

子宮癌補助診断法としての T.P.T. 反応の 臨床的, 生化学的並びに組織化学的研究

第 2 編

T.P.T. 反応の生化学的並びに組織化学的研究

岡山大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 橋本 清 教授)

大学院学生 鳥 越 正 之

[昭和34年9月26日受稿]

緒 言

1894年 Pechmann & Runge¹⁾ によつて創製された 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride は 1949年 Kun 等²⁾ により初めて組織ホモシネイトについてコハク酸脱水素酵素の測定に使用されて以来, T.P.T. 及びその他の Tetrazolium 塩は生物学的還元系の組織化学的並びに生化学的実験に種々利用されてきた。他方, Mackenzie & Fuller³⁾ (1950) は婦人の腔内容物に T.P.T. を使用し, 細胞種類による内元性脱水素酵素活性の差及び T.P.T. の還元生成物である formazan の脂溶性を利用して婦人性器癌の診断法を発表した。しかして悪性腫瘍組織内の酵素系についての諸家の実験成績をみるに, 正常組織と対比して質的に異つたものでなく量的差異を示すことが多いが, その差異も報告者により亢進^{4)~9)}, 低下^{10)~12)}, 不定^{13)~15)} などと一定した見解をみない。この点に関して小田¹⁶⁾ (1958) はそれらの細胞の起源・分化性・種類の観点より実験しこれら種々なる報告を系統づけた。

著者は前編における T.P.T. 反応の臨床的研究の一部として T.P.T. に代えて Neotetrazolium chloride (N.T.) を使用しての準嫌氣的条件下(T.P.T. 反応と同一方法)における実験において, 細胞の着色度から腔内容物中の剝脱癌細胞の脱水素酵素活性度は剝脱非癌細胞のそれよりむしろ低い様に思われると報告したが, この点及び T.P.T. 反応の反応原理に関して組織化学的並びに生化学的に実験し, いささか知見を得たのでその成績を報告する。

第 1 章 子宮腔部組織及び腔内容物におけるコハク酸酸化酵素系活性並びに内元性脱水素酵素活性に関する生化学的実験

T.P.T. 反応にまつわる種々なる因子の内, もつとも重要な地位を占めるものは腔内容物の脱水素酵素活性であろう。子宮腔部癌組織におけるコハク酸脱水素酵素は非癌同組織の 4 倍の酵素活性を示すと報告されており^{17) 18)}, 又, 癌組織の内元性脱水素酵素活性は同一非癌組織より一般に高い値を示すと言われている¹⁶⁾。これらのことより正常子宮腔部及び子宮腔部癌組織, 非癌及び子宮腔部癌患者の腔内容物についてコハク酸並びに内元性脱水素酵素活性を相対定量し比較検討した。

第 1 項 実験材料

正常子宮腔部及び子宮腔部癌組織は岡山大学婦人科における手術による摘出直後の子宮腔部を使用し, その小切除片の含血液を濾紙で圧出せしめて 200mg 重量採取し, この組織塊を剃刀にて大体 0.5mm³ 以下に細切する。正常子宮腔部は弾力性硬性の為長時間にわたる小乳鉢法, ガラスホモジナイザー法, ホモブレンダー法によるホモゲナイズすることは極めて困難であり, 亦, その間に主として酸化によると思われる脱水素酵素活性の低下が甚しいので止むなく細切法によつた。後述の反応液に比し 200mg という多量の組織量を使用したのは正常子宮腔部組織の脱水素酵素活性が低く, 50mg 以下の組織量使用の実験では光電比色が不能であつた為である。

腔内容物は外来及び入院患者より採取し, 腔内容物の細胞成分の多寡即ち酵素源の多寡を一定にする為に

1,000 r.p.m. 10分遠沈し、その沈渣 200mg を使用した。尚、正常例においては腔内容物が少量の為に数例のものを混合して使用した。

第2項 実験方法

T.P.T., N.T., blue tetrazolium (B.T.), I.N.T. など4種の Tetrazolium 塩の中では、N.T.¹⁹⁾²⁰⁾ 或いはI.N.T.²¹⁾²²⁾ の反応が鋭敏であり、而もN.T. の還元度を指標とした組織ホモジネイトのコハク酸脱水素酵素活性度は検圧法によつて測定した O₂ 消費量と平行するといわれ²¹⁾、N.T. 還元生成物である diformazan の結晶が小さく、且つ T.P.T. の formazan より脂溶性が劣るので拡散の心配が少なく、細胞化学的検索においても便利である等の利点により N.T. を指標薬とした。脱水素酵素活性測定法は Kun & Abood²³⁾ 以来種々なる方法があるが色の実験により各種条件・方法の至適状態を確立した小田³³⁾³⁴⁾ の方法に準じた。即ち 0.2M コハク酸ソーダ液 0.2cc, 0.1M 磷酸緩衝液 (pH 7.6) 中に 0.2 per cent の割合に溶解した N.T. 溶液 0.2cc, 細切せる組織又は腔内容物遠沈々渣 200mg を加え、混和後 37°C の恒温槽に30分おく。反応停止液として 10 per cent ホルマリン液 0.4cc を加え、エーテル・アセトン等量混合液で diformazan を反復抽出し、分光光度計にて定量した。尚、N.T. の diformazan の最大吸収波長は 520m μ である。又反応混液中のコハク酸ソーダ液の代りに蒸留水を用いて内元性脱水素酵素活性値を修正した。

第3項 実験成績

1) 子宮腔部組織

非癌例における酵素活性度は第1表の通りである。数値は酵素活性度の任意単位である。内元性脱水素酵素活性度はコハク酸酸化酵素系活性度の約 $\frac{1}{4}$ であり、年齢50才以上の2例においては内元性脱水素酵素活性度は若年例との差をみないがコハク酸酸化酵素系活性度は低下する傾向を認める。

癌例における脱水素酵素活性度は第2表の如くである。含癌率は検索していないが癌性糜爛又は小さな花菜癌に比し大きい花菜癌においては両酵素活性値とも高く或る程度局所々見に比例するように思われる。癌例においては一般に内元性脱水素酵素活性は高くなり大きい花菜癌においてはコハク酸酸化酵素系活性の約1.5倍の値を示した。非癌例と比較するとコハク酸酸化酵素系活性は2.8倍ふえており、内元性脱水素酵素活性は約17倍ふえている。

第1表 非癌子宮腔部組織の脱水素酵素活性

症 例(年齢)	内元性脱水素 酵素活性	コハク酸酸 化酵素活性
1 (28)	0.69	1.87
2 (37)	0.42	3.24
3 (39)	0.83	1.29
4 (40)	0.18	1.31
5 (41)	0.35	1.14
6 (42)	0.56	2.68
7 (43)	0.19	0.88
8 (44)	0.18	1.31
9 (47)	0.30	1.55
10 (52)	0.27	0.25
11 (59)	0.29	0.44
平 均 値	0.39	1.45

第2表 子宮腔部癌組織の脱水素酵素活性

症 例(所見)	内元性脱水素 酵素活性	コハク酸酸 化酵素活性
1(大花菜癌)	5.04	2.20
2(//)	10.62	6.21
3(//)	14.76	5.72
4(//)	3.79	2.49
5(//)	5.77	5.00
6(//)	4.81	3.47
7(//)	2.62	3.98
平 均 値	6.77	4.15
8(小花菜癌)	0.98	1.49
9(癌性糜爛)	0.88	1.33

2) 腔内容物

非癌及び子宮腔部癌患者の腔内容物遠沈々渣における両酵素系活性値は第3表及び第4表の如く、非癌例においては内元性脱水素酵素活性値はコハク酸酸化酵素系活性値の7.3倍の値を示し、癌例におけるそれは4.8倍の値であつた。癌例におけるコハク酸酸化酵素系活性値は非癌例におけるその2.4倍であり、内元性脱水素酵素活性値は1.6倍を示した。非癌例を増殖期・分泌期・妊娠に分類してみると少数例ではあるが分泌期の内元性脱水素酵素活性が幾分高くなつていくように思われ、他には差異はみられない。

第4項 考 按

コハク酸酸化酵素系は生体内酸化の終末過程である枸橼酸廻路中の重要な酵素系の一つであり古くから多数の人々に研究されており、且つその分布は広く植

第3表 非癌患者腔内容物の脱水素酵素活性

症 例(周期)	内元性脱水素 酵素活性	コハク酸酸 化酵素活性
1 (増殖期)	0.62	0.08
2 (//)	3.71	1.13
3 (//)	2.73	0.36
4 (分泌期)	3.87	0.50
5 (//)	3.36	0.20
6 (//)	5.46	0.40
7 (妊 娠)	0.53	0.10
8 (//)	2.56	0.64
9 (//)	3.46	0.20
平 均 値	2.92	0.40

第4表 癌患者腔内容物の脱水素酵素活性

症 例	内元性脱水素 酵素活性	コハク酸酸 化酵素活性
1	5.61	1.94
2	3.87	0.40
3	6.44	1.13
4	5.42	1.13
5	4.20	1.38
6	0.87	0.10
7	6.14	0.67
平 均 値	4.65	0.96

物及び微生物にも存在しているが、婦人科領域における定量的観察は少なく、Stuermer,²³⁾ Kyank,²⁴⁾ 御園生¹⁷⁾、住谷²⁵⁾等の論文を散見するのみである。御園生¹⁷⁾は子宮腔部癌組織のコハク酸脱水素酵素は正常子宮筋層の約4倍の値を示したと報告しており、小田¹⁶⁾は一般に正常では分化・成熟する程呼吸の亢進するような組織細胞では癌や肉腫細胞の方が呼吸が低下しているが逆に正常では分化成熟する程呼吸の低下するような組織細胞では癌や肉腫細胞の方が呼吸が亢進すると述べており、本実験においても大体同様な結果を得た。即ち子宮腔部組織についてみるとコハク酸酸化酵素系活性は癌例において非癌例の2.8倍に増加しており、内元性脱水素酵素活性は17倍に増加している。しかしながら腔内容物についてみるとコハク酸酸化酵素系活性値は癌例では非癌例の2.4倍の値であり、内元性脱水素酵素系活性値はわずか1.6倍程度の増加にすぎない。即ち子宮腔部組織と腔内容物を比較した場合、コハク酸酸化酵素系活性には大差はみられないが腔内容物の内元性脱水素酵素活性の低下が

極めて著しい。これは内元性脱水素酵素系はコハク酸酸化酵素系に比し種々なる操作に対して抵抗性が弱く非活性化され易いものであり^{16), 10), 26)}、分泌物・剥脱物貯溜を主とする腔内容物においては早くから本酵素活性の低下を来している結果であろうと考えられる。Stuermer²³⁾は子宮内膜におけるコハク酸脱水素酵素の生化学的観察により分泌初期が最も高く増殖初期が最も低いと述べている。本実験ではコハク酸酸化酵素系活性においては大差を認めず、分泌期の内元性脱水素酵素活性に或る程度の上昇を認めた。しかしながら増殖期における腔内容物中には頸管粘液が多量にあり、これは遠沈によるも除外出来ず、従つて細胞成分が分泌期におけるよりも少い為であるのかも知れない。

第5項 結 論

子宮腔部組織並びに腔内容物のコハク酸酸化酵素系活性及び内元性脱水素酵素活性を Neotetrazolium chloride を指標薬として比較定量した。

1. コハク酸酸化酵素系活性値：子宮腔部癌組織は正常子宮腔部組織の2.8倍に増加し、子宮腔部癌患者腔内容物は非癌者腔内容物の2.4倍を示した。50才以上の正常子宮腔部組織においてはコハク酸酸化酵素系活性の低下を来す傾向があるように思われる。

2. 内元性脱水素酵素活性値：子宮腔部癌組織は正常子宮腔部組織の17倍の値を示したが、子宮腔部癌患者腔内容物は非癌者腔内容物の1.6倍の値を示すに過ぎなかつた。

第2章 子宮腔部組織及び腔内容物におけるコハク酸酸化酵素系活性並びに内元性脱水素酵素活性に関する組織化学的実験

婦人科領域におけるコハク酸脱水素酵素活性の組織化学的研究に関しては Foraker,^{27)~30)} Marcuse²⁶⁾等の報告をみるのであるが、著者は前章において子宮腔部癌患者においては癌組織のみならず腔内容物においてもコハク酸酸化酵素系並びに内元性脱水素酵素活性の両者とも高い活性値を示すことを見出したが、かかる事実は何等かの形における脱水素酵素活性の現われであると考えられる T.P.T. 反応の本態と密接な関係にあることは想像に難くないところである。そこでかかる高い酵素活性は果して如何なる組織成分或いは細胞種類に由来するものであるかを組織化学的に明らかにし、ひいては T.P.T. 反応の本態を解明する手掛りにする為に次の実験を試みた。

第1項 実験材料

前章と同様の実験対象により実験材料を採取した。

採取せる子宮腔部非癌及び癌組織の含血液を濾紙にとり剃刀で1mm程度の薄切とする。腔内容物は子宮腔部癌患者及び非癌者の腔内容物を遠沈した沈渣200mgを使用した。

第2項 実験方法

前項の如くして得た実験材料を前章と同一の反応液に加え 37°Cの恒温槽に30分間置く。反応停止液はホルマリン原液を用い 10per cent液になる様滴下混和し、固定後組織片は凍結切片(15 μ)となしスライドガラス上にとり含水封入料(温めたグリセリン・ゲラチン)で封入する。腔内容物は固定後スライドガラスに塗抹し細胞種類を決定する為にヘマトキシリンで後染後同様に封入する。グリセリンも有機溶媒であり、細胞中に沈着した diformazan の溶出が考えられる為に標本作成後直ちに検鏡し暗紫色の diformazan の結晶の沈着状態を観察した。尚、各種条件による反応の差異をみる為に、コハク酸ソーダ液、磷酸緩衝液等の代りに蒸留水を加え、N.T.の代りにT.P.T.を使用し、又は嫌気性状態における反応の差異をみる為に T.P.T. 反応と同様にスライドガラス上でカバーガラスを覆い周囲を白色ワセリンで封じ 37°C30分反応を起させ他のスライドガラスに塗抹しホルマリン蒸気固定後ヘマトキシリンにて後染して検鏡した。

第3項 実験成績

N.T.還元生成物である diformazan の結晶は短桿状又は顆粒状であり、その沈着状態は次の通りである。

1. 子宮腔部組織

1) 正常子宮腔部組織

脱水素酵素活性は基底層において強く角化層には殆んどその活性をみない。活性度の低い結合織中であつて毛細血管内皮は可成り高い酵素活性度を認めるが基底層程高くない(写真1, 2)。頸管腺上皮は高い活性度を示すが殊に腺細胞の基底部に近い所が著明である(写真3)。

2) 子宮腔部癌組織

間質に比し癌巢の活性度は遙かに高く、しかも癌巢中心部より癌巢周辺部に著しい。diformazanは癌細胞の原形質に沈着し、後染を行わない標本では丁度核の部分だけ白くぬけてみえる(写真4, 5)。

2. 腔内容物(写真6, 7, 8)

脱水素酵素活性度即ち formazan 又は diformazan の結晶の出現度を0~+5の6段階に分類したが同一の細胞種類でも酵素活性度は一定していない為各細胞種類における結晶の出現度を百分率であらわした(第

第5表 (1)

癌・N.T.・嫌気性・緩衝液(-)・コハク酸ソーダ(-)

種 類	結 晶 出 現 度					
	0	+1	+2	+3	+4	+5
癌 細 胞		4	10	38	32	16
非癌上皮細胞	22	38	26	12	2	
白 血 球	22	46	24	6	2	
細 菌				4	16	84
					16	80

(2)

癌・T.P.T.・嫌気性・緩衝液(-)・コハク酸ソーダ(-)

種 類	結 晶 出 現 度					
	0	+1	+2	+3	+4	+5
癌 細 胞	16	20	22	26	12	4
非癌上皮細胞	62	28	8	2		
白 血 球	92	8				
細 菌		4	12	20	30	38
			12	38	24	22

(3)

非癌・N.T.・嫌気性・緩衝液(-)・コハク酸ソーダ(-)

種 類	結 晶 出 現 度					
	0	+1	+2	+3	+4	+5
非癌上皮細胞	20	56	20	4		
白 血 球	44	34	18	4		
細 菌			10	46	44	
			36	64	10	

(4)

癌・N.T.・嫌気性・緩衝液(-)・コハク酸ソーダ(+)

種 類	結 晶 出 現 度					
	0	+1	+2	+3	+4	+5
癌 細 胞	2	6	6	32	34	20
非癌上皮細胞	10	10	28	40	12	
白 血 球	22	38	30	10		
細 菌				4	16	80
				6	28	66

5表)。即ち T.P.T. より N.T. が鋭敏であり、腔内容物中最も酵素活性度の高いものは細菌であり、癌細胞、非癌上皮細胞、白血球の順に低くなっている。

(5)

癌・N.T.・嫌気性・緩衝液(+).コハク酸ソーダ(+)

種 類	結 晶 出 現 度					
	0	+1	+2	+3	+4	+5
癌細胞	2	2	22	20	30	24
非癌上皮細胞	4	8	28	46	10	4
白血球	18	22	30	22	8	
細菌				4	12	84
				4	10	86

(6)

癌・N.T.・好気性・緩衝液(-).コハク酸ソーダ(-)

種 類	結 晶 出 現 度					
	0	+1	+2	+3	+4	+5
癌細胞		10	26	36	20	8
非癌上皮細胞	6	40	36	18		
白血球	36	46	14	4		
細菌			2	10	28	60
				10	24	66

尚、赤血球においては酵素活性度は全く認められない。(3)と(2)を比較すると判る如く非癌上皮細胞、白血球、細菌の何れの酵素活性度も癌患者の場合が非癌者より高くなっている。その他緩衝液・コハク酸ソーダの使用により各細胞種類及び細菌の酵素活性度は高くなり、好気性状態では反応が劣る。尚、癌患者の腔内容物中の細菌数は非癌側のそれに比し腔内汚染の為か著明に増加している。

第4項 考 按

正常及び異常子宮腔部組織の組織化学的所見は Foraker,²⁸⁾ Marcuse²⁹⁾ の発表しているところであり著者の所見と一致している。遊出白血球の脱水素酵素活性度は海狸脾におけるリンパ球及び喰食細胞は酵素活性度を認めないとの報告³¹⁾があり、他方 Acryl 樹脂挿入により異物炎症を起さしめた場合白血球単球の酵素活性度は上昇すると言われ³²⁾、又子宮腔部組織における活性度の低い間質も炎症のある時は活性度が上昇し特に白血球に著しいと言われる²⁸⁾。本実験においても白血球のみならず剥脱非癌上皮細胞及び細菌の脱水素酵素活性は癌例において高くなっており、これはやはり癌の場合に随伴する炎症が高度の為ではないかと考えられる。しかしながら細菌を除いた細胞成分の中では剥脱癌細胞の酵素活性が最も高い。第1編

において白血球の発色度が癌細胞より強い様に思われると報告したが、これは、T.P.T. 反応の臨床面より考え Nekrobiöse に陥つた癌細胞中に現われる脂肪滴様の顆粒の染色状態又は細胞全体の彌慢性着色を規準とした為であり反応生成物の diformazan 結晶の沈着状態は癌細胞に著しい。

第5項 結 論

正常子宮腔部組織、子宮腔部癌組織、正常婦人腔内容物及び子宮腔部癌患者腔内容物の脱水素酵素活性を組織化学的に実験し次の結果を得た：

1. 正常子宮腔部の脱水素酵素活性は基底層に最も強く角化層では殆んど活性を認めない。間質は活性度が弱いが頸管腺上皮、小血管内皮は可成り強い。
2. 子宮腔部癌組織においては癌巣殊にその周辺部に著しい。
3. 正常婦人腔内容物の剥脱上皮細胞及び白血球においても弱いながら脱水素酵素活性を認める。
4. 子宮腔部癌患者の腔内容物中においては剥脱癌細胞の酵素活性度が最も強い。但し、非癌上皮細胞及び白血球の酵素活性度も正常婦人腔内容物のそれに比し上昇する。
5. その他、本反応は T.P.T. より N.T. が鋭敏であり、緩衝液・コハク酸ソーダを加え嫌気的条件下で行う場合が最も鋭敏である。

第2編の総括

正常婦人及び子宮腔部癌患者の組織及び腔内容物について生化学的並びに組織化学的方法を用いて種々検索した結果、コハク酸酸化酵素系と内元性脱水素酵素系の両者共癌患者において著明に亢進している。特に組織における内元性脱水素酵素活性値の上昇が著しいが本酵素活性は非常に不安定で腔内容物においては著明に減少している。しかしながら、正常婦人の腔内容物に比較すると癌患者では未だ1.6倍の値を示しており、これは組織化学的にみた場合癌細胞の活性が高い為ばかりでなく正常上皮細胞や遊走白血球並びに腔内細菌等の活性が正常婦人腔内容物のそれに比し明らかに亢進している為である事が判つた。かかる事実は癌患者において随伴性炎症が高度であるのと平行した所見である。癌患者の腔内容物中にみられる所謂 T.P.T. 反応の陽性細胞は上述の如き諸種細胞の内元性脱水素酵素活性の上昇と癌患者腔内容物 pH が自然に脱水素酵素反応の至適 pH 範囲に上昇している事により T.P.T. が多量に還元されて生じた formazan が脂肪変性を起した細胞や脂肪滴を喰食した細胞に拡散現象により

吸着・溶解された結果現われてくるものである事を確認した。

稿を終るに当り、終始御懇篤な御指導と御校閲を頂

いた橋本教授に衷心より感謝致しますと共に種々御助言を賜った妹尾病理学教室小田助教授に感謝致します。

又熱心に御協力戴いた大谷学兄に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Pechmann, Runge : Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 27, 2920, 1894.
- 2) Kun, Abood : Science, 109, 144, 1949.
- 3) Mackenzie, Fuller : J. Laboratory & Clinical Med., 35, 314, 1950.
- 4) Elliott, Greig : Biochem. J., 32, 1407, 1938.
- 5) Craig, Bassett, Salter : Cancer Res., 1, 869, 1941.
- 6) Schneider, Potter : Cancer Res., 3, 353, 1943.
- 7) Carruthers, Sutzzeff : Cancer Res., 7, 9, 1947.
- 8) Straus, Cheronis, Straus : Science, 108, 113, 1948.
- 9) Shelton : J. Nat. Cancer Ins., 16, 107, 1955.
- 10) Seligman, Gofstein : Can. Res., 9, 366, 1949.
- 11) Masouredis, Shimkin, Mallan, Fox : Nat. Cancer Inst., 11, 91, 1950.
- 12) Goddard, Seligman : Cancer, 6, 385, 1953.
- 13) Black, Opler, Speer : Am. J. Path., 26, 1097, 1950.
- 14) Black, Speer : Am. J. Path., 27, 743, 1951.
- 15) Foraker, Denham, Celi : Cancer, 7, 311, 1954.
- 16) 小田 : 岡山地方癌研究会々報, 2 : 101, 1958.
- 17) 御園生・戸沢 : 癌, 46 : 84, 1955.
- 18) 御園生 : 日産婦誌, 10 : 1049, 1958.
- 19) Shelton, Schneider : Anat. Record, 112, 61, 1952.
- 20) Glock, Jensen : J. Biol. Chem., 201, 271, 1953.
- 21) Shelton, Rice : J. Nat. Cancer Inst., 18, 117, 1957.
- 22) Pearson, Defendi : J. Histochem. & Cytochem., 2, 248, 1954.
- 23) Stuermer, Stein : Am. J. Obst. & Gynec., 96, 259, 1953.
- 24) Kyank : Zbl. f. Gynäk., 79, 1633, 1957.
- 25) 住谷 : 日産婦誌, 11 : 1109, 1959.
- 26) Marcuse : Obst. & Gynec., 11, 707, 1958.
- 27) Foraker, Denham : Prec. of the Soc. for Exper. Biol. & Med., 80, 132, 1953.
- 28) Foraker, Denham : Surg. Gynec. & Obst., 96, 259, 1953.
- 29) Foraker, Celi, Denham : Cancer, 7, 100, 1954.
- 30) Foraker, Denham : Am. J. Obst. & Gynec., 74, 13, 1957.
- 31) Knoth : Zsch. f. Krebsforsch., 59, 347, 1953.
- 32) 菩提寺他 : 日病会誌, 43(地方会号) : 75, 1955.
- 33) 小田他 : 岡医誌, 70 : 123, 1958.
- 34) 小田 : 細胞化学シンポジウム, 8 : 157, 1958.

写 真 説 明

- 写真1 正常子宮腔部組織、後染なし、diformazanの沈着は基底層に最も強いが結合織内の小血管の着色も認められる。
- 写真2 同一組織強拡大。
- 写真3 頸管腺、可成り強い着色を認める。殊に腺上皮の基底部に近い部分が著明である。
- 写真4 子宮腔部癌組織、後染なし、癌巣殊にその周辺部の着色が著しい。
- 写真5 同癌巣強拡大、核にあたる部分が白くぬけて見える。
- 写真6 正常婦人の腔内容物、ヘマトキシリンで後染、剥脱非癌上皮細胞でも種々なる程度の着色をみる。
- 写真7 同標本強拡大、白血球の酵素活性度も可成り高いことがある。細菌の着色も認める。
- 写真8 子宮腔部癌患者腔内容物、右方に発色強度な癌細胞をみる。

A Clinical, Biochemical and Histochemical Interpretation on T.P.T. Staining as a Supplementary Diagnostic Method for Carcinoma of the Uterus

Part 2 Biochemical and Histochemical Studies on T.P.T. Staining.

By

Masayuki TORIGOE, M. D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University Medical School
(Director : Professor Kiyoshi Hashimoto, M. D.)

T.P.T. staining is a supplementary diagnostic procedure for the detection of carcinoma of the uterus, based upon its varying stainability of endogenous dehydrogenase activity in the cells.

In order to clarify an underlying mechanism of the histochemical reaction, the biochemical and histochemical studies were done, using Neo-tetrazolium chloride as an indicator of the enzyme activity, on both the cervical tissues and vaginal smears of cancer and non-cancer patients.

In respect to succinic dehydrogenase activity, it appeared to be augmented 2.8 times in the carcinomatous cells than in the non-carcinomatous cells, and 2.4 times in the cancerous smears than in the non-cancerous smears. Also, in regard to endogenous dehydrogenase activity, it seemed to be increased 17 times in malignant cervical tissues than in the non-malignant tissues.

Although a striking decrease in the activity was observed in the vaginal smears due possibly to its unstable reaction, it showed to be 1.6 times higher in the cancerous smears than in the non-cancerous smears. Furthermore, the exfoliative cells in the cancer patients, such as cancer cells, non-cancer cells, leucocytes and microorganisms showed a higher activity compared with those in the non-cancer patients.

From the evidence above described, it is assumed that the T.P.T. positive reaction observed in the cancer patients might be due to the elevated activity in the various cells and the microorganisms and the concurrent elevation of the vaginal pH approximately close to the optimal pH for the stainability of succinic dehydrogenase. Thus, in the carcinomatous cells, T.P.T. is highly deoxidized with a resultant formation of formazan which makes its appearance in the necrobiotic cells or lipid-phagocytic cells.

写真 1

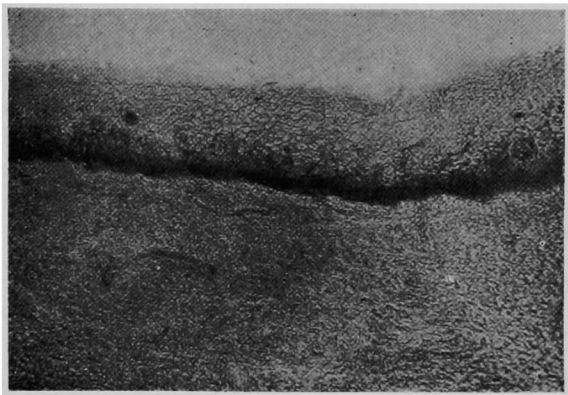


写真 2

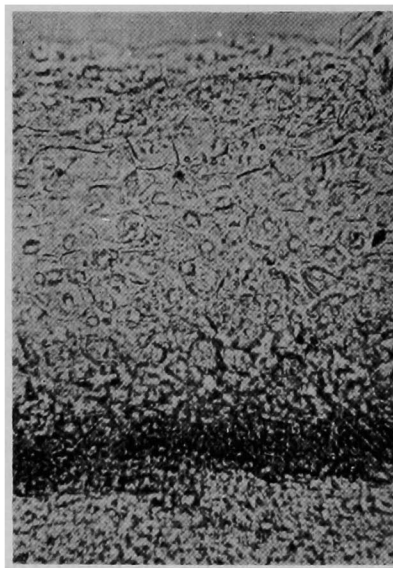


写真 3

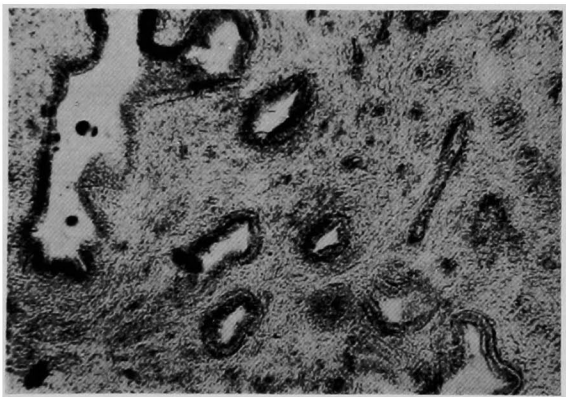


写真 4

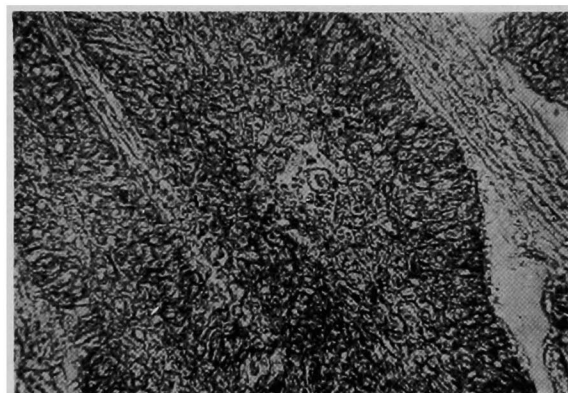


写真 5

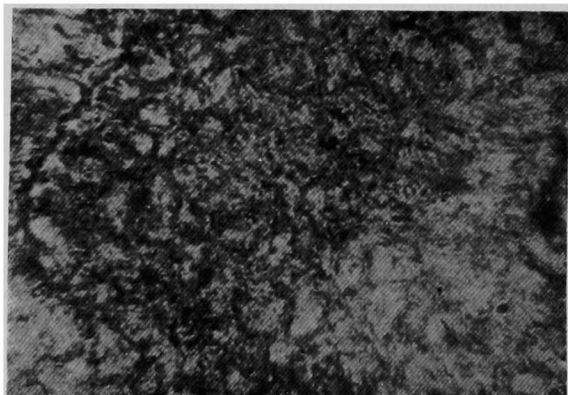


写真 6

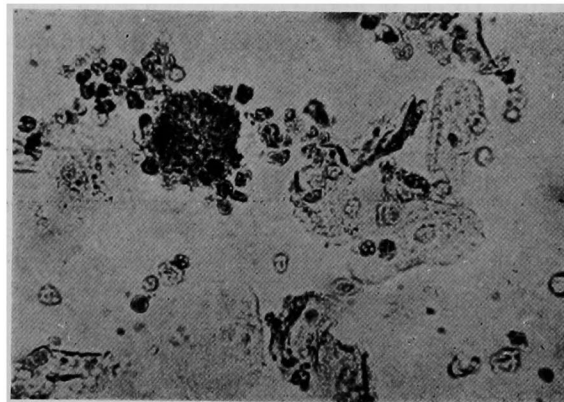


写真 7

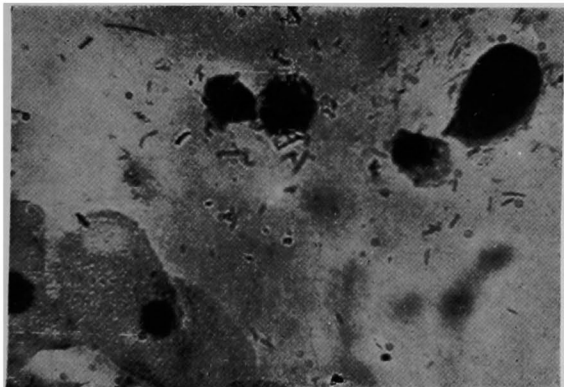


写真 8

