

骨腫瘍の組織化学的研究

第2篇 実験的骨腫瘍の組織化学的研究

金沢大学大学院医学研究科整形外科科学講座(主任: 高瀬武平教授)

真 鍋 昌 平

(昭和38年2月16日受付)

種々の発癌物質を用いて実験的に動物に悪性腫瘍を作る研究がなされ、主として放射性同位元素、Beryllium, Methylcholanthrene等が使用されているが、特に、 Sr^{89} , Sr^{90} , Ca^{45} が骨代謝に及ぼす影響と共に、骨腫瘍発現に関する実験が Lisco et al (1947), Hamilton (1947), Barnes et al (1958), Ray et al (1956), Skoryna et al (1959), Kidman et al (1952) らにより研究されて来た。

これら実験的骨腫瘍についての組織化学的研究については未だその報告を見ない。よつて私は放射性同位元素により発生した骨腫瘍につき組織化学的にその代謝型式を追求し、且つ、そのものの移植骨腫瘍に関しても同様の検索を行い、移植により組織化学的態度がいかに変化するを観察すると共に、これらの成績と前篇にて検索し得た臨床骨腫瘍の組織化学的所見と比較検討し以下の知見を得たので報告する。

〔1〕 Sr^{89} 投与による実験的骨腫瘍

実験材料並びに実験方法

生後4週～6週の ddN 均一系雌廿日鼠を用い、 Sr^{89} を体重 1g 当り 0.3 μc あて週2回、5週間計10回にわたり腹腔内に注射した。腫瘍発現は Sr^{89} 投与開始後9カ月から15カ月に至る、かなり広い幅を有しており、腫瘍が指頭に触知されるようになれば、レ線写真(小泉X線工社製 Softex H型にて 30～35KV, 20 mA, 1.5秒, サクラ医療用Y型フィルム)撮影、動物を殺し滅菌的に腫瘍を剔出し、その一部を次代として同じく生後4週～6週の ddN 均一系廿日鼠の大腿骨々髓内に移植し、残りの腫瘍組織をカルノア氏液、冷アセトンで固定し、後者については5% 中性 EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) 液にて脱灰後、パラフィン包埋とした。カルノア氏液固定には、可及的に軟い組織を撰び、脱灰せずにパラフィン包埋

とした。これを第1代腫瘍とした。次代として移植された腫瘍は約6週から11週で移植部に指頭大の腫瘍の形成を認め、これを、前述と同様の方法で、レ線写真を撮り、後に動物を殺してその腫瘍組織を、前述と同様の操作を経てパラフィン包埋とした。これを第2代腫瘍とした。

施行した組織化学的染色方法は、第1篇の臨床骨腫瘍において行つたと同様な方法を用いた。検索は第1代、第2代腫瘍について行つた。

実験成績

レ線所見

第1代腫瘍は大腿骨の近位端、遠位端、脛骨近位端に単独に、或いはこれらの部位に多発性に腫瘍の発現を認めた。発生部の骨は、骨柱が不規則となり、部分的に消失し、同時に骨硬化像も混在して認められ、その部を中心として周囲に拡張性に針骨形成が著明で、部分的に新生骨が雲状になつて見られる部もある(図1, 2)。

第2代腫瘍では移植部大腿骨々柱は不規則、一部破壊消失が起り、その部を中心として骨新生を認めるが、これは第1代腫瘍とやや異なつており、針骨よりむしろ雲状となつて新生骨が周囲に波及している。また既存の大腿骨は完全に消失し、雲状の新生骨により置換され或いは病的骨折をおこしているものもあつた(図3, 4)。

以上の如く第1代、第2代腫瘍共、骨形成性骨腫瘍と考えられ、特にヒト骨形成性骨肉腫のレ線所見と極めてよく類似している。

組織学的並びに組織化学的所見

1) 第1代腫瘍

腫瘍の周辺部は紡錘形、楕円形、円形の、クロマチンに富んだ核と同形の胞体を持つた異型細胞より形成され、一部この紡錘形細胞が束状の増殖を示し、また

しばしば核分裂を認める(図5)。また、腫瘍性巨細胞もあるが多くはない。腫瘍の中心部に向うにつれて異型細胞による直接の類骨、骨組織形成が見られるようになり、また類軟骨組織形成も時々認められた。また類骨組織が細長く、中心に向うように配列している部も認められる(図6)。既存骨は程度の差はあるがいずれも腫瘍細胞により破壊され、類骨組織形成を伴った腫瘍細胞により置換されている(図7, ↑印)。骨髓腔も同様に腫瘍細胞により置換され、腫瘍性類骨組織が認められる(図7)。

以上の組織学的所見により骨肉腫と考えられる。

組織化学的検索では、**Al. P-ase** は腫瘍の周辺部の腫瘍性類骨組織の認められない細胞成分に富んだ部では、腫瘍細胞の原形質、核に微細顆粒状に強く認められる。散在性に認められる腫瘍性巨細胞にも本活性を認めることが出来る(図8)。腫瘍性類骨組織の形成がある部でも部分的に細胞成分に富んだ部があり、ここでは同様に腫瘍細胞に強く認められるが、腫瘍性類骨形成の細胞はややその活性を減じ、特に類骨組織の中に存在する腫瘍細胞は、その活性を減弱し、この傾向は中心に近くなるほど、著明となる(図9)。類骨組織の基質には弱い **Al. P-ase** を認めるか、または全く認めない。

Acid P-ase は周辺部の類骨組織形成のない細胞成分に富んだ部(図10)、類骨組織形成の部でも集族的に細胞に富んだ部では、その腫瘍細胞の原形質、核に強い活性を示し、腫瘍性巨細胞にも同様に強い活性を認めることが出来る。類骨組織形成の細胞には **Acid P-ase** の強い活性を認めるものもあるが、一般にその活性は減弱し、腫瘍性類骨組織基質に弱い活性を、骨基質には活性はほとんど認められない。

PAS 反応は腫瘍の周辺部細胞成分に富む部では、腫瘍細胞の原形質に弱い反応を示すが腫瘍性巨細胞には比較的強い反応を示している。腫瘍性類骨組織の周囲に配列している腫瘍細胞にも弱い **PAS** 反応を認めるが、細胞間の間質に **PAS** 反応陽性物質が網状または瀰漫性に認められ(図13, ↑印)、これが類骨基質へ移行し、その反応は増強する。従つて、腫瘍性類骨基質では **PAS** 反応は強い(図11, 12)。また類軟骨組織の基質ではそれ以上に **PAS** 反応は強いが、そこに存在する腫瘍細胞の **PAS** 反応は弱い(図13)。

Takadiastase 消化試験では、腫瘍性類軟骨基質の **PAS** 反応陽性物質はかなり消化されているが、腫瘍細胞、腫瘍性巨細胞、類骨組織の基質の **PAS** 反応陽性物質は変化しない。

Pepsin 消化試験で腫瘍細胞、腫瘍性巨細胞、腫瘍

性類骨、類軟骨基質の **PAS** 反応陽性物質、及び細胞間 **PAS** 反応陽性物質はかなり消化される。

大野氏法による **pH 2.5 Toluidine blue** 染色では **Meta** は腫瘍性類軟骨組織の基質には認められないが、軟骨小囊及び軟骨腔に弱陽性を示し、**pH 7.0 Toluidine blue** 染色では腫瘍性類軟骨組織の基質にやや強い **Meta** を示す。

核酸については、**RNA** は腫瘍細胞の原形質に強く認められ、腫瘍性巨細胞ではそれ以上に強く認められた(図14)。これらの **RNA** は原形質内に一様、且つ、瀰漫性に認められ、核分裂にさいしては、原形質 **RNA** の変化を認められない細胞、またはその減弱を示す細胞、増強を示す細胞もある。核小体 **RNA** は1~2個しばしば数個認められ、核分裂にさいしては認められなくなる。腫瘍性類骨組織形成の腫瘍細胞には、これら **RNA** は減弱を示している。

DNA は腫瘍細胞の核内に認められ、粗大顆粒(図23の2)、塊状(図23の1, 3, 5)、索状(23の4)、及び粗大顆粒状、塊状に結節を有する糸状、網状 **DNA** が主として認められ、微細顆粒及び、糸状、網状 **DNA** はわずかに認められるか、または認められ難い。核膜附着及び核小体附随 **DNA** 顆粒は粗大顆粒状、塊状となつて存在し(図23の4, ↑, ↑印)、核小体附随 **DNA** 顆粒は核小体 **RNA** の増量に伴い増強する(図16)。類骨組織形成の腫瘍細胞では、**DNA** 顆粒は比較的小さく、索状及び塊状 **DNA** 顆粒を有する細胞の分布は少なくなる(図15)。腫瘍性巨細胞の核内に認められる **DNA** は腫瘍細胞の **DNA** の態度によく類似しているが核分裂を示すものには接しない。

2) 第2代腫瘍

組織学的には腫瘍の周辺部では、紡錘形、楕円形、円形の腫瘍細胞に富んだ部のみならず、腫瘍細胞により直接形成される腫瘍性類骨組織が見られる。しばしば紡錘形細胞の束状配列部が見られ、またこれらの組織中に腫瘍性巨細胞が多く散在している(図17)。腫瘍の中心部に向うにつれて腫瘍性類骨、骨組織の形成が著明となるが、部位により腫瘍性類軟骨組織への分化を示す部が認められる。骨皮質は破壊され、腫瘍組織により置換されている部があり、また、骨髓腔も類骨組織を伴う腫瘍細胞により充満されている。

組織化学的には、**Al. P-ase** は集族的な腫瘍細胞の増殖部、束状配列部では腫瘍細胞の原形質、核に強く認められるが、腫瘍性類骨組織形成の腫瘍細胞にややその減弱が見られ、類軟骨組織の認められる腫瘍細胞には強い活性を示す。腫瘍性類骨基質には弱い活性を示すが、類軟骨基質には強い活性を示す場合が多い

(図18).

Acid P-ase は類骨組織形成のない、細胞成分に富んだ部、類骨組織形成の部でも集族的に腫瘍細胞の増殖部では、その腫瘍細胞の原形質、核に強い活性を示すが、腫瘍性類骨組織中の腫瘍細胞にはその活性を減弱する。一方類軟骨組織中の腫瘍細胞には強い活性を認める。腫瘍性類骨基質には Acid P-ase はほとんど認められないが、腫瘍性類軟骨基質にはやや強い活性が認められ、その分布は不規則であり、瀰漫性ではない。

PAS 反応は腫瘍細胞の原形質には弱く、散在性の多数の腫瘍性巨細胞の原形質には強く反応する。腫瘍性類骨組織のまわりの腫瘍細胞にも弱い PAS 反応を認めるが、これらの腫瘍細胞の原形質の PAS 反応陽性物質とは別に、網状、雲状の PAS 反応陽性物質が間質に認められ、これが漸次増強し、類骨組織の基質へと移行している(図19, ↑印)。この細胞間 PAS 反応陽性物質は、腫瘍細胞の PAS 反応陽性物質と網状または突起状に互に連絡している。腫瘍性類骨組織の基質のみならず、腫瘍性類軟骨基質にも強い PAS 反応を認めるが(図20)、そこに存在する腫瘍細胞には、極めて弱いかまたは認め難い(図21)。

Takadiastase 消化試験では、腫瘍細胞、腫瘍性巨細胞、腫瘍性類骨組織の基質、腫瘍細胞間 PAS 反応陽性物質、の PAS 反応は変化しないが、腫瘍性類軟骨基質の PAS 反応はやや減弱する。

Pepsin 消化試験では、腫瘍細胞、腫瘍性巨細胞、腫瘍性類骨、類軟骨基質の PAS 反応陽性物質及び腫瘍細胞間 PAS 反応陽性物質はほとんど消化されている。

大野氏法 pH 2.5 Toluidine blue 染色では、腫瘍性類軟骨組織の軟骨小嚢及び軟骨腔に網状に弱い Meta を示し、pH 7.0 Toluidine blue 染色では腫瘍性類軟骨組織の基質にやや強い Meta を示す。

核酸については、まず RNA は、腫瘍性類骨組織のない細胞成分に富む部では、腫瘍細胞の原形質 RNA は多量に認められ、その原形質内分布は一様、且つ、瀰漫性であり、腫瘍性巨細胞の原形質 RNA は特に多量に認められた。腫瘍性類骨、類軟骨組織形成の腫瘍細胞では原形質 RNA はやや減弱している。核小体 RNA は核内に認められ、核小体附随 DNA 顆粒にとりまかれるように認められ、1~2個、しばしば数個に増強しているものもかなり多い。核分裂時では核小体 RNA は消失し、原形質 RNA は変化しないもの、やや増強するもの、また減弱するものが認められた。

腫瘍細胞の核内に認められる DNA は、粗大顆粒状

(図23の2)、塊状顆粒(図23の1, 3, 5)、索状(図23の4)、及び粗大顆粒状、塊状に結節を有する糸状、網状 DNA が主に観察され、核小体附随及び核膜附着 DNA も粗大となつて認められる。これらは細胞成分の富んだ部において認められ、Feulgen 反応は強い(図22)。類骨組織形成の腫瘍細胞核には、塊状 DNA 顆粒、索状 DNA は少なくなり、他の DNA 顆粒もやや小さくなる傾向を示す。

[2] 堀江肉腫

実験材料並びに実験方法

1960年、堀江らによつて作られたラットの骨腫瘍の一つの系統が皮下に累代移植されて保存されている。本実験においては、P³², 20-Methylcholanthrene 投与によつて出来た骨肉腫を使用した。この骨肉腫の細片を約 100g の雑系雌ラットの大腿部皮下に移植し、4週~5週を経過して拇指頭大にまで増殖した同腫瘍を無菌的に採取し、その一部を細片し、次代として、100g 前後の雑系雌ラットの大腿骨、脛骨の骨髓内に移植した。同時にその皮下腫瘍の一部を皮下移植性骨肉腫として、カルノア氏液、冷アセトンにて固定しパラフィン包埋とした。

骨髓内に移植された腫瘍は4週~6週で拇指頭大となり、これをレ線写真(小泉X線工社製 Softex H型にて35~40KV, 20mA, 2.0~3.0秒、サクラ医療用Y型フィルム)撮影、後に殺して腫瘍を採取し、可及的に軟い腫瘍部をカルノア氏液、他の部を冷アセトンに固定、後者は5%中性 EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) 液で脱灰、パラフィン包埋とし、これを骨移植性骨肉腫とした。

施行した組織化学的染色は、第1篇の臨床骨腫瘍において行つたと同様な方法を用い、皮下移植性骨肉腫と骨移植性骨肉腫について検索を行つた。

実験成績

レ線所見

骨移植性骨肉腫については、大腿骨、脛骨の腫瘍移植部において、既存骨は破壊され、骨皮質、骨髓いずれも雲状透明像を認め、その部に針骨形成が著明である。また別に雲状骨新生のあるもの、全く骨新生の見られないものもある。腫瘍は骨皮質を破り周囲軟部に拡がっていた(図24, 25, 26)。

組織学的並びに組織化学的所見

1) 皮下移植性骨肉腫

組織学的には、腫瘍は、円形または橢円形、大小不同の未熟な細胞よりなり2~3個の核を有する巨大腫

瘍性巨細胞が散在性に認められる(図27)。また紡錘形の比較的大小不同の軽度な細胞が大きな索状、小葉状に配列を示す部も認められ(図28)、いずれも細胞核は濃染し核分裂を起している細胞があるが、腫瘍性類骨、類軟骨、骨組織形成を全く認めない。更に部分的にしばしば細胞間解離が起り小空胞形成の認められる部が存在する。

組織化学的には、Al. P-ase は円形、楕円形、紡錘形細胞及び、腫瘍性巨細胞共に弱い活性を認める部(図29のA)、全く認め得ない部(図29のB)が混在し、且つ、Al. P-ase 活性陽性細胞と Al. P-ase 活性陰性細胞が入り乱れて存在している部も見られる。即ち Al. P-ase は不規則な活性出現を示している。

Acid P-ase も、これら腫瘍細胞には弱陽性部、陰性部、及び陽性、陰性細胞の混在部が認められ、Al. P-ase 出現とはほぼ同様の態度を示す。腫瘍性巨細胞に Acid P-ase 活性が特に強く出現するという所見は見られなかつた。

これら Al. P-ase, Acid P-ase 共に活性陽性細胞では細胞原形質のみならず核にも認めることが出来る。

PAS 反応は、腫瘍細胞原形質に弱く、腫瘍性巨細胞には特に強いということはなかつた。Sr⁸⁹ 投与による骨肉腫の如き、細胞間 PAS 反応陽性物質は認めなかつた。またしばしば認められた細胞間の小空胞の壁及びその内部にも PAS 反応は認められなかつた。腫瘍細胞の原形質の弱い PAS 反応陽性物質は Takadiastase 消化試験に抵抗し、Pepsin 消化試験で消失するので糖蛋白と考えられる。

大野氏法 pH 2.5 Toluidine blue 染色では細胞間の小空胞の壁及びその内部に網状または雲状に Meta を示す物質があり、pH 7.0 Toluidine blue 染色でも同様に細胞間小空胞の壁及びその内部に網状、雲状に Meta を示し、これはヒアルロニダーゼ消化試験でかなり消失する。この Meta は pH 2.5 で示す Meta より極めて強い(図30, ↑印)。その他の細胞には Meta は認められない。

核酸については、まず RNA は腫瘍細胞の原形質に強く、特に単核巨大細胞(図31, 32)。腫瘍性巨細胞に多量認められた。原形質 RNA の原形質内分布は一樣で、且つ、瀰漫性に染色される。核小体 RNA は腫瘍細胞の核内に1~2個認められ(図32, ↑印)、比較的大小不同を示し、特に大きいものも認められた。また、しばしば数個の核小体 RNA を有する細胞があり、比較的小顆粒状を示し特に巨大単核腫瘍細胞、腫瘍性巨細胞によく認められた。これら核小体 RNA は

核分裂時には消失し、原形質 RNA は核分裂時に、変化しないもの、減弱するもの、増強するものが認められた。

腫瘍細胞核内に認められる DNA は、粗大顆粒(図41の1, 2)、塊状顆粒(図41の3, 4, 図33, 図34)、索状(図14の5)、及び、粗大顆粒状、塊状に結節を有する糸状、網状 DNA が認められ、核小体附随及び核膜附着 DNA 顆粒も粗大顆粒状、塊状を示し、特に核小体 RNA が数個認められる細胞では核小体附随 DNA 顆粒も増強している。図32では核小体 RNA (↑) をとり囲むように塊状 DNA が数個存在しているのを示している。即ち核小体附随 DNA 顆粒である。

2) 骨移植性骨肉腫

組織学的には、移植部骨髓は腫瘍組織によつて置換され、またその部の骨皮質は破壊され、腫瘍細胞は周囲の軟部組織中へ浸潤して増殖している。腫瘍組織は軽度の大小不同を有する紡錘形細胞が小葉状または大きな索状配列を示す部、また、円形、楕円形の極めて大小不同の細胞からなる部があり、これらの組織中に多くの腫瘍性巨細胞が散在して認められる。更にしばしば細胞間解離が空胞形成となつて存在する部が認められるが、腫瘍性類骨、類軟骨、骨組織は見出すことは出来ない。即ちこれは皮下移植性骨肉腫と同様の所見である。

上記腫瘍組織は骨膜下に浸潤し、そこから内方に向つて骨新生が認められる(図37)。新生骨を形成している細胞は腫瘍細胞とは全く異なり、小さな一様の大さの紡錘形細胞で、骨膜の内層(図37, ↑印)より増殖し、異型性、核分裂を認めない。即ち反応性骨新生と考えられる。

組織化学的には、Al. P-ase は円形、楕円形、紡錘形腫瘍細胞には弱い活性を示す部(図38, ↓印)、全く示さない部、及び Al. P-ase 活性陽性細胞と陰性細胞の混在する部があるが、骨膜性骨新生のある部では、骨膜内層から増殖して新生骨形成にあつた細胞には極めて強い Al. P-ase 活性を認める(図38, ↑印)。骨細胞にもやや強い活性を認めるが、骨膜の外層は極めて弱い活性を示すか、または、全く認められない(図38, ↓印)。この事実は外層と内層を容易に鑑別せしめる。新生骨の基質にも微細顆粒状に本活性を認め、また破骨細胞にも強く本活性を認めた。

Acid P-ase は腫瘍細胞に認められる部、全く認められない部、及び Acid P-ase 陽性細胞と陰性細胞の混在部があるが、骨新生部では、骨膜内層から内方に向つて増殖している細胞は極めて強い活性を示し、かかる細胞が新生骨形成にあつた(図39, ↑

印). 新生骨の骨細胞にも強い活性が認められ, 新生骨基質には弱い活性を示す. また破骨細胞にも強い活性を認めることが出来る. 骨膜の外層には Acid P-ase が極めて弱いか, または全く認められないので (図39, ↑印), 強い活性を示す内層とは全く対照的である.

上記 Al. P-ase, Acid P-ase 活性陽性細胞はその原形質のみならず, 核にも陽性である.

PAS 反応は円形, 楕円形, 紡錘形の腫瘍細胞原形質に弱く認められるが, 細胞間に PAS 反応陽性物質は認められない. また細胞間小空胞には PAS 反応陽性物質は認められない. 新生骨形成部の骨膜内層から増殖しつつある細胞及び新生骨基質には, 骨膜外層の細胞と同様に弱い PAS 反応を示し, 新生骨部の破骨細胞にはやや強い PAS 反応を認めることが出来る. これらの PAS 反応陽性物質は Takadiastase 消化試験に抵抗し, Pepsin 消化試験により消失する. 即ち, 糖蛋白と考えられる (図40).

大野氏法 pH 2.5 Toluidine blue 染色では, 腫瘍細胞間に認められる小空胞の壁及びその内部に網状, 雲状に Meta が弱く, pH 7.0 Toluidine blue 染色では強い Meta を示し, これはヒアルロニダーゼ消化試験でかなり減弱する. その他には Meta は認められない. これら Meta の態度は皮下移植性骨肉腫の場合と同様である.

核酸については, RNA は腫瘍細胞の原形質に瀰漫性, 一様, 且つ, 無構造に認められ, 巨大単核腫瘍細胞, 腫瘍性巨細胞には特に強く認められる. 核小体 RNA は 1~2 個, しばしば数個認められ, やや大小不同を示している. 核小体 RNA は核分裂に際して消失し, 原形質 RNA は変化のないもの, 減弱するもの, 増強するものがあつた. これらの所見は, 皮下移植性骨肉腫のそれと同様である.

骨新性に関与する骨膜内層よりの増殖細胞, 及び骨膜外層の細胞の原形質 RNA は弱く, 破骨細胞の原形質 RNA はやや強く, 一様に認められる. 核小体 RNA は 1~2 個, ほぼ一様の大きさに認められる.

DNA は腫瘍細胞の核内では, 粗大顆粒 (図41の 1, 2, 図36の ↑印), 塊状顆粒 (図41の 3, 4, 図35), 索状 (図41の 5), 及び粗大顆粒状, 塊状に結節を有する糸状, 網状 DNA が認められ, 核膜附着 DNA 顆粒 (図41の 2, ↑印), 核小体附随 DNA 顆粒 (図41の 2, ↑印) も粗大となり, しばしば塊状となつて認められた. 核小体附随 DNA 顆粒は核小体 RNA を囲むように存在しており (図32), 核小体 RNA の数が多くなれば, 核小体附随 DNA 顆粒も増強する.

新生骨形成の細胞, 骨膜内層, 外層の細胞及び破骨細胞には Feulgen 反応弱く, DNA は, これらの細胞では同様の所見を示す. 即ち, 糸状, 網状 DNA (図41の 6, 7), 微細 DNA 顆粒 (図41の 8), 及び微細顆粒状に結節を有する糸状, 網状 DNA が主として認められ, 核膜附着 DNA 顆粒 (図41の 7, ↑印), 核小体附随 DNA 顆粒 (図41の 7, ↑印) はやや粗大顆粒状, 微細顆粒状である. 図36では, 反応性骨新生の部に腫瘍細胞の浸潤が認められたもので, Feulgen 反応による腫瘍細胞の DNA (↑), 造骨細胞の DNA (↑) を示している.

総括並びに考按

放射性物質が骨腫瘍, 特に骨肉腫発生を来たすことは 1929年, Martland, Humphries によつて発見された. その後, 放射性同位元素を用いて, その骨組織に及ぼす影響と骨肉腫発現に関する実験が行われて来た. Lisco et al (1947) は Sr^{90} , Sr^{90} , Pu^{239} , Y^{91} , Ce^{144} が骨腫瘍の発現を来たすことを報告しており, Prasser et al (1947) も Pu^{239} , Sr^{90} 投与により動物に骨肉腫を惹起せしめたと述べている. Hamilton (1947) は Sr^{90} , Sr^{90} , Ba^{140} , Y^{91} , La^{140} , Ce^{144} , Pr^{143} , Zr^{95} , Cb^{95} , Th^{234} , Pa^{231} , Np^{239} , Pu^{239} , Am^{241} , Cm^{242} が骨に沈着することを見出し, 且つ, これらの元素が類骨組織の基質に沈着すると考えられると述べている.

Kidman et al (1952) は Sr^{90} を幼若家兔に投与すると, Epiphyseal plate の Calcifying Cartilage, Metaphyseal part の endosteum, shaft の中央部の periosteum に Sr^{90} の沈着が見られ, 老いた家兔では骨えの沈着が見られなかつたと述べ, Sr^{90} はそれを投与したときに骨形成が行われている部に集中すると結論している.

かくて骨に吸収沈着した放射性同位元素は骨組織を障害するが Skoryna et al (1958) によれば, 1) 骨形成の障害, 2) 骨髄の線維化, 3) 細胞性増殖 (Cellular proliferation) であると述べ, 横路 (1957) は, 骨の障害は, 骨質の異常形成及び骨髄の膠様化或いは線維化を来たし, 骨組織発生の原基である間葉性細胞に影響を及ぼし, 骨肉腫の発現にまで進展すると考えている.

Skoryna et al (1952) は Sr^{90} 実験的骨肉腫を詳細に観察しその特徴を次の如く述べた. 即ち骨肉腫の辺縁部では, highly cellular with no signs of differentiation の像を示し, 中心部に向うと, 1) osteoid formation, 2) teleangiectatic, 3) chondrosarcomatous, 4) fibrosarcomatous, 5) 多くの giant cell の出現等

が見られるが、最も多いのはやはり骨形成性であり、ヒトの骨肉腫と全く同じであると述べている。また Barnes et al (1958) は Ca^{45} を用いて実験的骨肉腫を作り、その辺縁部は細胞成分に富み、中心部は腫瘍性類骨組織形成が著明であることを観察している。

本研究において検索し得た所見について考察すると次の如くである。

1) Sr^{90} 投与による骨肉腫

本研究では第1代腫瘍は大腿骨近、遠位端部、脛骨近位端部に認められ、組織学的には、肉腫の辺縁部では腫瘍細胞に富んだ組織で、いかなる分化も示さないが、中心部に向うにつれて腫瘍性類骨組織の形成が著明に認められ、且つ、散在性、島状に腫瘍性類軟骨組織の形成も認められ、この所見は、従来諸家によつて述べられたものと同様である。

かく生じた骨形成性肉腫を次代移植し得たという報告は未だ見られない。

本研究では Sr^{90} による骨形成肉腫が経代移植可能であることを確認した。第2代腫瘍が第1代腫瘍と組織学的に異なっている点は、1) 腫瘍の辺縁部にも、すでに腫瘍性類骨組織形成が認められること、2) 腫瘍性巨細胞が多く認められることの2点のみである。

なおこれら実験的骨形成肉腫は、組織学的にヒト骨肉腫によく類似している。

本研究で観察した組織化学的特性は、第1代腫瘍、第2代腫瘍とも共通した態度を示し、Al. P-ase は腫瘍細胞、腫瘍性巨細胞に強い活性を示し、腫瘍性類骨組織、類軟骨組織形成の腫瘍細胞にはその活性の減弱が認められ、Acid P-ase も Al. P-ase とほぼ同様の傾向が観察された。

PAS 反応は、腫瘍細胞の原形質に弱く、腫瘍性巨細胞にやや強く認められ、また、これらの細胞の原形質 PAS 反応陽性物質とは別に、細胞間に網状、雲状の PAS 反応陽性物質があり、これが細胞の PAS 反応陽性物質と連絡しつつ、類骨基質へと移行し、そこで PAS 反応の増強が認められる。散在性に認められる腫瘍性類軟骨組織の基質にも強い PAS 反応を認め得る。これらの PAS 反応陽性物質は Takadiastase 消化試験により、類軟骨組織の基質のそれは減弱することから Glycogen であると考えられる。同じく Pepsin 消化試験では、腫瘍細胞、腫瘍性巨細胞、類骨組織、類軟骨組織の基質の PAS 反応陽性物質、及び細胞間 PAS 反応陽性物質はいずれも消化されることから糖蛋白であると考えられる。ここで観察された細胞間の網状、雲状に存在する糖蛋白の態度は、腫瘍性

類骨組織の基質形成に関連して、極めて重要な所見と思われる。

大野氏法 pH 2.5, 7.0 Toluidine blue の Meta で表わされる酸性多糖類は腫瘍性類軟骨組織の部にのみ認められた。

RNA は腫瘍細胞の原形質、特に腫瘍性巨細胞の原形質には強く認められ、核小体 RNA は 1~2 個、しばしば数個認められる。一方、腫瘍性類骨、類軟骨組織形成の腫瘍細胞には、これら RNA は減弱している。

DNA は腫瘍細胞の核内に粗大 DNA 顆粒、塊状 DNA 顆粒、索状 DNA、粗大顆粒状、塊状に結節を有する糸状、網状 DNA が認められ、核小体附随及び核膜附着 DNA 顆粒も粗大となり、しばしば塊状であるに反して、類骨組織、類軟骨組織形成の腫瘍細胞には、塊状、索状の強い反応を示す DNA を有する細胞の分布が少なくなっている。

以上、組織化学的所見を要約すれば、

(1) Al. P-ase, Acid P-ase は腫瘍細胞に強く認められるが、腫瘍性類骨、類軟骨形成の腫瘍細胞にはその減弱が認められる。

(2) 腫瘍細胞の原形質に比較的少量の糖蛋白があり、これとは別に細胞間に糖蛋白があり、細胞のそれと連絡しつつ腫瘍性類骨基質へと移行している。

(3) Glycogen 及び酸性多糖類は腫瘍性類軟骨組織の部にのみ認められる。

(4) 腫瘍細胞に多量の RNA, DNA を有しているが、類骨、類軟骨組織形成の腫瘍細胞にはそれらの減弱が認められた。

以上の組織化学的態度は本腫瘍の代謝型式を示しているものと思われる。

第2代腫瘍が第1代腫瘍とは組織学的にやや異なっていることは前述の如くであるが、組織化学的には上記の如く極めてよく類似しており、移植により腫瘍構成要素の分布の変動が認められても、腫瘍の代謝型式はよく伝承されているものと考えられる。

放射性同位元素発現骨肉腫がヒト骨肉腫の組織像とよく似ていることは前述の如くであるが、本研究で観察した Sr^{90} 発現骨肉腫と、第1篇で検索したヒト骨肉腫を組織化学的に比較すると

(1) Al. P-ase はヒト骨肉腫、 Sr^{90} 発現骨肉腫において共に同様の所見を示す。即ちいかなる分化も示さない腫瘍細胞に強く認められるが、腫瘍性類骨組織形成の腫瘍細胞には、その減弱が認められた。

(2) Acid P-ase はヒト骨肉腫には活性出現の不規則性が認められたが、 Sr^{90} 発現骨肉腫では Al. P-

ase とほぼ同様の態度を示していた。

(3) ヒト骨肉腫, Sr^{90} 発現骨肉腫において, 細胞間に糖蛋白が認められ, これが腫瘍細胞の原形質の糖蛋白と連絡しつつ腫瘍性類骨基質へと移行している。且つ, この類骨基質には多量の糖蛋白を証明した。

(4) Sr^{90} 発現骨肉腫では腫瘍性類軟骨組織が認められ, その部の軟骨小嚢及び軟骨腔に相当する部に酸性多糖類が認められ, その基質に糖蛋白及び Glycogen が認められた。ヒト骨肉腫では腫瘍性類軟骨組織の分化を示す部が検索出来なかつたので比較検討は不可能であつた。

(5) ヒト骨肉腫, Sr^{90} 発現骨肉腫とも同様に, RNA, DNA はいずれもいかなる分化も示さない部の腫瘍細胞には, 多量に認められたが, 類骨組織形成の腫瘍細胞には RNA, DNA の減弱が認められた。

(6) 腫瘍性巨細胞はヒト骨肉腫, Sr^{90} 発現骨肉腫において共に同様の所見を示す。即ち, 強い Al. P-ase 活性, Acid P-ase 活性, 多量の糖蛋白, 及び Glycogen と酸性多糖類の欠除, 多量の RNA を認めることが出来, DNA は腫瘍細胞のそれに類似している。

以上の如くヒト骨肉腫と Sr^{90} 発現骨肉腫とは, 極めてよく組織化学的にも類似していると結論出来る。

2) 堀江肉腫

1960年に堀江らは放射性同位元素, 化学的発癌剤の別々の投与では骨肉腫発生が困難であることより, 両者併用により, ラッテに骨原性肉腫を高率に発生せしめようとした。放射性同位元素は P^{32} を用い, 化学的発癌剤として 20-Methylcholanthrene, 3,4-Benzpyrene, croton oil を用い, $P^{32}+20$ -Methylcholanthrene, $P^{32}+3,4$ -Benzpyrene, $P^{32}+croton\ oil$ の併用の型で, P^{32} は腹腔内に, 20-Methylcholanthrene, 3,4-Benzpyrene, croton oil は骨髓内に投与した。これらの各群のうち $P^{32}+20$ -Methylcholanthrene, $P^{32}+3,4$ -Benzpyrene 群が高率に骨原性肉腫の発生を認め, その特長は, 20-Methylcholanthrene, 3,4-Benzpyrene を注入した骨に肉腫が発生した点であると述べている。そして, その組織像において, 肉腫の辺縁部に "tissue structure" を有しない, そしてかなり異型性の強い腫瘍細胞よりなり, それらの細胞が大きな束状, または小葉状に配列しており, 腫瘍の中心部は反応性骨新生と腫瘍性骨形成が認められたと報告している。

佐藤は(1960)これらの骨原性肉腫をラッテの皮下に移植すると骨形成の部は移植されず, 骨形成のない肉腫の未熟な部のみが移植可能であると述べている。

更に鳥山(1961)らは大腿骨々髓内に移植すると多

型細胞肉腫の像を示し, レ線像で針骨形成の部は組織学的に反応性形成か, 腫瘍性骨形成か判断し難いと述べている。

本研究では堀江(1960)らによつて作られた $P^{32}+20$ -Methylcholanthrene の併用投与によつて出来た骨原性肉腫の皮下累代移植により保存されているものを使用した。

まず, 本実験の皮下移植の場合では, 多型細胞肉腫または紡錘型細胞肉腫の像を示し, 腫瘍性類骨組織, 骨組織は認められなかつた。しばしばこれらの腫瘍細胞間に小空隙形成が認められ, 特長的と思われた。

組織化学的には, Al. P-ase, Acid P-ase 共に極めて不規則な出現を示し, 且つ, P-ase 活性を示す細胞でも, その活性は弱く, Sr^{90} 発現骨肉腫の細胞と比較すると, 本腫瘍細胞は極めて弱い活性を示している。

PAS 反応は, 腫瘍細胞の原形質に弱く, 細胞間 PAS 反応陽性物質は認められなかつた。この腫瘍細胞の弱い PAS 反応陽性物質は Takadiastase 消化試験に抵抗し, Pepsin 消化試験で消失するので糖蛋白であると考えられる。

しばしば認められる細胞間小空隙の壁及びその内部に酸性多糖類, 特にヒアルロン酸が認められたが, その他の部には認められなかつた。

核酸は原形質 RNA は腫瘍細胞, 腫瘍性巨細胞に多量に存在し, 且つ, 核小体 RNA も 1~2 個, しばしば数個認められ, 増強を示している。DNA は腫瘍細胞の核内に, 粗大顆粒, 塊状顆粒, 索状 DNA, 及び, 粗大顆粒状, 塊状に結節を有する糸状, 網状 DNA となつて認められ, また, 核小体附随及び核膜附着 DNA 顆粒も粗大, 且つ, 塊状であつた。

以上の組織化学的態度を要約すると,

(1) 腫瘍細胞に Al. P-ase, Acid P-ase 活性の不規則性出現, 且つ, 弱い活性を示す。

(2) 糖蛋白は腫瘍細胞に弱く, 且つ, 細胞間PAS反応陽性物質は認められない。

(3) Glycogen の欠除。

(4) 腫瘍細胞間小空隙に酸性多糖類の出現。

(5) 多量の RNA。

(6) 多量の DNA。

となり, 本腫瘍の一般的代謝型式と考えられ, 特に Glycogen の欠除, 少量の糖蛋白, 多量の RNA, DNA, 核小体附随及び核膜附着 DNA 顆粒で表わされる Heterochromatin の増強等は本腫瘍細胞が悪性腫瘍として極めて大なる増殖能を示すものと考えられる。

次に骨移植性の場合では, 腫瘍細胞は骨皮質を破壊

し周囲軟部組織に浸潤するが、腫瘍の組織像は皮下移植性の場合と全く同様である。骨膜下に腫瘍細胞浸潤が見られる部では、骨新生があり、それは骨膜内層 (Cambium layer) から増殖した細胞により形成される。

組織化学的には、Al. P-ase と Acid P-ase はほぼ同様の所見を示し、腫瘍組織では上述皮下移植性の場合と同様活性出現の不規則性が認められ、活性陽性細胞でもその程度は弱い。骨新生の部では骨膜内層と新生骨形成の細胞には強い活性を示し、活性の弱いかまたは全く認められない腫瘍組織、骨膜外層 (Fibrous layer) と比較して極めて対照的である。

PAS 反応は、腫瘍細胞、骨膜内層細胞、外層細胞、新生骨形成細胞、新生骨基質には弱い、破骨細胞にはやや強い反応を認めた。しかし Sr⁸⁹ 発現骨肉腫に見られた如き細胞間 PAS 反応陽性物質は認められない。この PAS 反応陽性物質は Takadiastase 消化試験に抵抗し、Pepsin 消化試験で消失することより糖蛋白であると考えられる。

大野氏法 pH 2.5, 7.0 Toluidine blue の Meta で示される酸性多糖類は皮下移植性の場合と同様に細胞間の小空胞の部にのみ認められた。これは主にヒアルロン酸であった。

核酸については、RNA は腫瘍細胞では上述の皮下移植性の場合と同様であるが、新生骨形成の細胞、骨膜内層、外層の細胞には原形質 RNA は少量に認められ、多量の RNA を有する細胞腫瘍とは対照的である。破骨細胞にはやや強く認められる。核小体 RNA はこれらの細胞核内に 1~2 個認められ、大きさは一様でその反応は弱い。

DNA は、腫瘍細胞には多量に認められ皮下移植性の場合と同様であり、これとは対照的に弱い Feulgen 反応が骨新生を形成する細胞、骨膜内、外層の細胞、破骨細胞に認められ、それら DNA は糸状、網状 DNA、微細 DNA 顆粒、及び微細顆粒状、やや粗大な顆粒状の核小体附随及び核膜附着 DNA 顆粒となつて示される。

以上の如く、骨移植性の場合も腫瘍組織の組織化学的所見は、皮下移植性の場合と同様であつた。

本腫瘍を、ヒト骨肉腫、Sr⁸⁹ 発現骨肉腫と組織化学的に比較すると、本腫瘍では P-ase 活性の一般的減弱と、腫瘍細胞間 PAS 反応陽性物質の欠除が特長的である。即ち本腫瘍が腫瘍性骨形成能を有していないことと関係があると考えられる。Schajowicz (1954) は軟骨組織が急激に発育するときは、例えば、軟骨肉腫におけるように、P-ase の増強は認められないと述

べた。本腫瘍の如き未熟な骨肉腫では、骨形成肉腫に見られる如き P-ase は、むしろ減弱するものと考えられる。本腫瘍の骨膜下に認められる骨新生は、骨膜内層から増殖している細胞によつて形成され、これをヒト骨肉腫、Sr⁸⁹ 発現骨肉腫と組織化学的に比較すれば次の如くなる。

(1) Al. P-ase, Acid P-ase は腫瘍性骨新生の場合では、腫瘍細胞に P-ase が強く認められ、骨形成へ分化を示す腫瘍細胞には減弱するが、本腫瘍の場合は、腫瘍細胞に弱いか、または認められず、むしろ骨形成の細胞、骨膜内層の細胞に強いこと。

(2) 腫瘍性骨形成では、まず細胞間 PAS 反応陽性物質が腫瘍細胞間に認められ、これが類骨、骨組織へ移行する如き像を示すが、本腫瘍では、この腫瘍細胞間 PAS 反応陽性物質が認められないこと。

(3) 新生骨形成の細胞の RNA, DNA は腫瘍細胞のそれに比し極めて少量であり、且つ、骨膜内層の細胞によく一致した所見を示していること。

以上 3 点より本腫瘍に見られる骨形成細胞は腫瘍細胞ではないと考えられ、加うるに、この骨形成の細胞が骨膜内層の細胞より増殖しており、且つ、骨膜内層の細胞と組織化学的によく一致した態度を示していることより、この骨新生は反応性骨新生であると考えられる。

本腫瘍に特長的な所見は、腫瘍細胞間に小空胞形成が認められ、その空胞の壁及び内部に網状、雲状に酸性多糖類が認められたことである。この物質は pH 7.0 Toluidine blue で Meta を示し、ヒアルロンダーゼでかなり消化され、且つ、pH 2.5 Toluidine blue でも弱く Meta を示すことから、ヒアルロン酸とわずかのコンドロイチン硫酸であると考えられる。即ち本腫瘍はヒアルロン酸分泌能を有する腫瘍であると考えられる。大野ら (1951) は Raus 肉腫にこれと同様の酸性多糖類を認め、間葉細胞様の腫瘍細胞はヒアルロン酸を作ると述べている。

結 語

(1) Sr⁸⁹ 発現骨肉腫について

1) Sr⁸⁹ を幼若 ddN 均一系雌廿日鼠に投与して、骨形成性肉腫を生ぜしめ、これを次代に移植して、同様に骨形成性肉腫を作り得た。

2) Sr⁸⁹ 発現骨肉腫は移植によつても、その組織化学的態度を変えない。

3) Sr⁸⁹ 発現骨肉腫は、その腫瘍細胞に、強い Al. P-ase, Acid P-ase 活性、Glycogen 及び酸性多糖類の欠除、多量の RNA, DNA の存在が一般代謝

型式として容認され得る。

4) ヒト骨肉腫と Sr⁸⁹ 発現骨肉腫は、組織学的にも、組織化学的にもよく類似した所見を示した。

5) ヒト骨肉腫, Sr⁸⁹ 発現骨肉腫において、共に認められた腫瘍細胞間 PAS 反応陽性物質は骨形成性骨肉腫に重要な所見であることを推論した。

(2) 堀江肉腫について

1) 本腫瘍を皮下に移植した場合も、骨に移植した場合も同様に多型細胞肉腫, 紡錘型細胞肉腫の像を示し、腫瘍性類骨, 骨組織, 類軟骨組織は認められなかった。

2) 本腫瘍は、皮下移植, 骨移植いずれの場合でも組織化学的には同様の所見を示し、弱い Al. P-ase Acid P-ase 活性出現の不規則性, 少量の糖蛋白, Glycogen の欠除, 多量の RNA, DNA が本腫瘍細胞の一般的代謝型式と認められる。

3) 腫瘍組織が、骨膜下に浸潤している部では骨新生が認められたが、これは反応性骨新生であることを組織化学的に論じた。

4) 本腫瘍がヒト骨肉腫, Sr⁸⁹ 発現骨肉腫と組織化学的に異なる点は、P-ase 活性出現の不規則性, 及び出現の細胞でも活性が比較的弱いこと, 及び、細胞間 PAS 反応陽性物質の認められないことであり、これは本腫瘍の腫瘍性骨形成能の無きことと関連して重要な所見であると思われる。

5) 本腫瘍に特長的と思われる所見は、腫瘍細胞間小空胞形成で、この小空胞にヒアルロン酸を有することから、本腫瘍がヒアルロン酸産生能を持つ腫瘍であると考えられる。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲の労を賜りました恩師高瀬武平教授、堀江肉腫の提供をいただきました日本大学整形外科学教室島山助教授、並びに御指導下さいました本学附属病院中央検査部松原講師に深甚なる謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Barnes, L. L., Sperling, G., McCay, C. M., Brown, C. E. : A.M.A. Arch Path., 66, 529 (1958).
- 2) Bourne, G. H. : The Biochemistry and Physiology of Bone. Academic Press Inc. New York (1956).
- 3) Gomori, G. : Am. J. Path., 19, 197 (1943).
- 4) Hamilton, J. G. : Radiology, 49, 325 (1947).
- 5) Horie, K., Makita, M., Sato, K. : Gann, 51, 399 (1960).
- 6) 堀江健也 : 共済医報, 9, 222 (1960).
- 7) Hulth, A., Westergren, O. : Acta Orthop. Scand., 30, 155 (1957).
- 8) Janes, J. M., Higgins, G. M., Herrick, J. F. : J. Bone & Joint Surg., 36-B, 543 (1954).
- 9) Lisco, H., Finkel, M. P., Brues, A. M. : Radiology, 49, 361 (1947).
- 10) Looney, W. B. : J. Bone & Joint Surg., 38-A, 175 (1956).
- 11) 牧田元雄 : 共済医報, 9, 119 (1960).
- 12) Martland, H. S., Humphries, R. H. : Arch. Path., 7, 406 (1929).
- 13) 大野 乾・野附 巖・川井忠和 : 医学と生物学, 19, 326 (1951).
- 14) Prasser, C. L., Painter, E. E., Lisco, H., Brues, A. M. : Radiology, 49, 299 (1947).
- 15) Ray, B. D., Thomson, D. M., Wolff, N. K., Laviolette, D. : J. Bone & Joint Surg., 38-A, 160 (1956).
- 16) 佐藤計人 : 共済医報, 9, 689 (1960).
- 17) Schajowicz, F., Cabrini, R. L. : J. Bone & Joint Surg., 36-B, 474 (1954).
- 18) Skoryna, S. C., Kahn, D. S. : Cancer, 12, 306 (1959).
- 19) Stein, I., Stein, R. O. & Beller, M. L. : Living Bone in Health and Disease. J. B. Lippincott Co. Philadelphia and Montreal (1955).
- 20) 横路謙次郎 : 癌, 48, 571 (1957).

Abstract

Experimental osteogenic sarcoma, induced in animals, are studied histochemically. The conclusions are as follows;

(I) Sr⁸⁹-induced osteogenic sarcoma.

1) Sr⁸⁹ is injected intraperitoneally in ddN-mice and osteogenic sarcoma is obtained in average 4% of them. This sarcoma is transplantable.

2) The histochemical properties of these tumors are not changed following their transplantation. Remarkable intensive activities of alkaline and acid phosphatase, an absence of glycogen and acid mucopolysaccharides, a small quantity of glycoprotein and abundant nucleic acid are generally demonstrated in this sarcoma cell.

3) Sr⁸⁹-induced osteogenic sarcoma is, histologically and histochemically, similar to the

human osteogenic sarcoma. Intercellular PAS positive substance which is observed in both human and the experimental sarcoma is discussed concerning the osteoblastic property.

(II) Horie's sarcoma.

1) Horie's rat sarcoma, whether transplanted in bone marrow or in subcutis, is mixed-cell or spindle cell sarcoma histologically.

2) In this sarcoma, transplanted in both bone marrow and subcutis, histochemical findings are as follows: an irregular appearance of alkaline and acid phosphatase activities, a small quantity of glycoprotein and abundant nucleic acid in the tumor cell.

3) An irregular appearance of phosphatase activity and an absence of intercellular PAS positive substance are found in this tumor. This tumor has no osteoblastic character.

4) A specific finding of this sarcoma is a feature of intercellular vacuoles in which acid mucopolysaccharides, especially hyaluronic acid, are demonstrated.

附 図 説 明

- 図1 Sr^{90} 投与による第1代腫瘍のレ線像。
 図2 Sr^{90} 投与による第1代腫瘍のレ線像。
 図3 移植せる第2代腫瘍のレ線像。
 図4 移植せる第2代腫瘍のレ線像。
 図5 第1代腫瘍, H-E 染色, $\times 200$
 腫瘍の辺縁部で, 腫瘍細胞が束状に配列している。
 図6 第1代腫瘍, H-E 染色, $\times 100$
 腫瘍性類骨組織形成が著明。
 図7 第1代腫瘍, H-E 染色, $\times 40$
 骨髓腔は腫瘍組織により置換されている。骨皮質の一部(↑)が腫瘍組織により破壊されている。
 図8 第1代腫瘍, Al. P-ase 染色, $\times 100$
 細胞成分に富む部, 腫瘍細胞に強陽性。
 図9 第1代腫瘍, Al. P-ase 染色, $\times 100$
 腫瘍性類骨組織形成の部。腫瘍細胞にやや減弱。
 図10 第1代腫瘍, Acid P-ase 染色, $\times 100$
 細胞成分に富む部。腫瘍細胞に強陽性。
 図11 第1代腫瘍, PAS 反応, $\times 200$
 腫瘍性類骨組織の基質に強陽性。
 図12 第1代腫瘍, PAS 反応, $\times 200$
 腫瘍性類骨組織の基質に強陽性。
 図13 第1代腫瘍, PAS 反応, $\times 150$
 腫瘍性類軟骨組織の基質に強陽性。腫瘍細胞間PAS 反応陽性物質(↑)。
 図14 第1代腫瘍, Methylgreen Pyronin 染色, $\times 400$
 図15 第1代腫瘍, Feulgen 反応, $\times 200$
 腫瘍性類骨組織形成の部。
 図16 第1代腫瘍, Feulgen 反応, $\times 200$
 細胞成分に富む部。

- 図17 第2代腫瘍, H-E 染色, $\times 200$
 腫瘍性巨細胞多数出現。
 図18 第2代腫瘍, Al. P-ase 染色, $\times 200$
 腫瘍性類軟骨組織の基質に陽性, 軟骨肉腫様細胞にも陽性。
 図19 第2代腫瘍, PAS 反応, $\times 200$
 腫瘍細胞間 PAS 反応陽性物質(↑印)。
 図20 第2代腫瘍, PAS 反応, $\times 60$
 腫瘍性類軟骨組織の基質に強陽性。
 図21 第2代腫瘍, PAS 反応, $\times 200$
 腫瘍性類軟骨組織の基質に強陽性。
 図22 第2代腫瘍, Feulgen 反応, $\times 200$
 細胞成分に富む部。
 図23 Sr^{90} 投与による骨肉腫(第1代, 第2代共)の Feulgen 反応により表現された DNA の種々の形態を示す。(図附は描画器による。 $\times 1500$)
 1. は塊状 DNA 顆粒
 2. は粗大 DNA 顆粒
 3. は塊状 DNA 顆粒
 4. は索状 DNA
 5. は塊状 DNA 顆粒
 核小体附随 DNA 顆粒は, 4, (↑)
 核膜附着 DNA 顆粒は, 4, (↑)
 図24 堀江肉腫の骨髓内移植により生じた腫瘍のレ線像。
 図25 堀江肉腫の骨髓内移植により生じた腫瘍のレ線像。
 図26 堀江肉腫の骨髓内移植により生じた腫瘍のレ線像。
 図27 皮下移植性骨肉腫(堀江肉腫), H-E 染色, $\times 200$
 多型細胞肉腫様組織像を示す,

図28 皮下移植性骨肉腫 (堀江肉腫), H-E 染色, ×200

紡錘形細胞肉腫様組織像を示す,

図29 皮下移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Al. P-ase 染色, ×100

腫瘍細胞にやや強い活性を示す部(A), 弱い活性を示す部(B).

図30 皮下移植性骨肉腫 (堀江肉腫), pH 7.0 Toluidine blue 染色, ×300

腫瘍細胞間小空隙形成, 網状の Meta を有する(↑).

図31 皮下移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Methylgreen Pyronin 染色, ×1500

図32 皮下移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Methylgreen Pyronin 染色, ×1500

核小体 RNA (↑)

図33 皮下移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Feulgen 反応, ×1500

図34 皮下移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Feulgen 反応, ×1500

図35 骨移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Feulgen 反応, ×1500

腫瘍細胞の DNA を示す.

図36 骨移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Feulgen 反応, ×1500

腫瘍細胞(↑), 造骨細胞(↑).

図37 骨移植性骨肉腫 (堀江肉腫), H-E 染色, ×100

反応性骨新生を示す. 骨膜内層(↑), 骨膜外層(↑), 腫瘍細胞(↓).

図38 骨移植性骨肉腫 (堀江肉腫), Al. P-ase 染色, ×100

骨膜内層(↑), 骨膜外層(↑), 腫瘍細胞(↓).

図39 骨移植性骨肉腫, Acid P-ase 染色, ×100

骨膜内層(↑), 骨膜外層(↑), 腫瘍細胞(↓).

図40 骨移植性骨肉腫 (堀江肉腫), PAS 反応, ×100

造骨細胞, 骨細胞, 骨基質に反応弱い.

図41 堀江肉腫細胞及び造骨細胞の Feulgen 反応により表現された DNA の種々の形態を示す. (図附は描画器による. ×1500)

腫瘍細胞について,

1, 2 は粗大 DNA 顆粒. 3, 4 は塊状 DNA 顆粒. 5 は索状 DNA

造骨細胞について,

6, 7 は糸状, 網状 DNA. 8 は微細 DNA 顆粒. 核小体附随 DNA 顆粒は, 2, 7, (↑). 核膜附着 DNA 顆粒は, 2, 7, (↑).

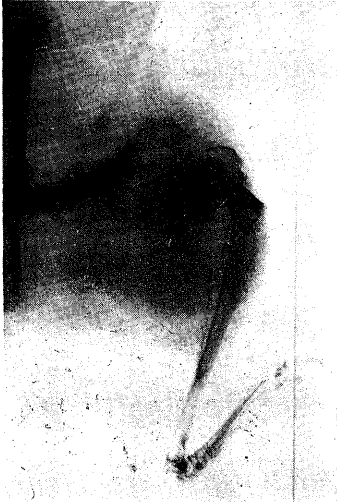
☒ 1



☒ 2



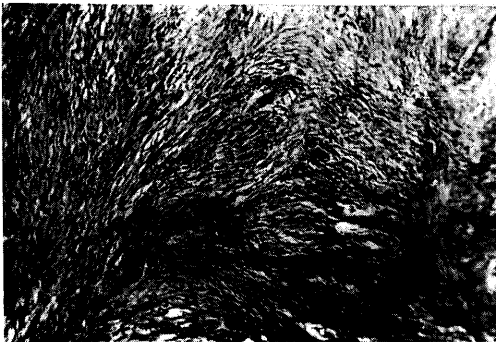
☒ 3



☒ 4



☒ 5



☒ 6

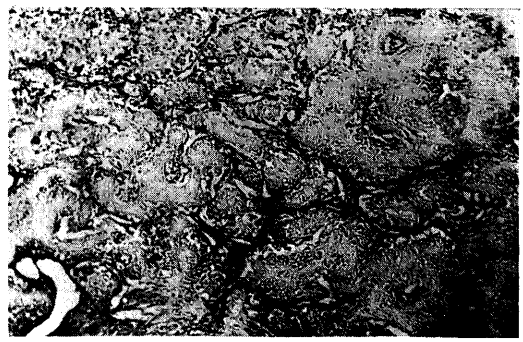


図 7

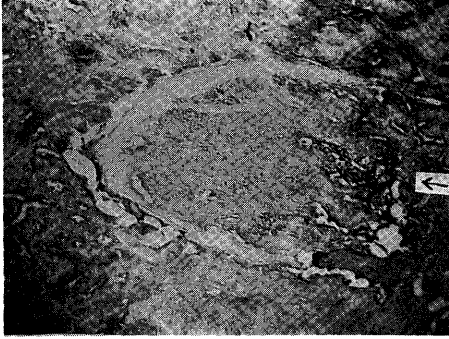


図 8



図 9



図 10

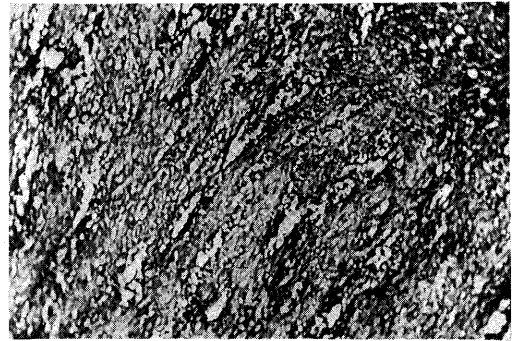


図 11

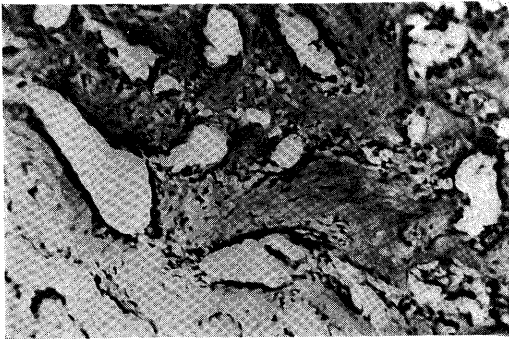


図 12

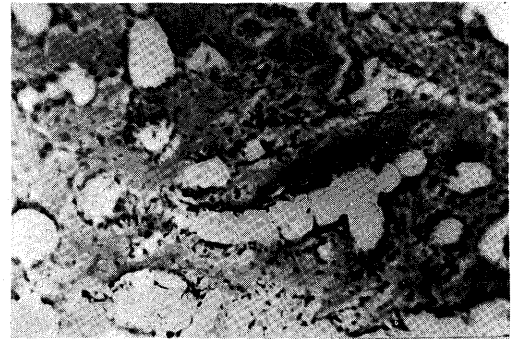


図 13

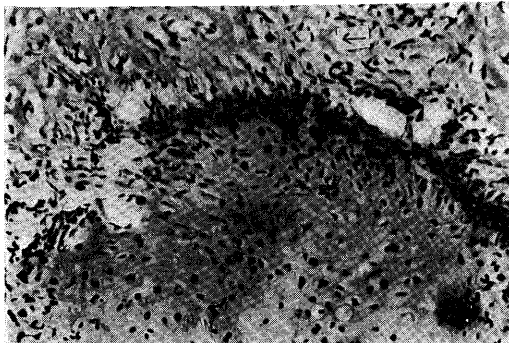
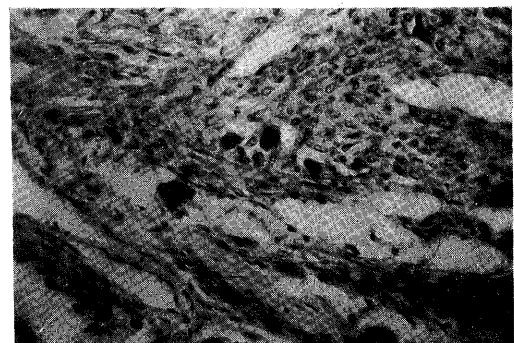
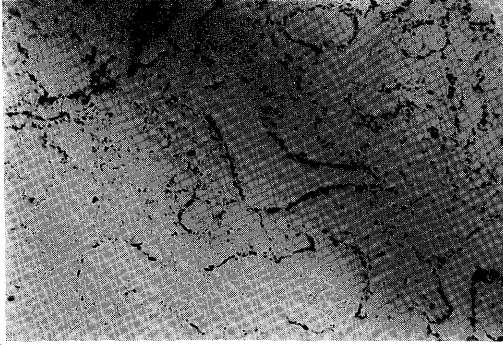


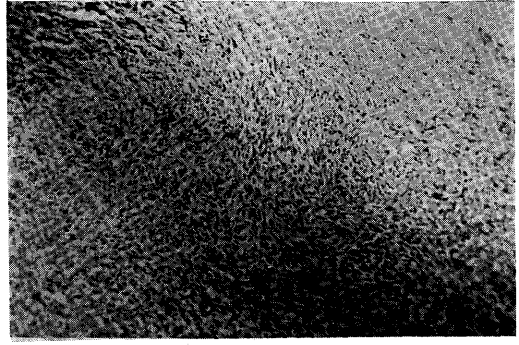
図 14



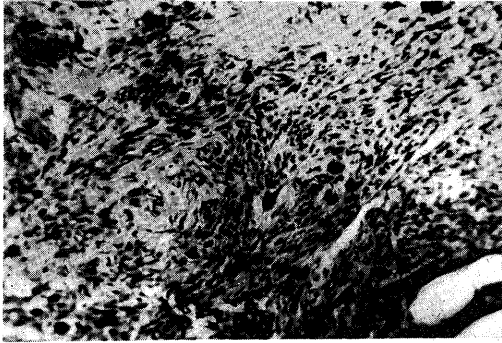
☒ 15



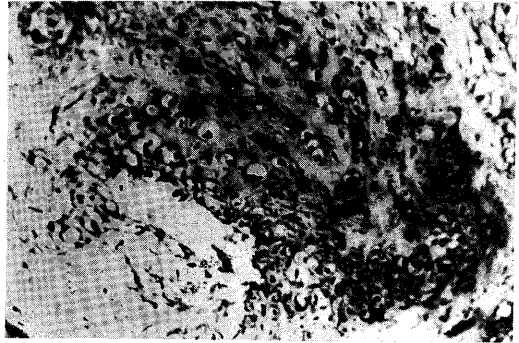
☒ 16



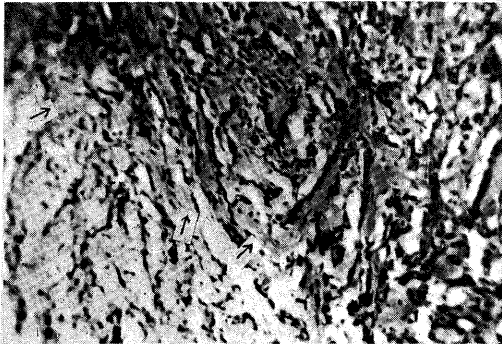
☒ 17



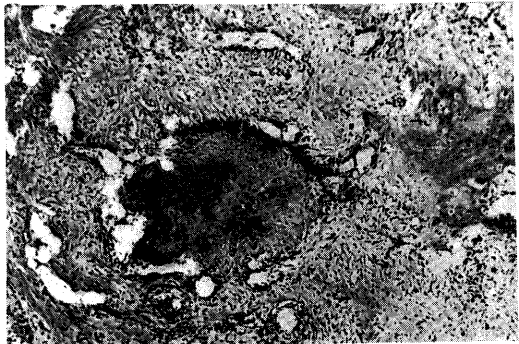
☒ 18



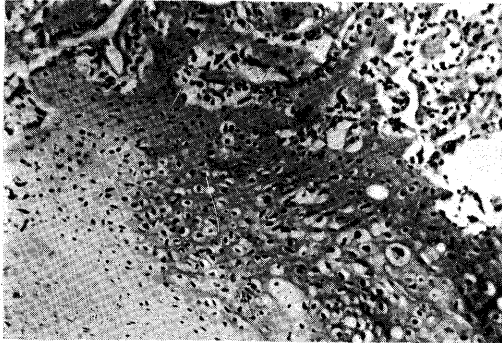
☒ 19



☒ 20



☒ 21



☒ 22

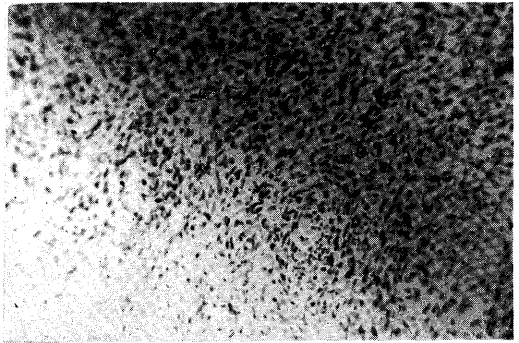
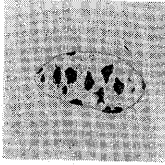


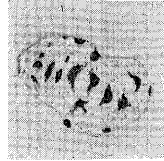
図 23



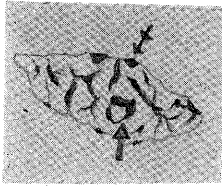
1



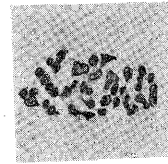
2



3



4



5

図 24

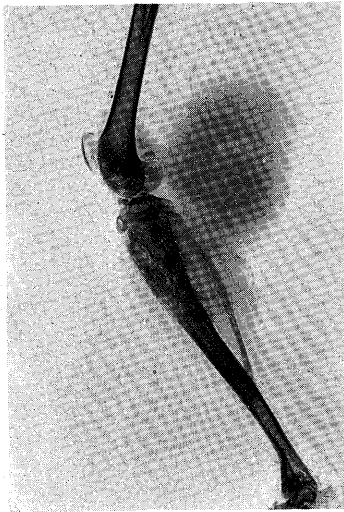


図 25

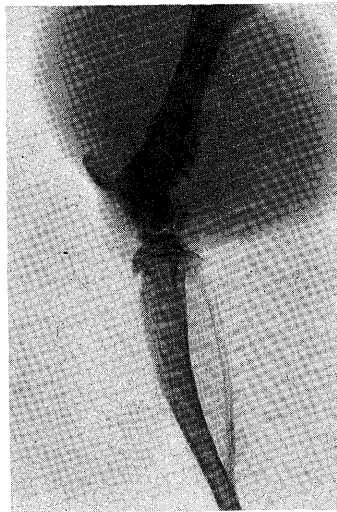


図 26

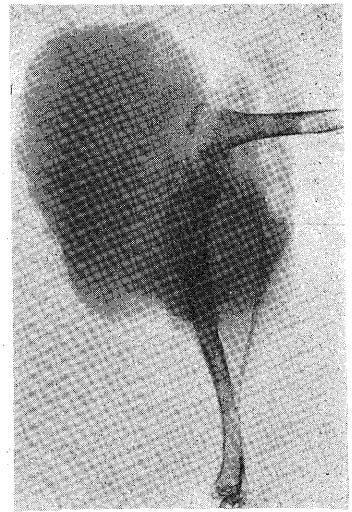


図 27

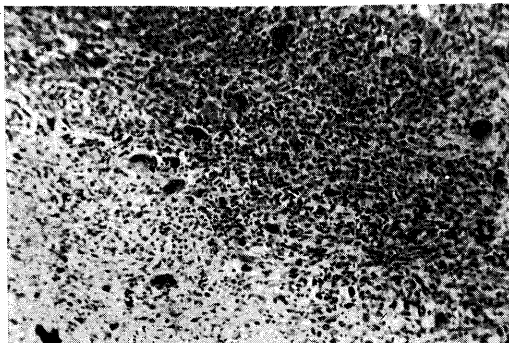
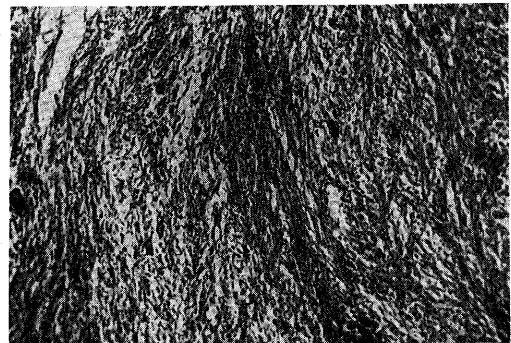
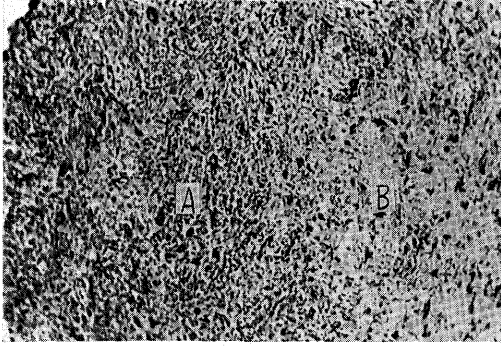


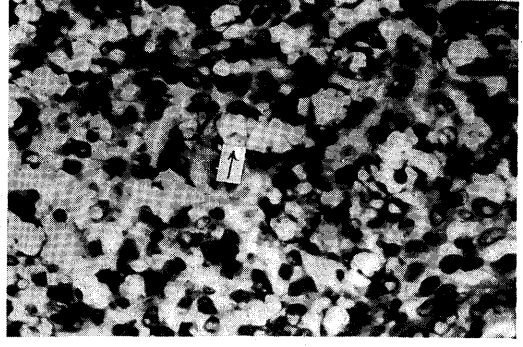
図 28



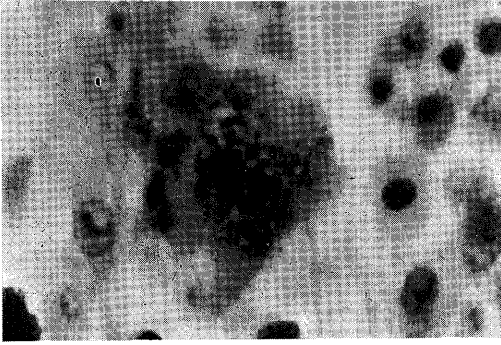
☒ 29



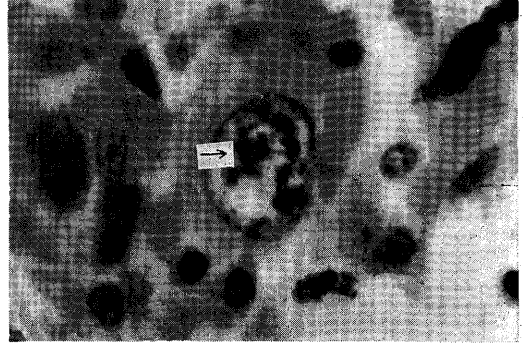
☒ 30



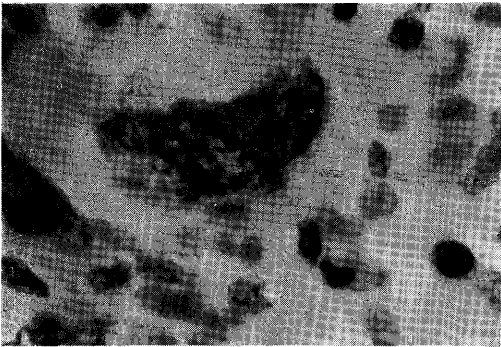
☒ 31



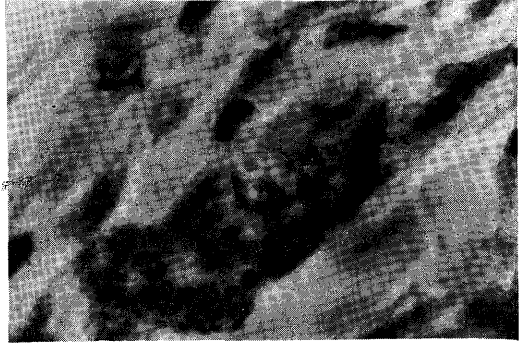
☒ 32



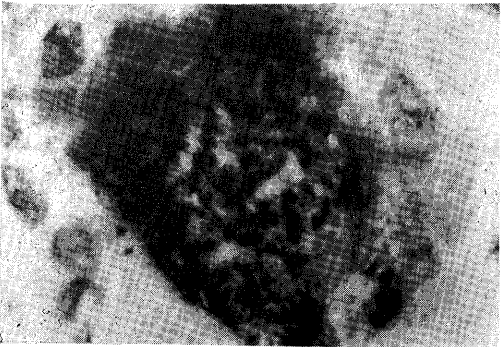
☒ 33



☒ 34



☒ 35



☒ 36

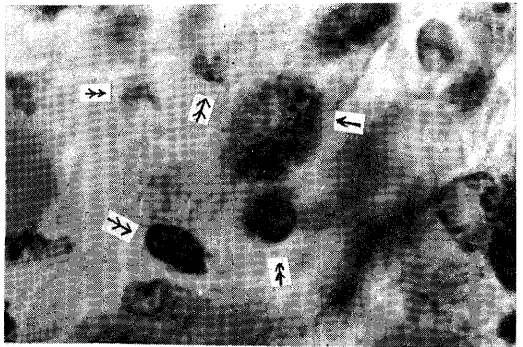


図 37

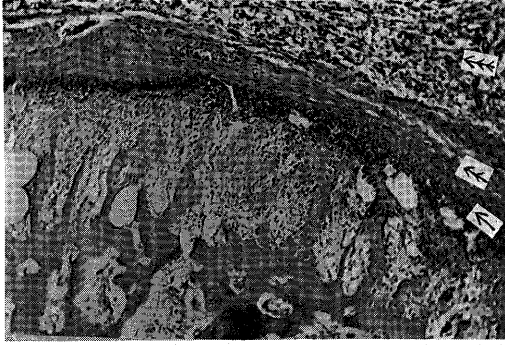


図 38

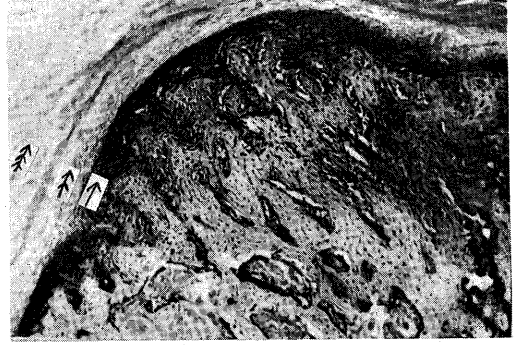


図 39

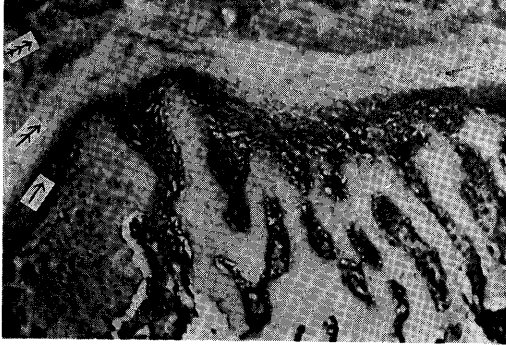


図 40

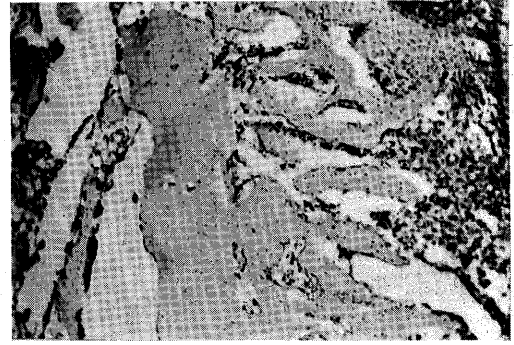
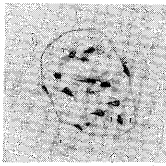
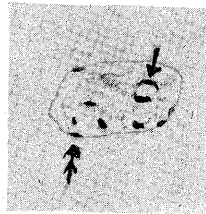


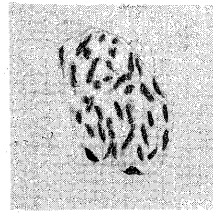
図 41



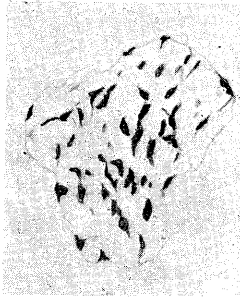
1



2



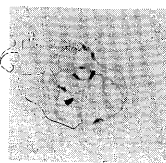
3



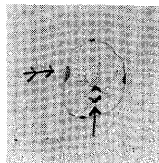
4



5



6



7



8