Sarcomycin 4mg;
 - Fig. 7: tyrosine reaction, Mitomycin C 10 γ ;
 - Fig. 8: SS reaction, Mitomycin C 20 γ ;
 - Fig. 9: phenol reaction, Mitomycin C 20 γ ;
 - Fig. 10: SH reaction, Endoxan Img;
 - Fig. 11: NH_2 reaction, Endoxan Img;
 - Fig. 12: SH reaction, Merphyrin 200 mcg.
 - 2) Fig. 13—24: NF sarcoma
 - Fig. 13: SH reaction, control sections, $\times 100$;
 - Fig. 14: SH-SS reaction, control sections, $\times 100$;
 - Fig. 15: SS reaction, control sections. $\times 100$;
 - Fig. 16: SH-SS reaction. Nitromin Img, $\times 400$;
 - Fig. 17: NH_2 reaction, Nitromin Img, $\times 100$;
 - Fig. 18: SH reaction, Sarcomycin 4mg, $\times 100$;
 - Fig. 19: SH-SS reaction, Sarcomycin 4mg, $\times 100$;
 - Fig. 20: NH_2 reaction, Sarcomycin 4mg, $\times 100$;
 - Fig. 21: SH-SS reaction, Mitomycin C 10 γ , $\times 100$;
 - Fig. 22: SH-SS reaction, Endoxan, Img, $\times 100$;
 - Fig. 23: phenol reaction, Endoxan Img, $\times 100$;
 - Fig. 24: tyrosine reaction, Merphyrin 20 mcg, $\times 100$.
-

石 原 論 文 附 図



石原論文附図



石 原 論 文 附 図

