

## マウスにおける3:4-ベンツピレン肉腫の形態学的研究\*

金沢大学医学部第一病理学教室(主任: 渡辺四郎教授)

(指導: 梶川欽一郎助教授)

奥野史朗

(昭和38年7月23日受付)

(本論文の一部要旨は、第46回日本病理学会総会(岡山)、第50回日本病理学会総会(東京)及び第51回日本病理学会総会(北海道)において発表した。)

従来、3:4-ベンツピレン肉腫の組織発生に関しては、Morelli<sup>43)</sup>、Rondoni<sup>62)</sup>、Brock<sup>6)</sup>の研究がある。しかし結合織細胞は元来組織発生上議論が多いので、それが腫瘍化した場合、腫瘍の母細胞に関してはいろいろな見解が発表されている<sup>20)23)76)</sup>。このような異論の原因の一つは、通常の切片標本では結合織細胞の種類と同定が非常に困難な場合が多いという事実に基づいている。この欠陥を除くため、細胞の種類を判別がより容易である小皮標本を用いて結合織細胞が腫瘍化する過程を追求した。これが本研究の第一の目的である。

本研究の第二の目的は、腫瘍細胞の微細構造の電子顕微鏡的観察である。腫瘍細胞の電子顕微鏡的研究は近年著しく増加しているが、ベンツピレン肉腫については殆んど行なわれていない<sup>27)</sup>。この観察は腫瘍化した結合織細胞の微細構造に関する知見を補遺すると共に、腫瘍の組織発生に対しても一つの裏付けを与えることになる。

本研究の第三の目的は腫瘍の間質に関する問題の検討である。肉腫の間質、特に血管については従来吉田ら<sup>77)78)</sup>の他にも2、3の見解<sup>7)24)</sup>が発表されている。しかし、電子顕微鏡的観察は非常に少なく、永島<sup>40)</sup>、Oota<sup>52)</sup>の研究の一部において僅かに触れてあるにすぎない。肉腫の血管構造の解明は、結合織細胞と血管内皮の異同の問題に関係し、結合織の病理を理解する上に重要な手掛りを与えるものである。

## 材料及び研究方法

約20gのdd-N系マウスの雄を使用し、剃毛、消毒した腰背部皮下に、0.05% 3:4-ベンツピレンオリブ油を1週1回(1回量0.5cc)、連続5回注射後放置した。実験中の動物は咬傷をさけるため個々に隔離した。

光顕的観察に際しては経時的に殺して局所を検索した。標本作製には武田<sup>70)</sup>の記載に従い皮下結合織を小皮標本とし、主として Möllendorff<sup>44)</sup>の Eisenlack 染色を施して光学顕微鏡及び一部は螢光顕微鏡で観察した。その他に H・E 染色、PAS 染色、Sudan III 染色、Van gieson 染色、Masson 染色、Gomori 氏鍍銀染色、弾力線維染色等を目的に応じ併用した。腫瘍化が進むと小皮標本の作製が困難になるので、このような材料の一部は凍結切片、ツエロイジン及びパラフィン切片と同様の染色をして鏡検した。

電顕的観察のためには、マウスの背部に発生せしめたベンツピレン肉腫に固定液を滴下しつつ組織の小片を切出し、細切してペロナル緩衝液で pH 7.4~7.6 に調製した1%オスミウム酸水溶液(Palade 氏法<sup>58)</sup>)に投入、4°Cで約2時間固定した。固定後漸次濃度の高い冷エタノール列で脱水し、メタクリレート(n-ブチルメタクリレート9対メチルメタクリレート1の混合液)に包埋した。超薄切片作製には JUM 4型ミクロトームを使用した。切片は適宜1%過マンガン酸カリ水溶液<sup>59)</sup>及び1%燐タングステン酸70%エタノール溶液<sup>25)</sup>でそれぞれ電子染色を施し、日立 HU-9型(加速電圧50KV)及びHu-11P型(加速電圧75KV)電子顕微鏡で観察した。直接倍率5,000~20,000倍で撮影後、写真的に拡大して観察した。

## 実験成績及び所見

- 〔I〕ベンツピレン肉腫の発生と形態  
以下、ベンツピレンを Bp. と略記する。  
(A) Bp. 肉腫発生数

総数307匹のマウスを10回に分けて実験し、内20匹を以つてオリブ油のみで同処置をし対照とした。各回の実験動物において肉腫を発生したものは表1に示す如くである。

\*Morphological Studies on 3:4-Benzpyrene Sarcoma of Mice. Shiro Okuno, Department of Pathology (Director: Prof. S. Watanabe), School of Medicine, University of Kanazawa.

第6回以後の実験においては、肉腫発生に至らぬ前に局所の経時的变化を観察する目的で殺したものが多し。これに反し、第5回までの実験では、第3回実験の1例を除き、すべて最終回の注射から死亡まで放置して肉腫の発生を観察した。第5回までの実験総数117匹のうち肉腫の発生を認めたもの98匹、発生率は84%であつた。注射開始から肉腫発生までの最短日数は65~105日で、平均94日を以つて肉腫が発生することが知られた。全実験動物数の約10%は肉腫発生前に斃死したが、多くは肺炎または伝染性下痢によるものであつた。なお、第5回目までの成績では全体の6%以下に、注射後60週を経て局所に腫瘍を発生せず、放置して斃死するまで終に腫瘍の形成を認めないものがあつた。

(B) 肉眼的並びに光学顕微鏡的所見

1. Bp. 肉腫の組織発生

5回の注射を終えたマウスの背部には波動をもつた腫瘤が形成されている。これは日と共に縮小するが、約10週で局所の皮膚は移動性を失い、約13週ではこの部はやや硬く触れるようになる。やがて皮下に比較的境界明瞭な硬い小結節を生ずる。結節は速かに増大し、腰背部を占める巨大な腫瘍を形成 (Fig. 1)、約24週を以つてマウスは腫瘍死する。

以上の発癌過程における局所の変化を、組織学的所見から非特異性急性炎症期、肉芽性炎症期、異型結合細胞出現期、肉腫形成期の4期に分け以下に述べる。

a) 非特異性急性炎症期(初回注射後6時間~2週)

初回注射によつて Bp. 油滴を中心に強い滲出及び多核白血球浸潤が起る。時間の経過と共に小型組織球が増加して油滴のまわりに集まる傾向が認められる。油滴からやや離れた部では、組織球、線維芽細胞とも僅かに増加の傾向を認めるが、活潑な増殖は認められない。所々顆粒に富んだ肥細胞の集団が散見される。24時間以後の所見では Bp. 油は小さい油胞に分れ (Fig. 2)、油胞をとりまく多核白血球は以前に比し減少、滲出も幾分減退する。多核白血球の減少と対照的に、油胞のまわりにはこれを取り囲んで小型組織球及びこれと形態的に移行の認められる種々の大きさの組織球の増加が著しく、これらの細胞には種々の程度に旺盛な Bp. 油貪喰が認められる。しばしば Bp. 油をとりまいて組織球が花冠状に配列し、胞体を互に接して上皮細胞様配列をとるものがあり、核に接し胞体内にPAS陽性顆粒が認められる (Fig. 3)。これらの細胞にもまた貪喰物が認められる。螢光顕微鏡で観察すると、胞体を満して存在する貪喰物は、帯緑紫色の一次

表 1

実験回数	マウスの系統 (純系) 実験に使用する	実験動物数	肉腫発生数	肉腫発生最短日数	肉腫発生後検査数	死亡数			60のる週経生を認め腫
						肉腫発生前		腫瘍死例生数 (含まる)	
						検査の撲た殺	実死亡例途中数		
1	dd-N系	17	13	95	13	0	3	8	1
2	"	20	15	93	15	0	3	5	2
3	"	20	17	115	8	1	2	8	0
4	"	30	26	65	8	0	2	11	2
5	"	30	27	90	10	0	1	10	2
6	"	50	29	105	7	15	4	5	2
7	"	50	13	85	5	30	6	2	1
8	"	30	0	95	0	30	0	0	0
9	"	20	8	97	8	10	2	1	0
10	"	20	7	102	7	10	2	1	1
10	総計	287	155	/	81	96	25	51	11
5	第5回実験迄の小計	117	98	/	54	1	11	42	7
	第5回実験迄の実験動物数との対比	/	0.84	/	/	/	0.095	/	0.059
	平均	/	/	94.2	/	/	/	/	/

螢光を発し輝いて見えるのでベントピレンに由来するものであることが判る(2~3日)。漸次線維芽細胞の増加は油胞周辺において活潑に見られるようになり(5日)、しばしば2核の線維芽細胞に遭遇する。線維芽細胞は油胞の周辺から次第にBp.油に接して見られるようになり、増殖したこれらの細胞の長い原形質の突起は互に重なり合つて認められる。胞体には繊細網状の構造がうかがわれ、時にPAS陽性顆粒が証明される(Fig. 4)。線維芽細胞の増殖及び油胞表面への進出に反し、これまでBp.油胞の表面及びこれに近接して活潑なBp.油の貪喰を示した組織球はむしろ油胞の表面に少なくなり、線維芽細胞と交代する如き傾向が認められる。油胞の表面は縦横に錯走する新生した好銀線維によつて被包される(1週)。油胞に近接した部分では組織球及び線維芽細胞の増殖が更に強く認められ、後者は次第に油胞の全表面を被つて密な好銀線維網を形成し、増殖した線維の一部では膠原化が認められる。組織球による貪喰はなお活潑に認められるが、線維芽細胞ではその傾向は乏しい。局所の毛細血管には多核白血球遊出がなお継続して見られる他、毛細血管の分芽新生像が認められる。

#### b) 肉芽性炎症期(3週~7週)

細かく分散したBp.油胞は泡沫状に見え、その周辺は肉眼的に灰白色に混濁し肥厚して見える。組織学的には、Bp.油胞に直接した線維芽細胞及び一部の組織球に核濃縮、核破砕、胞体の強い空胞形成等を認めるものがある。Bp.油胞表面及びこれに近接した場所では、核小体の多いやや大型の線維芽細胞の増殖が活潑に認められる。これに反しBp.油胞に近接した組織球には強い増殖を示す所見は見られない。大多数の組織球はいずれも胞体の大部分を貪喰したBp.油で満され、これらの細胞のうちには核濃縮、原形質の破砕等の変化の見られるものが少なくない。組織球の増殖はむしろBp.油胞を中心にその周辺帯に認められ、時に2核の組織球が認められる(3~5週)。Bp.油胞をとりまく組織は、線維芽細胞の強い増殖、膠原線維の増生と、この間に多核白血球、リンパ球、種々の大きさを示す組織球等が見られる毛細血管に富んだ非特異性肉芽組織の像を呈するに至る(6~7週)。

#### c) 異型結合組織細胞出現期(8週~12週)

Bp.油胞の周囲に増殖する線維芽細胞には2核或いは3核の細胞が認められるほか、核分裂像が多く見られる。時に異物巨細胞が見られるが、巨細胞の出現は一般に少ない。注目すべき点は、油胞の近傍に極めて散発的に大型の細胞の混在することである。形態的には周囲の線維芽細胞と類似し、長い原形質の突起を有

している。しかし、胞体、核、核小体はいずれも大きく、他の細胞と明瞭に区別される(8週)(Fig. 5)、(Fig. 6)。9週のマテリアルではこの種の大型線維芽細胞類似の細胞が更に多く認められる。胞体は分厚く、突起は太く且つ長く、塩基性色調は一段と強い。肉芽期に一般に認められた線維芽細胞の5~6倍大の胞体及び核を有し、核縁は不整、核質は粗糙で粗大な核糸が網状に配列している。核小体は明瞭に識別され、類円形を呈し巨大、その多くは核膜に接して認められる等がこの細胞の特徴である。胞体及び核小体はRNAに富み、メチルグリーン・ピロニン染色で強く赤染する(9週~9.5週)。この細胞は線維芽細胞に富んだ油胞周囲の肉芽組織内に浸潤性に増殖を始める。パラフィン切片標本でもこの大型線維芽細胞は、その大きさ及び周囲の線維芽細胞の配列と異なつた増殖の態度及び、胞体がより強い好塩基性を示す点で肉芽組織の線維芽細胞とよく識別され、異型線維芽細胞と見なされる(Fig. 6)。この時期において組織球に類似した異型細胞は認められない(11週~12週)。

#### d) 肉腫形成期(13週~16週)

注射後13週頃には次第に腫瘍の形成が始まる。初期には上述の異型線維芽細胞は皮下結合織、脂肪組織に浸潤性増殖を始め、腫瘍細胞としての性格が次第に明瞭となつてくる。細胞の核分裂像も多く認められる。胞体内に時にPAS陽性顆粒の認められるものがある(13週)。腫瘍細胞の増加と共に、多数の油胞の散在する肉芽性組織は次第に腫瘍組織におき代つてくる。毛細血管は腫瘍細胞間に埋没し、血管の新生は見られない(14週)。注射後15週~16週目の頃には、腫瘍は肉眼的に皮下組織内に比較的限局した、直径5mm以下の硬い灰白色の結節として認められる。結節内には所々Bp.油胞が小円形の空隙として存在し、これを囲んで紡錘形の腫瘍細胞が幾層状をなし密に増殖している(15週~16週)。

#### 2. 対照群における局所の変化

オリーブ油のみを以つて同様処置したもので、滲出性の反応は実験群に比して軽度である。初期に見られる組織球の増加も時期的に実験群と大差なく、オリーブ油胞をとり囲んで上皮細胞様に配列し、胞体内にPAS陽性顆粒が出現する。2~3週頃までにオリーブ油のまわりの組織球、線維芽細胞の増殖は活潑となり、好銀線維が形成されて局所は肉芽組織の性格を示すようになる。実験群では引きつづき結合組織細胞の増加がおり、遂に異型線維芽細胞の出現を見るに至るが、対照群では組織球、線維芽細胞共にその数は次第に乏しくなり、オリーブ油は漸次細胞成分の少ない、

厚い線維性の隔壁で互に境され、約8週を以つて局所の反応はほぼ終了する。対照群では、注射後放置されたものにおいて腫瘍の発生を認めたものはない。

### 3. 実験群において、注射後60週を経て腫瘍の発生を見ず斃死した例の局所の変化

皮下結合織内に粥状の物質を混ざる油液が存し、厚い線維性被膜をもつて周囲と境されている。被膜は細胞成分に乏しく硝子様無構造で、時に内壁は変性像の認められる比較的胞体の明るい1層の細胞で被われている。油液は螢光顕微鏡下にBp.油溶液特有の帯緑紫色の一次螢光を発する。結合織細胞の増殖の見られる部分はなく、腫瘍組織は全く認められない。

### 4. Bp.肉腫の形態学

注射後およそ14週～15週を経ると、注射部位に硬い結節を生じ、20週では超クルミ大の腫瘤となる。結節は核分裂像の多い、異型性の強い紡錘形の細胞からなり、その浸潤は周囲組織に広汎に及んでいる。

#### a) 腫瘍細胞の形態

腫瘍組織を構成する細胞は形態上、大型紡錘形細胞、小型紡錘形細胞、網状細胞及び多核乃至は巨核細胞の4型に区別される。

#### i) 大型紡錘形細胞 (Fig. 7) (Fig. 8)

この細胞は腫瘍組織の大部分を占める恒常成分で、ほぼ互に並行し、柵状或いは緩やかな波状に配列する。胞体は紡錘形で両端の突起は軸方向に長く延びている。胞体は分厚く、強い好塩基性を示し、時にPAS陽性顆粒が認められる。核分裂像の見られる頻度は最も多い。核は大きく細長小判型を呈し、核膜は肥厚して見える。大型、辺縁の不整な核小体は2～7個認められ、しばしば核膜に接して存在する。核質の構造は極めて粗大な網状を呈する。

#### ii) 小型紡錘形細胞 (Fig. 7) (Fig. 8)

大型紡錘形細胞に混じり、大型リンパ球大、核質はクロマチンに富み、核質の内部構造、核小体は一般に不明瞭である。胞体はほぼ円形に近いものもあるが、多くは両端に短い突起を有し、大型紡錘形細胞との間に形態的移行が認められる。

#### iii) 網状細胞 (Fig. 9) (Fig. 10)

短い突起を有する細胞が網状に連なり合い集団をなして認められる。これらの細胞が紡錘形細胞集団の横断像でないことは、網状細胞の比較的多い腫瘍が時に認められることによつて証明される。この細胞は大型紡錘形細胞より小さく、胞体はやや明るく空胞状、核は類円形で胞体に比し大きく空胞状を呈する。核小体は大型で数個明瞭に認められ、核膜内側に偏っている。網状細胞の増殖の著しい腫瘍では細胞の異型性が

極めて強く、巨細胞出現の頻度も多い。

#### iv) 多核細胞及び巨細胞

発生した腫瘍のすべてに常に多核細胞や巨細胞が見られるということはない。むしろ大きな結節ではこれらの細胞は少ないが、初期の小さい結節に多く見られるものがある。多核細胞は少なく、巨細胞のかたちが多い。核内封入体等を有するものは認められない。

#### b) 細胞間物質 (線維)

密在する腫瘍細胞の間には、種々の程度に、染色上膠原線維の性格を示す線維が認められる。鍍銀染色では、腫瘍細胞間或いは個々の細胞に絡んだ細かい好銀線維網が形成されている。大型紡錘形細胞の多い部分では好銀線維は繊細で且つ多く、腫瘍細胞にまつわりついた細かい分岐を示している (Fig. 8)。網状細胞のある所では好銀線維は疎で且つ短い (Fig. 10)。腫瘍組織内の好銀線維は、結節辺縁部で周囲皮下結合織の膠原線維と連続性に移行している。

弾力線維は、結節辺縁部の血管壁に見られるのみで腫瘍組織の中心部には全く認められない。

#### c) 腫瘍細胞の増殖態度

肉芽性病変より発生した腫瘍組織は、最初限局した小結節を形成し、個々の小結節には腫瘍細胞の連続的な繋りは見られない。やがて結節辺縁部の腫瘍細胞が徐々に浸潤性発育することによつて、小結節は癒合し増大する。腫瘍細胞の顕著な浸潤性発育は、早期に腰背筋群に向つておこる。腫瘍細胞は筋層の結合織に沿つて浸潤し、更に筋膜、骨膜に達し、末期例では後腹膜下の結合織に浸潤している。一方、外表に向つて腫瘍細胞の増殖は、皮下筋層の底部に存する弾力線維網によつて或る程度阻止されるように思われる。深部筋層への浸潤が高度な時期においても、外表に向つて浸潤した腫瘍はこの皮下筋層の弾力線維網の下で止り、皮下筋層及び真皮内への浸潤は認められないからである。しかし、弾力線維網が一旦腫瘍細胞の浸潤によつて一部破壊された部分では、恰も水のほど走り出る如く、腫瘍細胞がここから皮下筋層及び真皮結合織に浸潤している像が認められる。浸潤の高度な部では表皮の萎縮、潰瘍形成等が認められる。腫瘍死を遂げた動物では、皮膚、皮下組織、深部腰背筋群、後腹膜結合織等に浸潤が認められる (Fig. 1.)。これらの増殖はすべて原発巣より連続性に起つており、遠隔転移は腫瘍発生を確認したものの151例中1例にも証明されなかつた。腫瘍結節周囲に比較的多数の肥胖細胞集団が少数例において見られるが、腫瘍細胞の浸潤性発育がこれらの例で他と異なる所見は得られない。

附) その他

実験群において、表皮細胞に軽度の増殖の見られる例はあるが、皮膚癌を発生したものはない。1例に組織学的に皮脂腺腫が認められた。その他、筋肉腫に近い組織像を呈するものが2例に見られたが、腫瘍細胞の胞体内に横紋を証明することはできなかった。

また、Bp. 油の注射によつて得た腫瘍の同種皮下及び同種腹腔内移植を試みたところ、いずれも成功し、もとの腫瘍と組織学的に同性状の移植腫瘍を得ることができた。皮下移植例では腫瘍の発育が連続性、浸潤性であるのに反し、腹腔内移植例では腹膜における結節形成のほか、肺臓への血行性転移を認めたものがあつた。著明な腹水を認めたものはない。

(C) Bp. 肉腫の電子顕微鏡の所見

1. 肉腫細胞

a) 核

核膜は幅 70—80 Å の明瞭な二重構造を有し、所々に小孔を認める。小孔には Wischnitzer<sup>72)</sup> の記載の如き特定の構造を認めない。小孔の直径は 350—650 Å (平均 470 Å) であつた。外側の核膜は所々 RNP 粒子を附し、細胞質に向つて膨出するものがある。二重の核膜の間には特定の構造を認めない。核は細胞質に比し一般に大きく、表面にはしばしば粗大なくびれが見られる。核質は直径 150—250 Å の顆粒からなつておりその分布は粗である。核小体は大きくしばしば核膜に近接して存在する。肉腫細胞の多くの核では、核膜に沿い幅 450—700 Å の帯状をなす核質顆粒の集合を認めることがある。

b) 小胞体

肉腫細胞の小胞体には粗面小胞体及び滑面小胞体の2種が見られるが、粗面小胞体が多少とも優勢と判定しうる細胞と、滑面小胞体が優勢な細胞が存在する。以下、仮に前者をA型、後者をB型と呼ぶことにし、また、粗面小胞体、滑面小胞体共に比較的良好に形成されているにも拘らずそのいずれが優勢と判定できない細胞をC型、更に、細胞質に粗面、滑面小胞体共に極めて乏しく、いずれを優勢と断定し得ない細胞をD型と呼ぶことにする。今、電顕的に観察し得た任意の407個のBp. 肉腫細胞について、これら各型の細胞が現われた頻度は表2に示す如くである。

以下にA, B, C及びD型の肉腫細胞の小胞体について記述する。

i) A型肉腫細胞

Bp. 肉腫細胞における粗面小胞体の量と形態は、細胞質小器官のうちでは最も多彩な像を示している。従つて所見を記載する便宜上、A型細胞のうち粗面小胞体の極めて乏しいものをI型、比較的良好に形成されて

表 2

計	A 型	B 型	C 型	D 型
407	251	88	27	41
比率 (%)	61.7	21.6	6.6	10.1

いるものをII型、両者の中間的な状態のものをIII型とすると、III型に属する細胞の数は圧倒的に多い。

I型の細胞では一般に小胞体は極めて僅かしか認められず、主として細胞質中心域に存在し、直径 100 μm 以下の円形または小管状の断面を示している。小胞膜の一部には RNP 粒子を欠くものが認められる。細胞質辺縁部には極く少数の滑面小胞体が認められる。

II型の細胞では粗面小胞体が比較的良好に發育し、その多くは吻合した管状の断面を示す。細胞中心域に存在するものが多いが、時には殆んど細胞質全域に分布するものが認められる。小胞体の内腔はしばしば嚢状に拡大し、電子密度のやや高い均質な物質と共に、配列の一定しない幅 50—100 Å の線維状物が認められるものがある。滑面小胞体は粗面小胞体に比して少なく、円形で細胞質辺縁部に多く、一部は細胞膜直下より細胞質内部へと列をなして存在する (Fig. 14)。

III型の細胞はI型及びII型の中間のものを含むが、概して粗面小胞体形成の良好でない細胞が多い。粗面小胞体は吻合の乏しい細短管状を呈するものが多いが、一部に内腔の著しく拡大したものを混在することが、III型の細胞の粗面小胞体の特徴的な形態である。短管状の小胞体や、一部嚢状の小胞体が同一細胞質内に雑然と存在し、これらに両者の中間的な形態を示すものは見られない。このように極端に形態の異なつた粗面小胞体は、粗面小胞体相互の間にも、核に対しても、また細胞軸に対しても全く無関係に、任意の方向に分散して存在する (Fig. 13) (Fig. 17)。小胞体膜に付着する RNP 粒子の配列は不規則で、強く内腔の拡大したものでは RNP 粒子を有しない部分の多いが目立つている。内腔には一般に電子密度のやや高い無構造の物質が見られ、時にその中に不規則な方向に配列する幅 50—70 Å の線維状物が認められる。線維状物には特定の微細構造を認めたい (Fig. 17)。

滑面小胞体は細胞質辺縁部に存する少数のものを除いて一般に少ない。

ii) B型肉腫細胞

滑面小胞体に富む細胞では、その形態にA型肉腫細胞に見られたような変化に富んだ像は認められない。

この型に属する個々の細胞では、滑面小胞体の量が主な変化である。最も単調な構造を示すものでは、小円形の断面を示す滑面小胞体が細胞中心域に少数散在するにすぎない (Fig. 11)。粗面小胞体は殆んど認められない。滑面小胞体の多いものでは、種々の大きさの円形の断面を示す滑面小胞体が細胞質の辺縁部から中心域にかけて広く存在し、管状の粗面小胞体は少数主として核周辺に認められるにすぎない。細胞質辺縁部には多数の滑面小胞体が存在し、しばしば細胞膜の陥入部から列をなして存在する像が認められる。その他、細胞質には一重の限界膜で包まれ、電子密度の高い均質性或いは微細顆粒状の内容をもつた、直径平均  $0.4\mu$  大の特殊顆粒が種々の程度に認められる。特殊顆粒は滑面小胞体の多いものにより多く見ることができる (Fig. 15)。

### iii) C型肉腫細胞 (Fig. 16)

粗面小胞体は主として核の周囲から細胞質辺縁部に向け管状のものがやや多く認められる。しかし、粗面小胞体が互に吻合する像は乏しく、また、嚢状に拡大したものは認められない。時に粗面小胞体の内部に電子密度のやや高い物質を容れているものがあるが、線維状物は一般に認めることができない。

滑面小胞体は細胞質辺縁部から中心域にかけて種々の大きさのものが比較的多く存在し、細胞膜直下では細胞質内部に向つて列をなして存在する小胞が認められる。細胞膜表面は不規則な突起を形成している。細胞質には前にB型肉腫細胞に認めたと同様の特殊顆粒が認められるものがある。

### iv) D型肉腫細胞 (Fig. 11) (Fig. 12)

細胞質は遊離状 RNP 粒子が多く、粗面小胞体、滑面小胞体のいずれをも殆んど認めることができない。広い細胞質には RNP 粒子以外に時に1~2個の糸粒体を認めるのみである。しかし、A型肉腫細胞のI型及びB型肉腫細胞のうち最も単調な構造を示す細胞とそれぞれ形態的に移行が認められる。

### c) 糸粒体

糸粒体は主として細胞質中心域に多く認められ、粗面小胞体の存在する区域に多い。しばしば粗面小胞体に近接して存する糸粒体が認められる。数は、小胞体形成の良否と並行した関係を示す。多くは卵円形若しくは長楕円形の断面を示す。時には長さ約  $3.5\mu$  に及ぶ巨大なものが認められる。二重膜構造 (幅  $110-150\text{Å}$ ) は明瞭であるが、極く一部のものでは一端が一重膜のものが見られることがある。糸粒体は全般に種々の程度に腫大の傾向強く、基質の電子密度は著しく低下しているのが特徴である。腫大に伴つて櫛 (cristae

mitochondriales) の短縮、離開、数の減少等の変形が認められる。

### d) ゴルジ体

Bp. 肉腫細胞のゴルジ体もまたゴルジ膜、ゴルジ空胞及び小胞からなるが、その形態は個々の細胞によつて必ずしも一様でない。一般に小胞体、糸粒体等の細胞小器官の乏しい細胞ではゴルジ体を構成する各成分も乏しく、これらの極端に乏しいD型の肉腫細胞や、A型及びB型の一部の細胞ではゴルジ体ははっきりしない。一方、小胞体殊に粗面小胞体と糸粒体の多いものではゴルジ体の各成分も増し、特にゴルジ小胞の増加が著明で、核の周囲に広いゴルジ野を形成する。A型肉腫細胞のうちでも数の多いIII型の細胞では、ゴルジ体は僅かのゴルジ膜及び空胞からなつており、小胞成分の乏しい像が特徴的である。ゴルジ膜は約  $100\text{Å}$  の幅を有する二重膜からなり、ゴルジ空胞及び小胞と連続的に移行する像が認められるが (Fig. 21)、特定の内容は認められない。小型のゴルジ小胞はゴルジ野に分散して認められ内部の電子密度は全般に高いが、小胞が大きくなるに従い内部の電子密度は低下し、二重膜構造が明瞭となる。過マンガン酸カリで電子染色を施したものは、大型のゴルジ小胞の二重膜構造の内部に直径約  $70-100\text{Å}$  の微小胞が十数個珠数玉状をなして存する如き微細構造がらかがわれる (Fig. 21)。

### e) 特殊顆粒 (Fig. 13) (Fig. 15)

特殊顆粒とは従来 Lysosome<sup>13)</sup>、H-Granule<sup>28)</sup> 等、様々な名称で呼ばれている顆粒成分に類似した形態を有する顆粒である。この顆粒は一重の限界膜を有するやや楕円形の顆粒で、大きさは長径  $0.2-1.0\mu$  (平均  $0.5\mu$ )、短径  $0.15-0.7\mu$  (平均  $0.35\mu$ ) である。内部は一般に電子密度高く均質性、時に微細顆粒状のものも認められ、一部のものでは空胞状の構造やミエリン像を示すものがある。特殊顆粒の出現は滑面小胞体の優勢なB型肉腫細胞に多く、C型にも認められるが、粗面小胞体の優勢なA型肉腫細胞では認められることはあるが少ない。

直径  $0.4-0.7\mu$ 、不整形、オスミウム好性のいわゆるリポイド顆粒は、Bp. 肉腫細胞では特に多く認められない。

### f) multivesicular body (Fig. 20)

一重の限界膜で境された腔の中に小胞が集在している構造物を有するものがある。その形態は Sotelo<sup>29)</sup> らによつてラッテの卵細胞に見出され、その後多くの体細胞についても報告されたいわゆる multivesicular body に極めて類似した形態を示すものである。内部の小胞の直径は  $400-500\text{Å}$  で、2、3個から十数個集在

し、多くのものではこれらを取り囲む直径  $0.2 \sim 0.6 \mu$  の一重の限界膜が認められる。限界膜の内部は一般に電子密度が低いが、時に中心部にやや電子密度の高い楕円形の構造を認めるものがある。限界膜の外周には、内部に存するとほぼ同大の小胞が衛星状に認められる場合がある。この種の構造物は細胞質中心域に見られることが多い。任意の 407 個の肉腫細胞について僅かに 16 個の細胞に認められるにすぎず、A, B, C 及び D 型肉腫細胞についてはいずれの型に多いという傾向も見られない。

ビールス様小体と考うべき構造の見られる細胞はない。

#### g) RNA 粒子 (Palade の顆粒)

RNA 粒子は直径  $150 \sim 200 \text{ \AA}$  の電子密度の高い微細顆粒として、粗面小胞体膜及び核膜の外側の一部に附着して認められ、また、遊離状に細胞質の全域にわたって広く存在する。Bp. 肉腫細胞では細胞質の遊離状 RNA 粒子は常に数個相寄って存在し、個々の粒子が細胞質にびまん性に分散した像は認められない。時々遊離状の RNA 粒子が粗面小胞体に接して密に存在する部が認められる。

#### h) 細胞基質

細胞基質は細胞外基質に比しやや電子密度高く一般に無構造であるが、時に繊細な網状の構造を認めるものがある。A 型肉腫細胞のうち粗面小胞体の優勢な II 型及び III 型の一部の細胞では、細胞膜に近く他の部より更に電子密度の高い不定形の物質の集積が見られるものがあり (Fig. 17) (Fig. 18), ここに幅約  $40 \sim 100 \text{ \AA}$  の線維状物が認められる。細胞膜はここでは不明瞭となつている。線維状物には横紋構造を認めることができない。

#### i) 細胞膜

良好な切片では細胞膜が 3 層の膜構造からなるのが認められる。一般に細胞小器官の乏しい肉腫細胞では細胞膜表面は直線的であるが、粗面及び滑面小胞体の増加に伴ない細胞膜表面の複雑な入り込みと突起が多く認められる。

#### 2. 細胞間物質

細胞外には無構造な基質の内に種々の程度に膠原線維の集束が存在している。一般に粗面小胞体の形成が悪い細胞 (A 型の I 型) の集まつた所では、細胞は直線的な細胞膜をもつて約  $250 \text{ \AA}$  の狭い間隙で境され、この間隙には線維状の構造物は殆んど認められない。A 型の II 型の肉腫細胞の隣合う所では細胞間隙も幾分広く、所々細胞膜に接して、幅  $100 \text{ \AA}$  前後の線維状物と共に電子密度の高い不定形の物質及び直径  $300 \text{ \AA}$  前

後の膠原線維が認められる (Fig. 13)。粗面小胞体の比較的良好に発達した A 型の II 型の肉腫細胞では細胞膜表面の凹凸が複雑なため、細胞間隙も  $250 \text{ \AA}$  から  $0.8 \mu$  までの広さを示している。広い間隙には幅  $100 \text{ \AA}$  前後の線維状物及び直径  $450 \text{ \AA}$  までの膠原線維の集束が認められる。燐タングステン酸染色では、直径  $250 \sim 300 \text{ \AA}$  以上の太い膠原線維に平均  $640 \text{ \AA}$  の周期性横紋が明瞭に認められ、更に 1 周期の間に  $6 \sim 7$  本の *substriation* が認められる (Fig. 19)。

一般に細胞間隙に見られる膠原線維の太さ及び量は、肉腫細胞の微細構造と関係して、細胞小器官の多い細胞のまわりに膠原線維の量も多く、且つ直径の太いものが見られる傾向が認められる。

細胞外で特に細胞膜に近接して認められる電子密度の高い不定形の物質及び幅  $100 \text{ \AA}$  前後の線維状物は、細胞質の周辺部において細胞内に認められるものと形態的に全く同一である。細胞外において線維状物や細線維が細胞膜に接して集積するところでは、細胞膜の形態が不明瞭となつている (Fig. 18)。 $100 \text{ \AA}$  前後の線維状物には横紋を認めることができない。細胞間隙では、極めて細い線維が多数密に集まつて太い線維の形態が作られると見なされる像が処々に認められる (Fig. 18)。

#### 〔II〕 Bp. 肉腫の血管系について

##### (A) 光学顕微鏡的観察

##### 1. 肉腫の血管

これまでの各項において Bp. 肉腫細胞と、肉腫細胞間に存在する主として線維の形態について記載してきた。以下 Bp. 肉腫の間質の今一つの成分である血管の形態について述べる。

既に述べた所見から Bp. 肉腫は線維肉腫に近い組織像を示すものであることは容易に想像される。間質の血管は特に豊富であるということはない。壊死、出血等を見ない初期の腫瘍は、核分裂像多く異型性の強い肉腫細胞よりなり、好銀線維は細胞に絡んで密な網眼を形成している。腫瘍辺縁部の血管は、周囲皮下結合織内の血管と吻合したものを認める。中心部の血管は毛細管型を呈し、疎に見出されるにすぎない。血管内腔は赤血球を満しているが、血管内皮或いは外膜細胞の確認は一般に困難で、血管周囲結合織も明確でなく、菲薄な血管内皮は直ちに肉腫細胞に接する如く見えるものが多い。

腫瘍の発育と共に、中心部の所々に壊死巣を生ずる。一般に壊死巣は凝固壊死を呈する中心部と、これを取りまいて多核白血球浸潤及び出血を伴った融解壊死を呈する辺縁部よりなるのが普通である。壊死巣に接し

た肉腫細胞には核濃縮や核破砕等、いわゆる *Nekrobiose* の像を認めるが、壊死を免がれた外周の肉腫組織の或る範囲に、不規則に内腔の拡張した極めて多数の血管が認められる (Fig. 22) (Fig. 23). この血管は海綿状を呈し、内腔は種々の程度に赤血球及び血液細胞で満されている。この血管系は脾臓の洞血管、肝臓の類洞血管の構造に類似するので、ここではこの特殊な血管系を仮に“類洞血管”と呼称する。

## 2. “類洞血管”の形態

豊富な類洞血管は常に壊死巣周辺帯に認められる。内腔の拡大したこれら多数の血管は互に吻合し、血管のよく発達した部分では肉腫細胞は血管の網眼に包まれ、恰も類洞 (Sinusoid) 形成の顕著な分化型肝細胞癌を見る如くである (Fig. 22)。この血液腔で囲まれて島状をなす肉腫組織は、連続切片で検すると他の島状の肉腫組織と複雑に3次的に連続しているが、この島状の肉腫組織自体の中には血管と称すべきものは全く見出されない (Fig. 23)。即ち、島状の肉腫組織は、その外周に存する血液腔によつて栄養されていると考えられる。血液腔は好銀線維よりなる壁で肉腫細胞と境される。この好銀線維は、外側に直接した肉腫細胞間の好銀線維に連続性に移行しているが、血管壁では肥厚して見える。血管周囲の肉腫細胞の配列は全く血管壁と無関係で、或る部では血管壁に沿つて並び、また或る部では壁と直交或いは斜交する (Fig. 23)。血管内壁は一般に平滑で、1層の扁平な血管内皮で被われているが (Fig. 23)、場所によつては血管内皮が認められず太い好銀線維が直接血液と接している。また、部分的に血管壁をなす太い好銀線維が欠如し、肉腫細胞が直接血液腔内に露出している所もある (Fig. 25)。血管の不連続部では、両端の太い好銀線維は急激に細くなつて肉腫細胞間の好銀線維に連続し、疎開している像が認められる。肉腫細胞が血液腔に直接露出し、厳密には肉腫組織の血液成分の間に全く隔壁のない部では、すでに脈管としての形態を失ない、肉腫組織内の出血と区別することは困難である。血液腔に露出した肉腫細胞には、核濃縮、胞体の空胞変性等の退行性変化が認められる。

## 3. “類洞血管”の成り立ち

壊死のない肉腫組織に豊富な類洞血管の認められないこと、及び豊富な類洞血管の認められる場合必ずその内側に壊死巣が存在することは、類洞血管の成り立ちに重要な示唆を与える。そこで、壊死と出血性変化に焦点を合わせ乍ら類洞血管の成り立ちについて注意して観察すると、極めて小さい壊死巣の周囲には常に毛細血管の破綻による微細な出血巣の存する像が認め

られる。

壊死巣の拡大と共に周囲の小出血の数は多くなり、出血部の肉腫細胞の変性、消失が起り、血液成分は残存した好銀線維の網眼の中に満される (Fig. 24)。出血が著しくなると血液成分によつて細かい好銀線維は消失し、血液をとりまく好銀線維は肥厚し、かくして太い好銀線維で囲まれた不完全な血液腔が形成される (Fig. 24)。隣接する血液腔は互に吻合し、血液を包む好銀線維は更に肥厚し、一部膠原化することによつて腔の壁が作られ、海綿状構造を呈する類洞血管の形態が完成する。その内壁は初めは凹凸があるが、恐らくは血流によつて次第に平滑になる。このような血管では、血管壁に弾力線維は全く認められず、基底膜もまた認めることができない。

次に類洞血管の内壁を被う細胞の由来について吟味したい。血管の内壁の細胞は、血管としての形態を備えた管腔の内壁を被つて存在すること、1層に配列し且つ血管壁に接する肉腫細胞と配列が全く無関係であること、血液腔に接する肉腫細胞ではしばしば変性、壊死を見るに拘らず、この細胞にはそのような傾向の乏しいこと等の理由から、内皮性の細胞である可能性を否定することはできない。しかし、一方では、血管内壁に密着し、血管内皮とも見られる1層の扁平な紡錘形細胞は、核質クロマチンに富み、核胞体比も大で極めて肉腫細胞の形態に類似している。また、管腔の形成過程において肉腫細胞の一部が明らかに血液腔内に露出する時があり、更に、類洞血管の発生が既述の如く、特殊な過程によつて行なわれ、その際血管内皮の分芽的増殖が局所に認められないこと等の所見は、この血管内壁を被う細胞が腫瘍細胞に由来するものではないかという疑いを起させる。この問題を解決するために、類洞血管の内壁細胞の微細構造を電子顕微鏡によつて観察した。

## (B) 電子顕微鏡的観察

### 1. 肉腫組織内の毛細血管の微細構造 (Fig. 26)

肉腫結節辺縁部では、周囲皮下結合織の毛細血管と吻合する血管の見られることは既に述べた通りである。電顕的にはこのような血管の内皮細胞は、胞体が互に屋根瓦状に重積して血管腔の内面を被っている (Fig. 26)。内腔に面する細胞膜表面は粗大な入り込みを有し、細胞質には大小円形の断面を示す多数の滑面小胞体が認められる。管状の粗面小胞体は細胞質中心域に時に認められるが、その数は極めて乏しい。細胞質には遊離状のRNP粒子は多くない。ゴルジ体及び糸粒体は核のまわりに見られ、少数の糸粒体では時に腫大を認めるほかには一般に形態の変化に乏しい。

核及び核膜の構造もまた既に記載されている他の体細胞のそれと特に異なるところはない。内皮の外側の細胞膜は一定の幅をもつた、電子密度のやや高い無構造の基底膜と接している。毛細血管基底膜と肉腫細胞との間には疎な膠原線維の集束が存在し、太い膠原線維には平均640 Åの周期性を示す横紋構造が認められる。

## 2. “類洞血管”の微細構造 (Fig. 27)

類洞血管は、血液細胞を容れ異常に拡大した腔として電顕的にも容易に固定し得る。管腔内には赤血球、多核白血球、血小板等が認められる。類洞血管壁の一部では明らかに肉腫細胞と同定される細胞が血液腔に露出し、赤血球及び多核白血球がこれらの肉腫細胞の間に浸潤している。このほか巨核球、血小板が認められる。正常の血管内皮の構造と一致する細胞は認められない。このような部分は、光顕的に血管壁形成の不完全な部として認められた局所の電顕像と解される。

類洞血管壁の平滑な部では、直径250 μmまでの膠原線維が多数束状をなして存在する。壁の大部分では内壁を被う細胞はなく、線維は直接血液成分と接触している。しかし一部では、膠原線維束の内側は1層の扁平な細胞で被われている。この細胞の内腔に面した細胞膜は若干の入り込みを有するが、相隣れる細胞の辺縁における屋根瓦状の重なりは明瞭でない。核は細胞質中央に存し楕円形で、その表面に粗大な陥凹が認められる。核膜の構造に著変を認めない。核質は細顆粒状を呈し、内側の核膜に沿って大型辺縁不整形の核小体と共に幅約700~800 Åの顆粒の密集帯が認められる。細胞質の遊離状 RNP 粒子は数個集合して存し、その量は多い、滑面小胞体は乏しく、これに反し細管状の粗面小胞体は多い。少数認められる糸粒体はいずれも基質の電子密度低く、櫛の配列は不規則で一般に腫大している。そのほか細胞質に一重の限界膜で包まれた直径約0.4 μmの電子密度の高い特殊顆粒が認められる。

外側の細胞膜は直接膠原線維束に接し、そこには基底膜の構造は全く認められない。類洞血管内壁の細胞と血管の周囲に密在する肉腫細胞と同定される細胞との間には幅約3 μmの間隙が認められ、ここには直径250~350 Åあるいはそれ以下の太さの膠原線維が多量に認められる。

## 考 按

### 〔I〕 Bp. 肉腫の発生と形態について

#### 1) 光顕的所見による肉腫細胞の発生過程

光顕的に腫瘍化の起る過程を追求してみると、実験群と対照群とに明らかに質的な相違が現われるのは、Bp. 油初回注射5~6週以後である。それ以前に見ら

れる滲出性変化及びそれに続発する肉芽組織の形成においては、実験群では一般に程度が強いが、対照群と質的な相違があるとは思われない。しかし、5~6週以後になると、対照群では、結合織細胞の増殖は次第に止んで、肉芽組織は線維化の傾向を帯びてくるのに対して、実験群では持続的な結合織細胞の増殖が認められる。

そこで第一に、増殖した結合織細胞は、既に腫瘍化した細胞ではないかという疑問が生ずる。

Berenblum らの<sup>4)</sup>の発癌2段階説によれば、腫瘍細胞は発癌性物質を未癌化量適用しただけの段階 (initiation) において発生し、細胞は既に腫瘍化しているに拘らず腫瘍細胞としての増殖を開始せず、いわゆる dormant cell の状態に止つていると考えられている。dormant cell は形態学的に腫瘍細胞として捉えることができず、従つてそれが何時発生したものであるかを確かめることができない細胞である。実験群において持続的に増殖する肉芽組織の細胞の中に、Berenblum らの dormant cell が含まれていないということを否定することはできない。しかし、それは形態学的に実証することが不可能である。若し dormant cell があるとすれば、Bp. 油胞周囲に限られた細胞であると考えられる。明らかな腫瘍細胞は常に Bp. 油胞の周囲から発生するからである。

腫瘍細胞の発生について特に注目されるのは、腫瘍細胞と見なされる大型異型細胞は、増殖した肉芽組織の任意の部位に発生するものではなく、常に Bp. 油胞に比較的接近した部位に発生し、このような大型異型細胞のみが次第に肉芽組織の中に増加し、肉芽組織の一部は遂にこれらの細胞で置き換えられて腫瘍結節が形成されるということである。従つて初期の腫瘍結節は常に油胞をとりまいて形成されるのである。

結合織に由来する肉腫が、結合織のいかなる細胞を母細胞として発生するかについては古来意見が多く、組織球や線維芽細胞、血管外膜細胞等が母細胞として考えられている。Rondoni<sup>62)</sup> は Bp. 肉腫に見られる組織像の多様性を組織球起源に求め、吉田ら<sup>76)</sup> はトリウム肉腫において、肉腫は異型線維芽細胞の増殖によつて形成されると考えている。

一方、木下ら<sup>34)</sup>の研究によれば、ウイルス性ニワトリ肉腫では初期反応が血管外膜細胞に見られるとし、彼らはトリウム肉腫のほか多数の実験的肉腫の場合でも同様に、肉腫化の母地は組織に潜在する多潜在を有する血管外膜細胞にあると結論している。

元来、血管外膜細胞と結合織細胞との関係については議論の多いところである。Herzog<sup>22)</sup> は、血管壁細

胞 (Gefasswandzellen) は更に発展分化する能力及び高い適応能力 (Anpassungs-fähigkeit) を有し、疎性結合織においては線維芽細胞その他に変化するものと考えている。Herzog 以外にも今日血管外膜細胞に結合織細胞の由来を求める学者は少なくない。この意味では肉腫細胞化が血管外膜細胞に起ると見た木下らの考えは、未分化な結合織細胞に腫瘍化が起ると考えるものであつて、分化した組織球や線維芽細胞の腫瘍化を考えた Rondoni や吉田らの考えと若干立場を異にしている。

Bp. 肉腫の発生過程においては、肉腫細胞発生に先きがけて、Bp. 油胞周囲に組織球及び線維芽細胞が旺盛な核分裂をもつて増殖する像は注目すべきである。この際血管周囲より細胞の増殖が起る証拠はない。異型結合織細胞は、Bp. 肉腫では血管と直接関係のない部位に現われるのである。従つて、Bp. 肉腫では腫瘍化が血管外膜細胞に起るとする木下らの考え方には賛成できない。

Bp. 油注射によつて局所に増殖する細胞は、線維芽細胞、組織球、組織肥胖細胞等である。組織肥胖細胞が Bp. の注射によつて局所に増加することは知られているが<sup>38)</sup>、この増殖は発癌の過程を通じて継続的に起るものではない。また、Bp. 肉腫の組織像からも組織肥胖細胞の腫瘍化を考慮すべき所見は認められない。従つて、腫瘍細胞の母細胞は線維芽細胞または組織球、或いはその両者に求められねばならないことになる。しかし、腫瘍細胞の発生過程を詳細に追求すると、次の3つの点が特に注目される。(1) 腫瘍化したと見なされる大型異型細胞は長い突起をもつ細胞であり、形態学的に線維芽細胞と一致する。(2) 腫瘍化が起るまでの線維芽細胞と組織球の増殖の態度をみると、前者は常に増殖性であるが、後者は Bp. の貪食が前景に立っている。即ち、組織球は Bp. 油注射の早期から Bp. 油の周囲に小型単核細胞として出現し、Bp. 油を貪食する。次いで線維芽細胞が Bp. 油表面に進出してくると、組織球は油胞の周辺に後退するが、そこでも盛んな Bp. の貪食を行なつている。同時にこれらの細胞には胞体の崩壊を示すものが多く現われてくる。Bp. 油を貪食した組織球が集在する部位の外周には組織球の増殖が認められるが、この組織球もまた次第に Bp. 油を貪食し、崩壊してゆくのである。即ち、組織球は Bp. 油注射によつて増殖と Bp. 油の貪食をくり返しつつ次第に崩壊し、持続的な細胞の増殖は認められない。(3) 腫瘍細胞が出現するのは常に油胞に近接した肉芽組織であり、ここでは線維芽細胞の活潑な増殖は認められるが、組織球は、この部位では常に多量の

Bp. を貪食し崩壊の傾向を示している。このような Bp. 油を飽食した組織球が腫瘍化するとは考え難い。

以上の根拠によつて、腫瘍細胞は線維芽細胞を母細胞として発生すると考えられる。

## 2) Bp. 肉腫の構成細胞

Bp. 肉腫には光顕的には大型紡錘形細胞、小型紡錘形細胞、網状細胞、巨細胞等の4型の細胞が見られる。腫瘍組織の大部分を構成するのは大型紡錘形細胞であり、他の形態を示す細胞との間に移行する像を認めることのできるものである。一般的な見方をすればこれら各型の肉腫細胞は、腫瘍細胞の多少の大小不同及び多型性の概念に含まれるものと見なしてもよいであろう。

網状細胞は比較的集団をなし、大型紡錘形細胞と入り乱れて存在することはない。これらの細胞は一般に短い突起を有し、やや網状に配列する傾向を有しているが、非定型的な部分では胞体の突起は顕著でなく、遊離状の細胞集団をなしている。腫瘍組織内における好銀線維の形成は、紡錘形細胞の多い部分では比較的良好であるが、短い突起を有する網状細胞間には少なく、更に個々遊離状の細胞集団の中では更に乏しい。網状細胞の集団の辺縁部に存する細胞では、次第に網状細胞の形態的特徴は失われ、大型紡錘形細胞との区別が困難になる。

網状細胞の集団は形態的に分化型細網肉腫<sup>12)</sup>の像に類似するところがあるように見られる。即ち、短い突起を有する網状細胞は幾分網状型に、非定型的な部は組織球型細網肉腫の像に類似すると見られないことはない。

以上の如く、Bp. 肉腫は光顕的に大部分は紡錘形細胞によつて構成されているが、一部には細網状の細胞が混在しているわけである。これは細胞の微細構造からいかに説明されるかを更に考察したい。

Bp. 肉腫細胞は、一般の腫瘍細胞と同じく、細胞質の構造が全般に単純となつている<sup>9)</sup>のみならず、個々の細胞によつて、また1個の細胞内でも部位によつて細胞小器官の量や配列に甚しい差異が見られ、これが腫瘍細胞の一つの形態学的特徴ともいえるのである。この論文では、肉腫細胞の小器官の内、比較的良好に認められる小胞体の形態を指標にして、肉腫細胞を4つの基本的な型に大別したのである。これらの4型が腫瘍に出現する頻度は表2に示す通りである。

A型細胞に共通する特徴は、細胞質に滑面小胞体に比し粗面小胞体が遙かに多く存在することである。この型の細胞は、腫瘍細胞中最も多く認められる(表2)。

一般に粗面小胞体は、分泌性の蛋白合成能の盛んな細胞によく発達している小器官である<sup>16)30)74)</sup>、結合織細胞の中では、粗面小胞体の優勢な発育は線維芽細胞の重要な特徴とされており<sup>16)29)60)64)</sup>、これはコラーゲン産生と関係のある形態であることがほぼ明らかにされている<sup>18)29)30)32)</sup>。胎生期の線維芽細胞では、粗面小胞体は細管状で数は少なく、細胞基質内に多数の遊離状の RNP 粒子が散在している。細胞の機能亢進と共に小胞体は増加し、しばしば平行に並ぶ傾向がある。小胞体は互に吻合し、遂に嚢状の形態へ変化する<sup>50)</sup>。

拡大した粗面小胞体の内には、しばしば約50Åの直径をもつ微細な線維状物が認められることが報告されている<sup>16)29)54)</sup>。この線維状物質の少なくとも一部は合成されたコラーゲンと考えられている<sup>29)30)54)16)</sup>。

A型細胞では、粗面小胞体の形はかなり様々である。細短管状のものが多く、比較的良好に発育した部分では、互に平行に並ぶ傾向を示し、時々嚢状に拡大したものも存在する。内腔の拡大した小胞体の内部には、電子密度のやや高い無構造な物質が存在し、幅50~70Åの線維状物質が認められるものがある。この線維状物は、上述の線維芽細胞の粗面小胞体内に見出されているものと形態学的には同一のものと見なされる。

線維芽細胞の他の特徴として、細胞基質、特に細胞質周辺部に幅100Å以下の線維状物を混ざる電子密度の高い不定形の物質が混在することが記載されている。この物質は細胞内で合成されたコラーゲンの前駆物質と考えている人が多い<sup>17)30)60)74)</sup>。

Bp. 肉腫細胞においても、細胞質の周辺部に幅40~100Åの線維状物を含んだ電子密度のやや高い不定形の物質が認められることがある。この物質の存在のため、細胞膜は不明瞭となり、線維状物質は、細胞表面に認められる微細な線維状物質を含んだ不定形の物質と連続しているように見える。このような像も線維芽細胞において報告されている像に一致する<sup>29)</sup>。

以上の考察より、A型細胞は、線維芽細胞の特徴とされる所見に類似した構造をもっているといえることができる。

B型細胞の一つの形態学的特徴は、細胞質に滑面小胞体が多数に認められることである。これに反して、粗面小胞体の数は少なく、殊に嚢状に拡大したものを認めることはできない、この型の細胞の出現頻度はA型細胞より遙かに少ない(表2)。

B型細胞のこの形態学的特徴は、結合織細胞のうち組織球の構造に最も類似している<sup>29)30)</sup>。組織球は滑面小胞体の発育良好なこと、粗面小胞体が少ないことが

特徴とされているからである。梶川ら<sup>29)</sup>は組織球の他の特徴として、特徴顆粒の存在を強調している。この顆粒は、0.3~0.5μの直径をもつ円形または楕円形の顆粒で、一重の限界膜でつまれた電子密度の高い等質性の内容をもっている。この顆粒は、まれに、線維芽細胞にも認められるが、組織球では遙かに多く認められるので、梶川らはこれを **Histiocyte granules** (H顆粒) と称した<sup>29)</sup>。B型細胞においても同様な形態をもつ顆粒がしばしば認められる。

これらの所見から、B型細胞は組織球に極めて類似した特徴を備えているといえることができる。

C型細胞は、粗面小胞体も滑面小胞体も比較的良好に形成され、数の上ではそのいずれが優勢かを判定し難い細胞である。粗面小胞体の形成は比較的良好であるにも拘らず、層状の配列や相互の吻合に乏しいのが特徴的である。所々、粗面小胞体の拡大が認められるが、その内部に線維状物質は認められない。また、細胞基質内にも線維状物質は見出されない。一方、滑面小胞体の発育も良好であり、いわゆるH顆粒に一致する顆粒成分も時に認められる。

このような形態をもつ細胞をいかに解するかは困難な問題である。細胞小器官の形態からはかなりよく分化した細胞と見なすべきであろう。線維芽細胞では、増加した小胞体は常に吻合した網状を形成し、これは、コラーゲンの分泌機構と密接に結びついた形態学的表現と見なされている<sup>10)30)31)32)</sup>。C型細胞において比較的多くの粗面小胞体が存在するにも拘らず、相互の吻合が認められない点は、コラーゲン合成細胞ではないという可能性が大きい。構造上は、リンパ節に認められる細網細胞の形態に類似している点もある<sup>41)</sup>。組織球と細網細胞は同一種類の細胞に属するという見解<sup>19)</sup>に従えば、C型細胞はむしろ、組織球の特殊な機能相を表現している細胞と考えられる。

D型細胞は、構造が極めて単純で、細胞小器官は全体に乏しいか、または殆んど存在せず、細胞基質の内には多数の RNP 粒子が散在している細胞である。細胞には特徴的な構造物がないため、線維芽細胞、組織球のいずれにも類似を求めることができないもので、未分化な間葉系の細胞というほかはない。しかし、この細胞の中に、極く少数の粗面小胞体または滑面小胞体が出現するものがあり、前述のA型及びB型の細胞との間にあらゆる移行を認めることができる。従って、この型の細胞は、A型及びB型に分化し得る能力を秘めた、肉腫細胞中では最も未分化な形態を示す細胞と考えることができる。

以上の如く、電顕的にはBp. 肉腫を構成する細胞は

単一ではなく、線維芽細胞に類似するものと、組織球に類似するものが存在する。そして、この両者の細胞に様々な分化の過程が見られるのである。光顕的に予想された如く、腫瘍細胞の大部分は、線維芽細胞類似の細胞であることは電顕的にも証明されたが、光顕的な紡錘形細胞の中に、組織球類似の微細構造をもつ細胞も含まれている可能性は否定できない。光顕的に組織球性または細網細胞性と考えられた細胞の大部分は恐らく、電顕的に見られたB型に相当するのではないかと推定される。

Bp. 肉腫の構成細胞の大部分が微細構造の上からも、線維芽細胞に類似した細胞であるという意味で、この肉腫を「線維形成肉腫」の範疇に入れてもよいであろう。しかし、少数ながら同時に存在する組織球型の腫瘍細胞はいかに解釈すべきであろうか。

第一の可能性は、元来線維芽細胞と組織球とは同一種類の細胞の機能相の差にすぎないという考え方<sup>61)</sup>に立脚する。線維芽細胞と組織球は互に自由に移行し得るという考え方によれば、腫瘍化した場合もある場合は線維芽細胞、ある場合は組織球に類似した形態をとり得るのは当然と考えられるのである。しかし、間葉細胞が線維芽細胞、または組織球と同定し得るまで分化した段階において、両者の間に自由な移行が存在するという仮説は甚だ疑問である。微細構造の上からも両者の移行は確認されていない<sup>60)</sup>。

第二の可能性は、肉芽組織を構成する線維芽細胞と組織球の双方に腫瘍化がおこり、肉腫細胞内にもこの2種類の細胞の系列が現われるという考え方がある。しかし、既述の如く、腫瘍の発生過程の光顕的観察では、組織球が腫瘍細胞化するという根拠は見出されていない。

従つて、Bp. によつて「未分化な間葉細胞」が発生し、一方では線維芽細胞、他方では組織球への分化がおこるといふ考え方が最も可能性が大きいと思われる。

電顕的に「未分化な間葉細胞」と見なされる細胞(D型)が認められ、この細胞と線維芽細胞類似の細胞(A型)、組織球類似の細胞(B型)との間にあらゆる移行が存在することはこの考え方を支持するものである。

出現する腫瘍細胞の大部分が線維芽細胞に類似するA型であることは、「未分化な間葉細胞」の分化の方向が、線維芽細胞の方向に指向されていることを示している。

光顕的には、線維芽細胞が腫瘍化するという証拠が得られているので、ここに見られる「未分化な間葉細胞」とは線維芽細胞の「退形成」によつて生じたもの

と考えられるのである。

### 3) Bp. の結合織細胞に及ぼす作用

光顕的な観察によれば、腫瘍化がおこる第一段階は持続的な結合織細胞の増殖にあると思われる。この原因の一つの可能性は、Bp. による組織障害に求めることができる。実験群では対照群に比し初期の滲出性変化が強い。これは主としてBp. が小血管の拡張を促し、血管内皮を強く障害することによると考えられる<sup>19)85)</sup>。滲出性変化が著しければ当然組織障害は高度となり、修復反応としての結合織細胞の増加も増強されるわけである。また、Bp. が直接組織に壊死をおこすことも知られている<sup>8)42)</sup>。結合織細胞の増殖はこの壊死に対する反応と解する人もある<sup>73)</sup>。しかし、著者の実験では、Bp. 油が対照群に比し特に強い壊死をおこすという証拠は得られなかつた。これは恐らくBp. の濃度に関係するものであろう<sup>8)42)</sup>。

結合織細胞の増殖を促す原因の他の可能性は、Bp. が細胞に直接増殖性の効果をもっていることである。Hamperl<sup>19)</sup>はBp. が上皮細胞の増殖を促す作用があることを報告している。Mauer<sup>42)</sup>は、濃度の低いBp. を培養した線維芽細胞に作用させた場合、細胞は急性障害を免かれ、異常な核分裂障害が現われることを観察している。

著者の観察においても、持続的な結合織細胞の増殖は、単なる遷延した修復反応とは見なし難く、Bp. が結合織細胞に直接増殖性の作用を与えていているという印象が与えられた。Bp. は組織に作用した場合、非常に長期間局所に止まることが知られている<sup>79)</sup>。肉腫の発生においては、局所に長く止まつたBp. が腫瘍化に必要な細胞障害を与えるものであろう。しかし、組織球の如く、多量のBp. 油を貪食する細胞は、Bp. の細胞質内の濃度が高くなり、却つて細胞壊死に導かれるが、線維芽細胞の如く、多量のBp. 油を摂取しない細胞は、腫瘍化に至る適な低い濃度のBp. が作用することになり、遂に腫瘍化に至るものと考えられる。

要するに、腫瘍発生の過程は次のようにまとめられる。Bp. が結合織細胞の増殖を促し、そのうち線維芽細胞に腫瘍化をおこさせ、肉腫細胞が発生する。肉腫細胞の大部分は、母細胞である線維芽細胞に類似した形の細胞に分化するが、退形成の著しいものでは、この分化の方向が不安定となり、組織球類似の細胞にも分化すると解釈される。

### 4) Bp. 肉腫の線維形成

Bp. 肉腫の構成細胞の大部分は線維芽細胞に類似した微細構造を示すので、この肉腫細胞と線維形成能の関係について考察したい。

**Bp.** 肉腫の細胞間の線維を電顕的に観察すると、一般に線維が細いことが特徴で、直径  $450 \text{ \AA}$  以上の太い線維は殆んど認められない。しかし、個々の線維は定型的な  $640 \text{ \AA}$  の周期性横紋を示し、各周期には  $6 \sim 7$  本の **substriation** を認めることができる。このように肉腫の細胞間には細い膠原線維が多く認められることは、光顕的に肉腫内では主として好銀線維が見られ、いわゆる膠原化した線維が極めて乏しい像に対応するものである。

一般に膠原線維は線維芽細胞内で合成されたコラーゲンが細胞外に分泌され、細胞外で重合することによって形成されると信じられている<sup>29)31)38)59)</sup>。この重合は様々な物理化学的条件によつて左右されることが **in vitro** の実験から推定されている<sup>47)</sup>。特に、酸性ムコ多糖体の存在が重要視されている<sup>26)</sup>。この物質は少なくともその一部は、線維芽細胞によつて合成されると考えられている<sup>11)17)31)37)</sup>。

コラーゲンの合成及び分泌には線維芽細胞の粗面小胞体が密接な関係をもっているという主張には多くの証拠があげられている<sup>16)29)30)32)40)</sup>。

コラーゲンは線維芽細胞内で **RNP** 粒子の参加のもとに合成され、粗面小胞体内に蓄積されると考えられ、粗面小胞体の発育はコラーゲン合成能の活潑なことを示す指標と見なされている<sup>18)29)30)32)</sup>。合成されたコラーゲンは小胞体の開口により<sup>16)29)30)32)</sup>、一部は細胞基質を通過して<sup>29)30)31)</sup>細胞外に分泌されると考えられている。

**Bp.** 肉腫細胞では、粗面小胞体の発育は良好でなく、小胞膜に付着する **RNP** 粒子も不規則で且つ乏しい。殊に小胞体相互の吻合が少ない。この所見はコラーゲン産生が不良であることを強く暗示している。

酸性ムコ多糖体が線維芽細胞内で合成されることを暗示する 2, 3 の研究があるが<sup>11)21)37)</sup>、この物質の合成に関与する細胞小器官や、その分泌機序に関する知見は未だ乏しい。一部の学者は粗面小胞体が関係していると推定している<sup>17)30)</sup>。この考えが正しければ、**Bp.** 肉腫細胞では、酸性ムコ多糖体の産生もまた低下しているということができよう。

**Hayashi** ら<sup>21)</sup>は皮下の線維細胞、肉芽組織の線維芽細胞及び実験的線維肉腫について、**S<sup>35</sup>** の取りこみを比較した結果線維芽細胞では、**S<sup>35</sup>** の取りこみが旺盛であるのに反し、肉腫細胞では極めて乏しいことを報告している。この所見は、肉腫細胞においては、酸性ムコ多糖体の産生が障害されていることを暗示している。**Hayashi** らは肉腫細胞間に線維が乏しい理由として、肉腫細胞の酸性ムコ多糖体の産生が低下している

点を強調している。

線維芽細胞の機能亢進時には、上述の粗面小胞体のほか、糸粒体やゴルジ体にも一定の変化がおこることが知られている<sup>50)</sup>。糸粒体は数を増加し、その基質の電子密度は高い。しかし、粗面小胞体が著しく拡大する頃には糸粒体は腫大を示すようになる。ゴルジ体は粗面小胞体の増加と共に大きくなり、特にゴルジ顆粒の増加が目立つ。しばしば粗面小胞体は、ゴルジ小胞を介してゴルジ膜と連絡している像が報告されている。この像は、粗面小胞体の内容がゴルジ体によつて何らかの付加または加工が行なわれるという主張の根拠になつている<sup>12)14)71)</sup>。これらの所見は線維芽細胞の機能が亢進するときは、各小器官の形態が一定の関係を保つて変化することを示している。

**Bp.** 肉腫では、糸粒体の数は一般に少なく、基質の電子密度の低下、縞の変形を認める。しかし、糸粒体のこのような変化は、他の多くの腫瘍細胞についても認められていることである<sup>5)15)66)68)</sup>。また、ゴルジ体についても、**Bp.** 肉腫では一般に発育が悪い。腫瘍細胞一般についてはゴルジ体の形態は報告者によつて一定してはいないが<sup>5)12)</sup>、ゴルジ体の増加は細胞の機能亢進を意味し、減少は低下を示すと考えられている<sup>12)23)68)</sup>。**Bp.** 肉腫細胞における糸粒体、ゴルジ体の変化もまた、細胞の機能の低下を暗示するものということができよう。

肉腫細胞間において太い膠原線維が形成されない原因の一つは、以上考察したように、腫瘍細胞の線維形成に必要な素材の産生の低下にあると考えられる。

## 〔II〕 **Bp.** 肉腫の血管系

一般に間葉性腫瘍における実質と間質の区別は困難なことが多く、肉腫では腫瘍細胞自身が血管の内壁を構成していることがあることは既に注目されている<sup>6)24)</sup>。吉田及びその門下によつて行なわれた悪性腫瘍の間質に関する研究は<sup>33)65)75)77)78)</sup>、腫瘍の血管の形態について独得な見解を示したものととして注目される。加藤系家兎肉腫及びトリウム肉腫において、吉田ら<sup>77)</sup>は肉腫の固有間質と見なされるものは、特殊な形態を示す血路（または網状血路）以外にないと結論した。

この血路の内壁は肉腫細胞によつて被われ、基底膜、弾力線維を欠き、内膜、中膜、外膜の構造が識別されないことが形態学的特徴とされる。従つて血路は血管というよりはむしろ出血と称すべき形態を示すものであるが、機能的には血管の如く肉腫を栄養する血流路であるとされる。しかし血管としての構造を欠くため、血路は容易に破綻し腫瘍の壊死を招来すると考えられている。

Bp. 肉腫の辺縁部では、少数の細血管が認められる。この血管は光顕的には周囲の皮下結合織の細血管と連続していることが確認され、電顕的には、従来報告されている毛細血管の構造<sup>3)39)45)55)56)57)</sup>と全く同一である。Bennet ら<sup>39)</sup>の分類に従えば **Capillary type A** に相当する。この血管はその構造と所在から見て、腫瘍発生前の肉芽組織内に存在していた血管の延長と解せられる。

肉腫の中心部には所々毛細血管様の細血管が認められるが、腔の輪廓が不整で、壁は薄く、血管内皮の確認はしばしば困難であり、いわゆる **Gefässpalte**<sup>24)</sup>とも見られる構造をもっているものが多い。しかし、このような毛細血管は非常に小さいこと及び壊死を伴なっていない点で、類洞血管とは区別される。恐らく、既存の肉芽組織の血管に由来するいわゆる偶然間質<sup>27)</sup>に属するものと思われる。この血管が時々腫瘍辺縁の毛細血管と連続していることはこの推定を支持する。この血管系が肉腫の栄養血管の一つであることは疑いない。

Bp. 肉腫に認められる今一つの血管系は類洞血管である。この血管系は常に壊死巣の周辺に発生することが一つの特徴である。壊死の原因は明らかでないが、恐らく腫瘍の栄養障害によるものであろう。壊死の周辺にはしばしば出血が伴なわれる。類洞血管の発生を追求すると、この出血によつて腫瘍組織が変性融解し、かくして生じた空隙が即ち類洞血管を形成することが明らかに認められる。従つてその構造上、正常の血管と異なつた幾つの特徴をもっている。第一の特徴は、この血管内壁を構成する細胞は微細構造上正常毛細血管ではなく、明らかに腫瘍細胞自体であることである。即ちこの細胞には細胞基質に遊離状の **RNP** 粒子が多く、粗面小胞体に富み、時々特殊顆粒が認められる点は肉腫の **A** 型細胞と同一の構造と見なされる。更にこの細胞には基底膜がなく、膠原線維と直接に接している。第二の特徴は、この血管はしばしば内壁の細胞を欠き太い好好銀線維によつて境され、しかも弾力線維や筋層は全く認められないことである。これらの構造上の特徴は類洞血管が正常の血管と全く別種の血管系であることを明確に証明している。

以上の類洞血管の発生と構造は吉田らの肉腫における血路のそれと極めて類似したものと考えられる。

連続切片の観察によつて明らかな如く、類洞血管は次第に拡大、吻合し、腫瘍のかなり広い範囲を占めるが、そこには他の血管系が認められないので、類洞血管が肉腫の重要な血流路を形成していると考えられる。類洞血管は、上述の如く、腫瘍の壊死による出血

を土台として發育した脈管と考えられるが、このような構造を形成することによつて、出血の拡大を阻止し一方、肉腫内の血流を保持しようとする一つの反応であると解釈される。血流に面した細胞は内皮細胞の如く扁平化するが、電顕的にはあくまで、線維芽細胞類似の腫瘍細胞の構造を保持している事実は、結合織細胞は血管内皮に転化し得ない独自の分化過程をもつ細胞であることを強く暗示している。

## 結 論

マウスの3:4-ベンツピレン肉腫の発生と形態について光学顕微鏡的並びに電子顕微鏡的観察を行ない、以下の結論を得た。

1. 肉腫細胞は線維芽細胞の腫瘍化によつて発生する。組織球が腫瘍化する所見は得られなかつた。
2. 電顕的には腫瘍細胞の大部分は線維芽細胞類似の微細構造を示すが、未分化な間葉細胞及び組織球に類似した腫瘍細胞が混在する。この所見は、線維芽細胞の退形成によつて未分化の間葉細胞が生じ、その一部が組織球類似の細胞に分化したものと解釈される。
3. 腫瘍細胞の細胞質は、細胞小器官の減少、不規則な配列、遊離状 **RNP** 粒子の増加によつて特徴づけられる。
4. 腫瘍間質の膠原線維は腫瘍細胞のうち、線維芽細胞類似の微細構造を示す肉腫細胞によつて形成されると考えられる。この意味では、ベンツピレン肉腫は「線維形成肉腫」の範疇に入れうるものである。
5. 肉腫組織内では一般に太い膠原線維の形成が乏しい。その理由の一つは、肉腫細胞の線維形成能が障害されているためと考える。
6. ベンツピレン肉腫には形態の異なつた2種類の血管が存在する。一つは正常構造を有する毛細血管である。他の一つは出血を土台として形成される血管様の形態で、その内壁は肉腫細胞自体によつて構成されている。

(稿を終るに当り、御指導と御校閲を賜りました恩師、渡辺四郎教授、堀川欽一郎助教授に心から感謝致します。なお、研究の遂行に際して少なからず御助言、御協力を頂きました先輩、第一病理学教室員各位並びに電子顕微鏡室技術員の方々にも厚く御礼申し上げます。)

## 文 献

- 1) 赤崎兼義：病理学雑誌，2，483 (1943)。
- 2) 赤崎兼義：日病会誌，41，1 (1952)。
- 3) Bennet, H. S., Luft, J. H., & Hampton, J. C. : Am. J. Physiol., 196, 381 (1959)。
- 4) Berenblum, I. : Ciba Found. Symp. on Car-

- cinogenesis (1959). 5) Bernhard, W. : *Cancer Res.*, 18, 491 (1958). 6) Borst, M. : *Beitr. Path. Anat.*, 39, 507 (1906).
- 7) Brock, N., Druckrey, H., u. Hamperl, H. : *Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol.*, 189, 709 (1938). 8) Brock, N., Druckrey, H., u. Hamperl, H. : *Arch. Klin. Chir.*, 194, 250 (1939). 9) Chalmers, J. & Peacock, P. R. : *Biochem. J.*, 30, 1242 (1936).
- 10) Chapman, J. A. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 9, 639 (1961). 11) Curran, R. C. & Kennedy, J. S. : *Nature*, 175, 435 (1955). 12) Dalton, A. J. : *The Cell*, 2, Acad. Press, N. Y., 603 (1960). 13) DeDuve, C. : *Lysosomes, a new groups of cytoplasmic particles*, Ronald Press, 128 (1959). 14) Farquhar, M. G., & Wellings, S. R. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 3, 319 (1957).
- 15) Fawcett, D. W. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 2, 275 (1956). 16) Giesecking, R. : *Verh. dtsch. Ges. Path.*, 43, 56 (1959). 17) Godman, G. C., & Porter, K. R. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 8, 719 (1960).
- 18) Haguenau, F. & Hollman, K. H. : *Biological Structure and Function*, 1, Acad. Press, N.Y., 169 (1961). 19) Hamperl, H., Graffi, A., u. Langer, E. : *Z. Krebsforsch.*, 52, 133 (1942). 20) 林 輝昭 : *日病会誌*, 48, 1694 (1959). 21) Hayashi, Y., & Kasuga, T. : *Gann*, 51, 174 (1960).
- 22) Herzog, G. : *Klin. Wsch.*, 2, 684 (1923). 23) Howatson, A. F., & Ham, A. W. : *Cancer Res.*, 15, 62 (1955). 24) Hueck, W. : *Beitr. Path. Anat.*, 103, 308 (1939). 25) Huxley, H. E. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 3, 631 (1957). 26) 梶川欽一郎 : *十全会誌*, 59, 277 (1957). 27) Kajikawa, K. : *Acta Path. Jap.*, 9, Suppl., 791 (1959).
- 28) Kajikawa, K., & Hirono, R. : *J. Electronmicrosc.*, 8, 50 (1960). 29) Kajikawa, K. : *J. Electronmicrosc.*, 10, 131 (1961).
- 30) 梶川欽一郎 : *最新医学*, 17, 1047 (1962). 31) 梶川欽一郎 : *第14回日本気管食道科学会特別講演(金沢)* (1962). 32) Karrer, H. E. : *J. Ultrastruct. Res.*, 4, 420 (1960). 33) 金 暢權 : *東北医誌*, 37, 1 (1948). 34) 木下良順・森上修三・高橋信一・滝口勇吉・渡辺六郎 : *癌*, 37, 303 (1943). 35) Kreyberg, L. : *Virchows Arch.*, 273, 367 (1929).
- 36) Lawn, A. M. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 7, 197 (1960). 37) Layton, L. L. : *Cancer*, 3, 725 (1950). 38) Lennert, K. : *Frankfurt. Zschr.*, 70, 121 (1959). 39) Leon, W. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 3, 607 (1957). 40) Lowther, D. A., Green, N. M., & Chapman, T. A. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 10, 373 (1961). 41) 松浦覚 : *神戸医大紀要*, 13, 137 (1958). 42) Mauer, G. : *Arch. Exp. Zellforsch.*, 21, 191 (1938).
- 43) Moore, D. H., & Ruska, H. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 3, 457 (1957). 44) Möllendorff, W. M. : *Z. Zellforsch.*, 3, 503 (1926). 45) Morelli, E. : *2. Internat. Krebskongr. (Brüssel)* (2) 44, 8 (1936).
- 46) 永島 勇 : *日病会誌*, 51, 200 (1962). 47) Nageotte, J. : *Am. J. Path.*, 6, 631 (1930). 48) Nordman, M., u. Bässler, R. : *Verh. dtsch. Ges. Path.*, 41, 320 (1958). 49) 奥野史朗 : *日病会誌*, 46, 329 (1957). 50) 奥野史朗・梶川欽一郎 : *日病会誌*, 50, 292 (1961). 51) 奥野史朗・梶川欽一郎 : *日病会誌*, 51, 436 (1962). 52) Oota, K., & Takahama, M. : *J. Electronmicrosc.*, 11, 85 (1962). 53) Palade, G. E. : *J. Exper. Med.*, 95, 285 (1952). 54) Palade, G. E. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 2, 417 (1956).
- 55) Palade, G. E. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 2, Suppl., 85 (1956). 56) Parker, F. : *Am. J. Anat.*, 103, 247 (1958). 57) Pearse, D. C., Molinari, S., & Kershaw, T. : *Anat. Rec.*, 130, 355 (1958). 58) Policard, A., Collet, A., & Pregermain, S. : *Bull. Microscopie Appl., Sèrie 2*, 7, 73 (1957). 59) Porter, K. R. : *Connective Tissue*, 2, Conf. Siosiah Macy Jr. Found. N. Y., 126 (1951). 60) Porter, K. R. & Pappas, G. D. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 5, 153 (1959). 61) Rohr, K. : *Verh. dtsch. Ges. Path.*, 37, 127 (1954). 62) Rondoni, P. : *Z. Krebsforsch.*, 47, 59 (1938). 63) Rose, G. G. : *J. Biophysic. Biochem. Cytol.*, 9, 472 (1961). 64) Ross, R., Bennditt,

- E. P. : J. Cell Biol., 12, 533 (1962). 65)  
 里見正義 : 癌, 35, 430 (1941). 66)  
 Schulz, H. : Verh. dtsch. Ges. Path., 41, 356  
 (1958). 67) Schürmann, P., u. Mac  
 Mahon, H. E. : Virchow's Arch., 291, 47 (19-  
 33). 68) Selby, C. C., & Berger, R.  
 E. : Cancer, 5, 770 (1952). 69) Sotelo,  
 J. R., & Porter, K. R. : J. Biophysic. Bio-  
 chem. Cytol., 5, 327 (1959). 70) 武田  
 正孝 : 十全会誌, 59, 311 (1957). 71)  
 Wellings, S. R., & Deome, K. B. : J. Bio-  
 physic. Biochem. Cytol., 9, 479 (1961).  
 72) Wischnitzer, S. : J. Ultrastruct. Res., 1,  
 201 (1958). 73) Wolbach, S. S. : Arch.  
 Path., 22, 279 (1936). 74) Yeardley, L.  
 H., Heaton, M. W., Gaines, M., & Shalman,  
 L. E. : Bull. Johns Hopkins Hosp., 106, 381  
 (1960). 75) 吉田富三・金 暢權 : 癌,  
 37, 343 (1943). 76) 吉田富三・鶴崎 宏 :  
 癌, 37, 404 (1943). 77) 吉田富三・島内  
 琢磨・鶴崎 宏・佐々木仁一 : 病理学雑誌, 3,  
 122 (1944). 78) 吉田富三 : 吉田肉腫,  
 寧楽書房, 9 (1949).

### Abstract

Male mice of the dd-N strain, weighing about 20 gm., were used in the present studies. The animals were given subcutaneous injections of 3:4-benzpyrene in 0.05% olive oil solution. Sarcoma occurred to about 84% of the animals. Histogenesis and morphology of the tumor were studied by light and electron-microscopy.

The observations of the sequence in the development of the tumor indicated that the tumor cells were derived from the proliferating fibroblasts. The evidence supporting the view that they might originate from histiocytes had not been obtained.

Many electron micrographs revealed that the tumor predominantly consisted of the similar cells to fibroblasts, but occasionally it was intermingled with immature mesenchymal cells and ones resembling histiocytes. This finding was interpreted as an expression of the differentiation of the tumor cells.

The cytoplasm of the tumor cell was characterized by the simplification of the cytoplasmic organelles and abundance of free RNP particles.

The extracellular spaces were filled with collagen fibrils, the majority of which were less than 450Å in diameter. Such a failure of fiber maturation seemed to result from the diminution in the ability of collagen production, as suggested by the simplification of the cytoplasmic structure. Because the fibrils were thought to be produced by the tumor cells, the tumor might be included in the "fibroblastic sarcoma."

In the stroma of the tumor two types of vascular system were observed; one was the blood capillary with usual endothelial cells, and the other composed of sinusoidal cavity covered with tumor cells. This type of the vascular system was considered to be formed because the bleeding areas in the tumor were surrounded by the tumor cells.

### 附写真略記号説明

Bm : 基底膜  
 CF : 膠原線維  
 Cm : 細胞膜  
 Dm : 電子密度のやや高い無構造な物質  
 Ec : 赤血球  
 Er : 小胞体  
 Err : 粗面小胞体

Ers : 滑面小胞体  
 Fs : 線維状構造物  
 G : ゴルジ体  
 Gg : ゴルジ小胞  
 Gl : ゴルジ膜  
 Gv : ゴルジ空胞  
 Hg : 特殊顆粒  
 IS : 細胞間隙  
 M : 糸粒体

MVB : multivesicular body  
 N : 核  
 No : 核小体  
 Np : 核膜小孔  
 Pg : Palade の顆粒 (RNP 粒子)

### 附 図 説 明

Fig. 1~Fig. 10, Fig. 22~Fig. 25 : 光顕写真  
 Fig. 11~Fig. 21, Fig. 26, Fig. 27 : 電顕写真  
 説明末尾の ( ) は注射後の日数を示す。

Fig. 1 : 腫瘍の矢状断面。(23週)。

Fig. 2 : 小皮標本, Bp. 油を容れた小胞 (Bp. 油胞) の形成。Eisenlack 染色, 100×, (2日)。

Fig. 3 : 小皮標本, 組織球による Bp. 油の包围及び貪食。Eisenlack 染色, 300×, (3日)。

Fig. 4 : 小皮標本, Bp. 油胞表面における線維芽細胞 (F) の増殖と組織球 (H) の Bp. 油貪食。Eisenlack 染色, 300×, (7日)。

Fig. 5 : 小皮標本, Bp. 油胞表面に増殖する大型異型線維芽細胞。核分裂像を ↓印で示す。Eisenlack 染色, 450×, (9週)。

Fig. 6 : パラフィン切片, Bp. 油胞壁及びその近傍に認められる大型異型細胞。H-E 染色, 300×, (10週)。

Fig. 7 : パラフィン切片, 大型紡錘形細胞及びこれに混在する小型紡錘形細胞。H-E 染色, 300×, (20週)。

Fig. 8 : パラフィン切片, Fig. 7 と同様部の腫瘍組織内好銀線維。鍍銀染色, 300×, (20週)。

Fig. 9 : パラフィン切片, Fig. 7 と同例の一部に認められる網状細胞。H-F 染色, 300×, (20週)。

Fig. 10 : パラフィン切片, Fig. 9 と同様部の腫瘍組織内好銀線維。鍍銀染色, 300×, (20週)。

Fig. 11 : 肉腫細胞 (D型)。細胞小器官は乏しく、多量の遊離状の RNP 粒子 (Pg) が認められる。26,000×, (23週)。

Fig. 12 : 写真の左及び左下に、細胞小器官の乏しい D型の肉腫細胞が認められ、中央に、比較的未分化な形態を示す B型肉腫細胞が見られる。少数の滑面小胞体が見られる。右下にやや分化した形態をもつ B型の肉腫細胞が存し、滑面小胞体及び特殊顆粒が多く認められる。22,000×, (24週)。

Fig. 13 : 右上に A型肉腫細胞の I型が見られる。細胞質には少数の細管状の粗面小胞体を有する。写真の中央に A型肉腫細胞の III型が見られる。細胞質は遊離状 RNP 粒子に富み、不規則な配列を示す細管状の

粗面小胞体が認められる。13,000×, (22週)。

Fig. 14 : A型肉腫細胞の II型。細管状の粗面小胞体は幾分平行に配列し、線維芽細胞に類似した微細構造を示す。1%過マンガン酸カリ染色, 35,000×, (20週)。

Fig. 15 : B型肉腫細胞のうち比較的分化した形態を有する細胞。細胞質に滑面小胞体が多く認められ、一重の限界膜で包まれた特殊顆粒 (Hg) が見られ、その形態は組織球に類似する。1%過マンガン酸カリ染色, 42,000×, (20週)。

Fig. 16 : C型肉腫細胞を示す。細胞質には管状の粗面小胞体及び円形の断面を示す滑面小胞体が比較的多く見られる。粗面小胞体の吻合はあまり認められない。1%過マンガン酸カリ染色, 36,000×, (20週)。

Fig. 17 : A型肉腫細胞の III型。粗面小胞体 (Err) の配列不整、数の減少と、拡大した小胞体の中及び一部細胞基質に電子密度のやや高い物質と共に線維状物が認められる。30,000×, (22週)。

Fig. 18 : A型肉腫細胞の III型。拡大した粗面小胞体内及び細胞質辺縁部に、電子密度のやや高い物質と共に線維状物が認められる。同様な物質及び線維状物は細胞外にも認められ、細胞膜は不明瞭となっている。1%過マンガン酸カリ及び 1%磷タングステン酸染色, 50,000×, (23週)。

Fig. 19 : 切片。肉腫細胞間の膠原線維。直径は殆んど 450Å 以下であるが、640Å の週期性横紋構造を認め、1週内に更に 6~7本の substriation が認められる。1%磷タングステン酸染色, 130,000× (24週)。

Fig. 20 : multivesicular body. 多数の小胞が一重の限界膜で包まれており、周囲にも内部と同様の小胞が見られる。1%過マンガン酸カリ染色, 50,000×, (23週)。

Fig. 21 : 肉腫細胞のゴルジ体。ゴルジ膜、ゴルジ空胞、ゴルジ小胞は互に移行する像が認められる。ゴルジ小胞の内部には微細な構造がうかがわれる。1%過マンガン酸カリ染色, 60,000×, (22週)。

Fig. 22 : パラフィン切片, 類洞血管の弱拡大像。上方は壊死巣。その外周に海綿状を呈する類洞血管が見られる。下方の円形の間隙は油胞。鍍銀染色, 100×, (24週)。

Fig. 23 : パラフィン切片, 類洞血管の一部強拡大像。島状の肉腫組織をとりまいて赤血球を満した腔が存在する。肉腫組織には血管の構造をしたものは、血液腔以外に見られない。類洞血管内壁は所々一層の細胞 (↓印) で被われている。Van Gieson 染色, 450×, (24週)。

**Fig. 24:** パラフィン切片, 類洞血管の形成過程. 小出血巣の多発によつて生じた血液腔が互に吻合して海綿状を呈するに至る. masson 染色, 300×, (19週).

**Fig. 25:** パラフィン切片, 類洞血管の形成過程. 被出血部の肉腫細胞及び細い好銀線維の消失, 血液腔の壁の好銀線維の肥厚によつて類洞血管の形態が完成する. 一部に血液腔内に露出する肉腫細胞が認められる. 鍍銀染色, 300×, (22週).

**Fig. 26:** 肉腫組織内の正常構造をもつた毛細血管. 細胞質に滑面小胞体 (Ers) が多く, 内皮細胞の外側には基底膜 (Bm) が認められる. 1%過マンガン酸カリ及び1%タングステン酸染色, 25,000×, (23週).

**Fig. 27:** 類洞血管内壁の一部. 内壁を被う一層の扁平な細胞の細胞質に粗面小胞体 (Err) が比較的多く認められ, 遊離状 RNP 粒子に富む. 細胞の外側に基底膜は認められず, 直接膠原線維束 (CF) と接している. 1%過マンガン酸カリ染色, 20,000×, (23週).

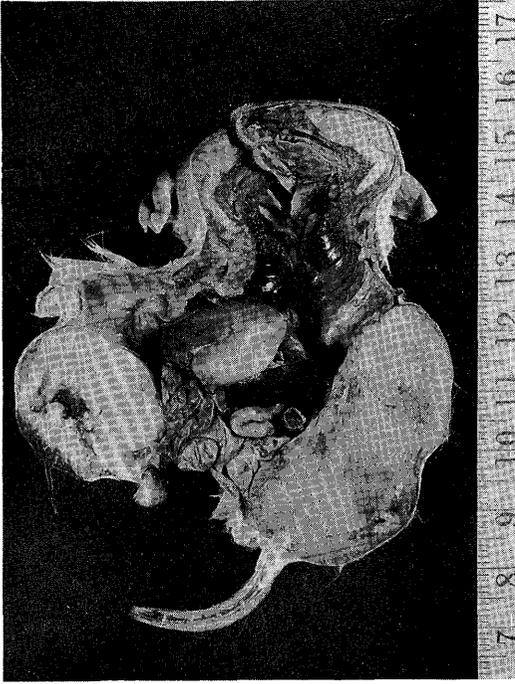


Fig. 1

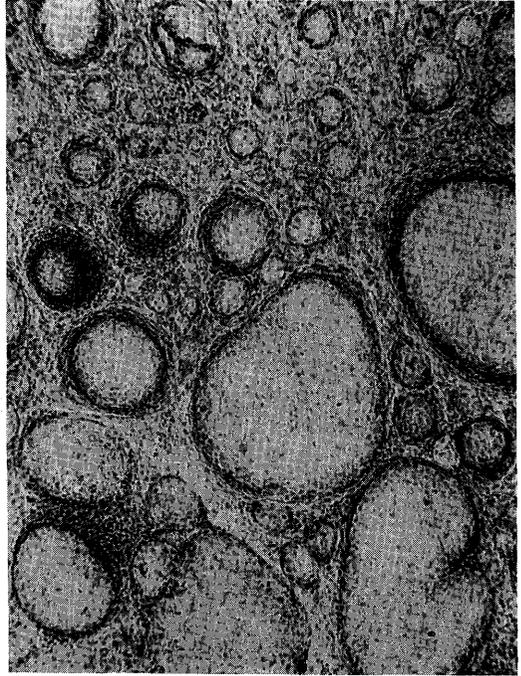


Fig. 2



Fig. 3

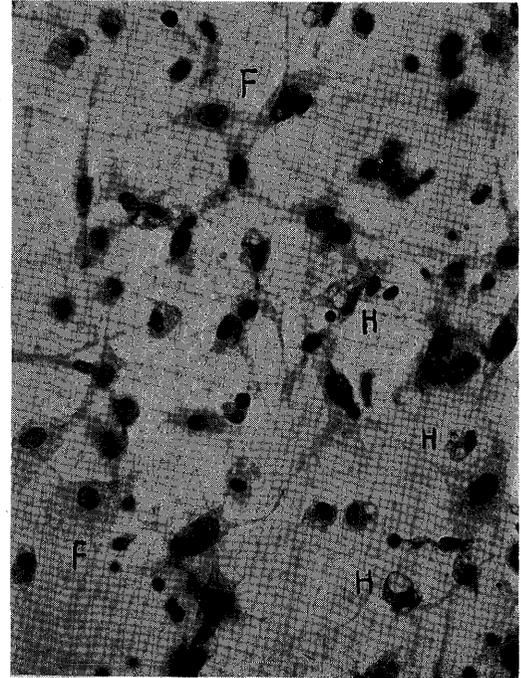


Fig. 4

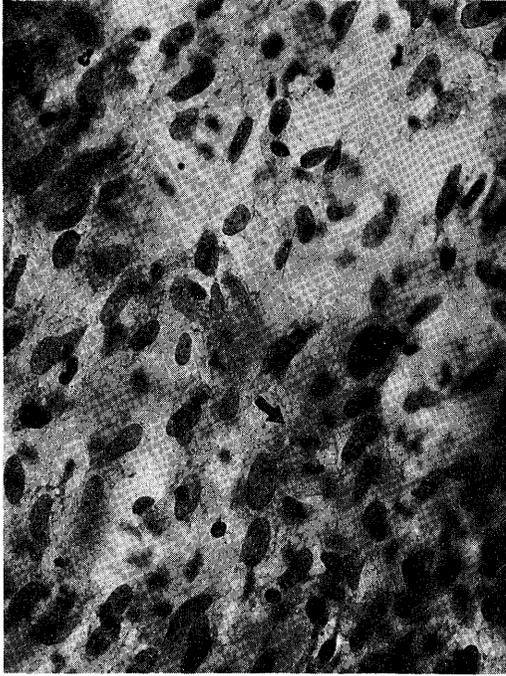


Fig. 5

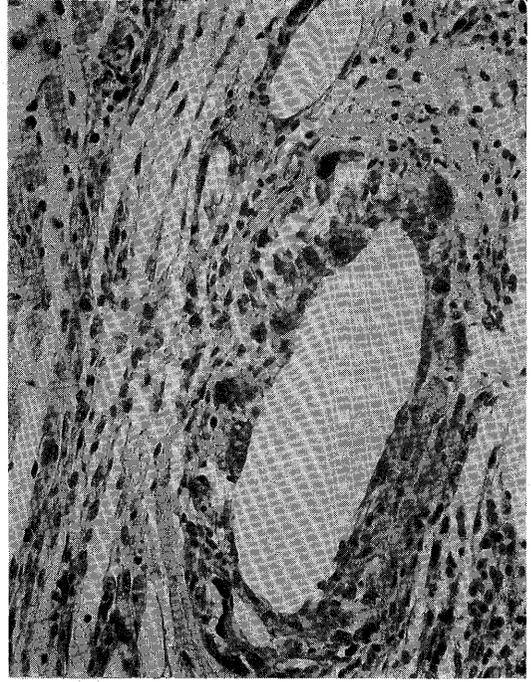


Fig. 6

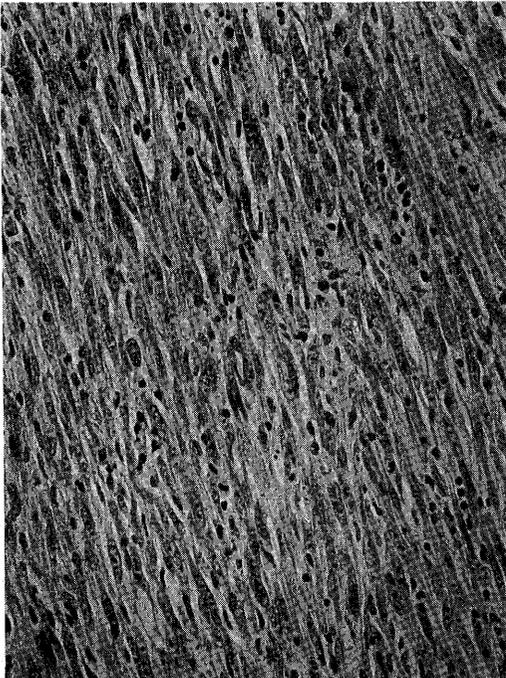


Fig. 7



Fig. 8

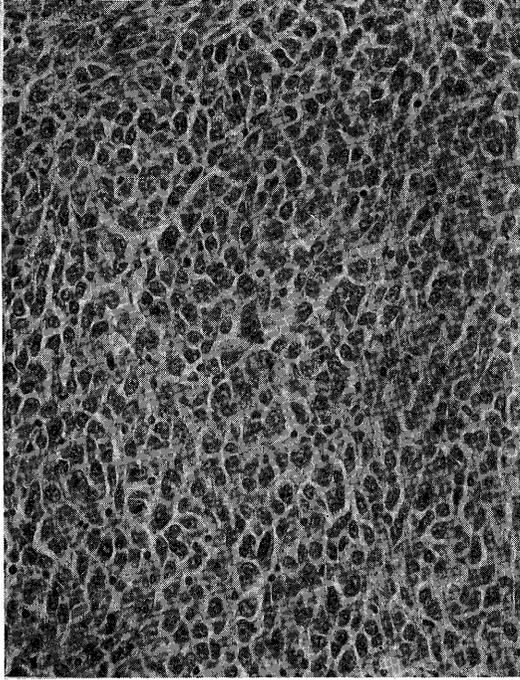


Fig. 9

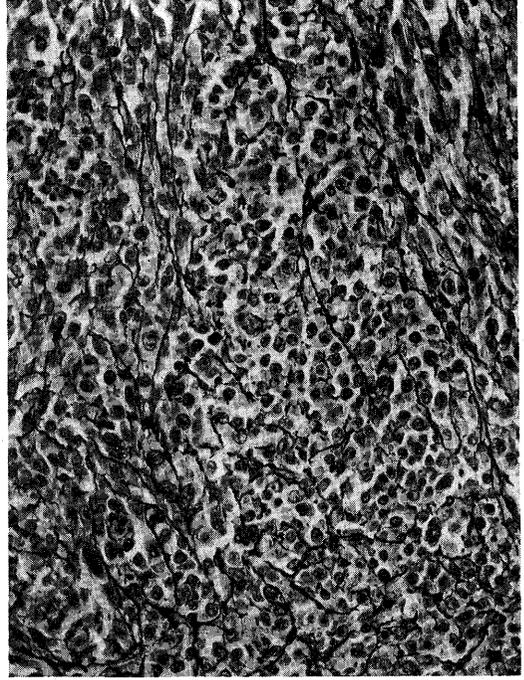


Fig. 10

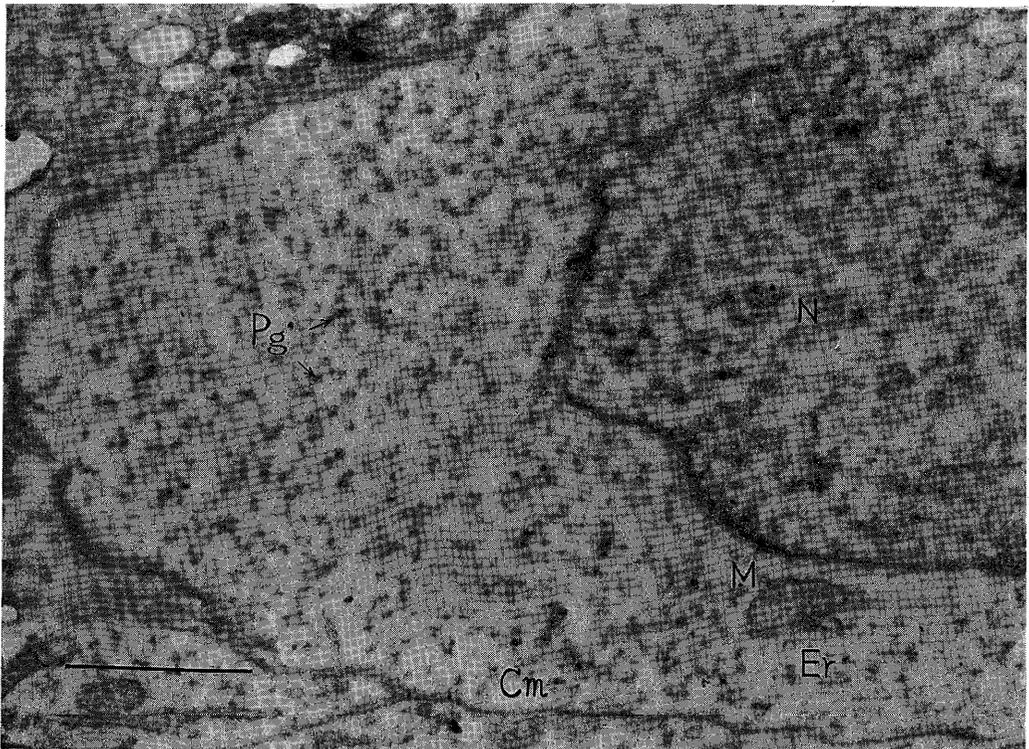


Fig. 11

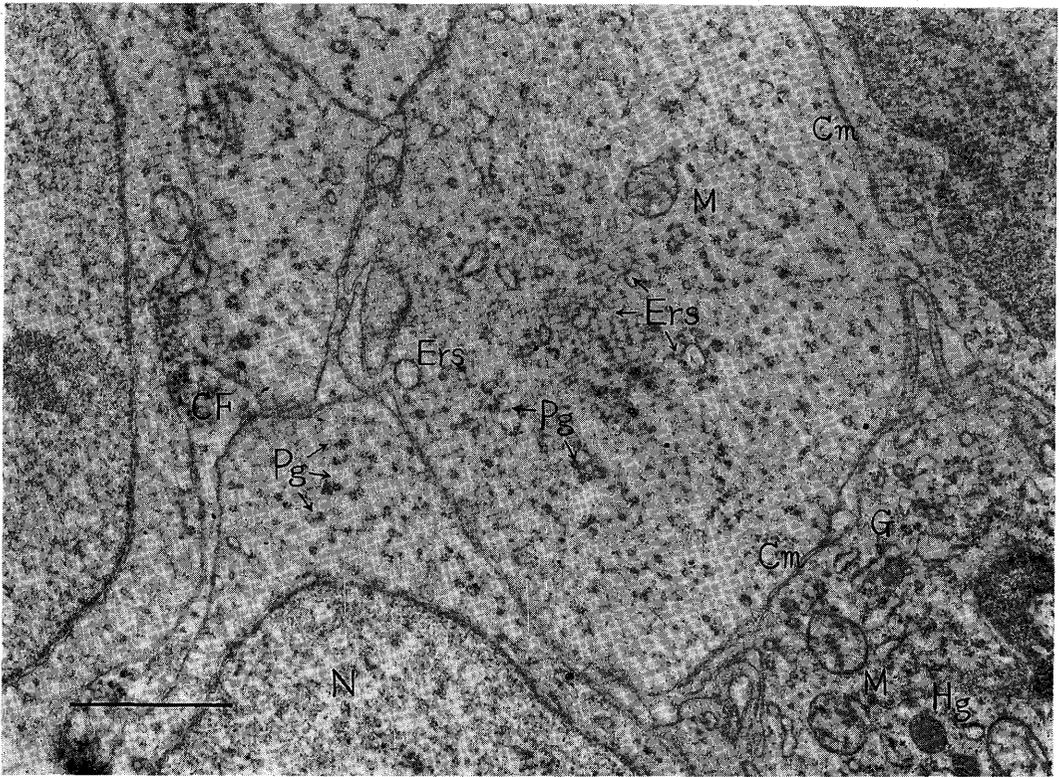


Fig. 12

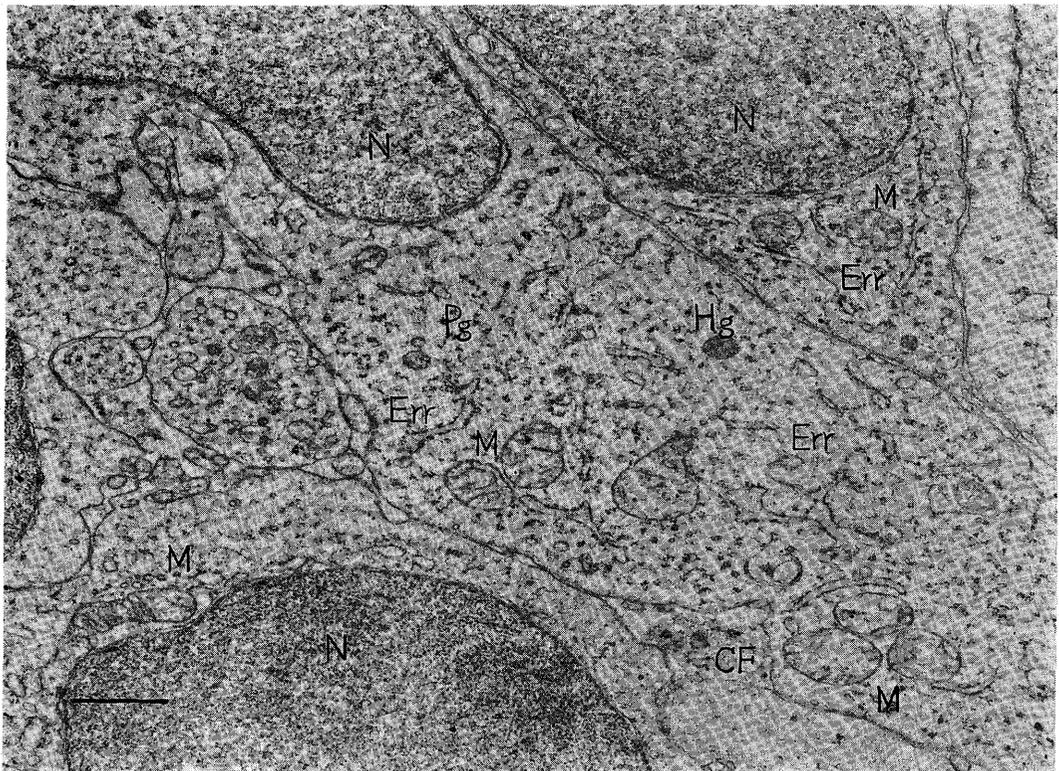


Fig. 13

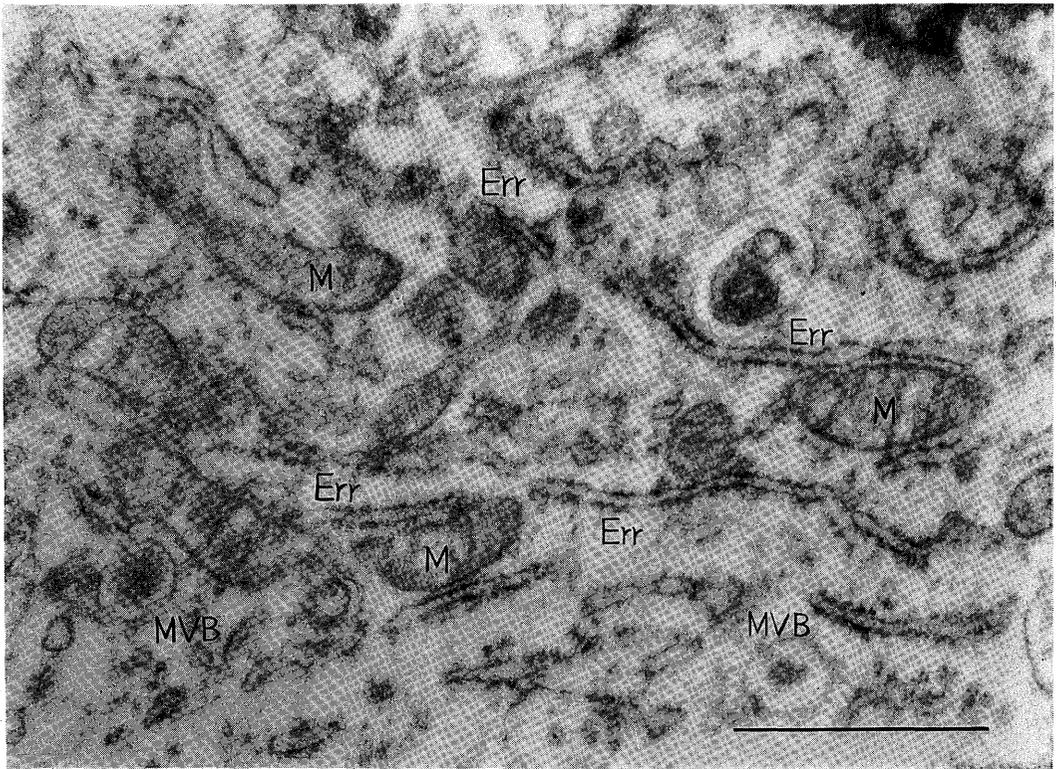


Fig. 14

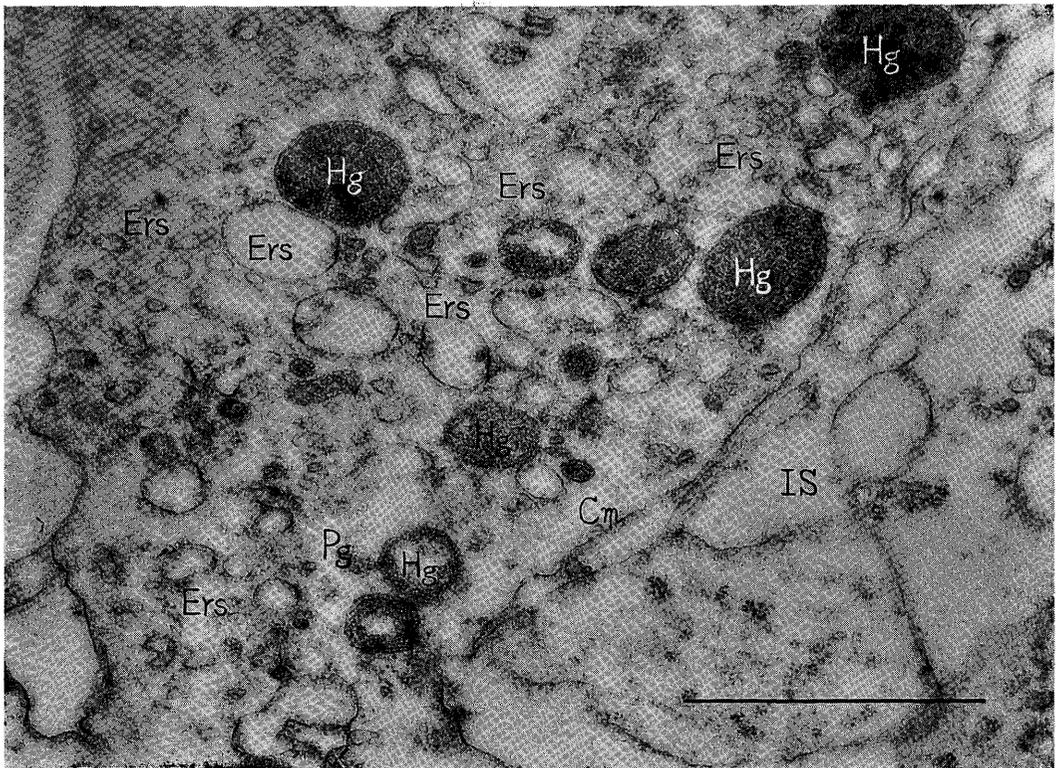


Fig. 15

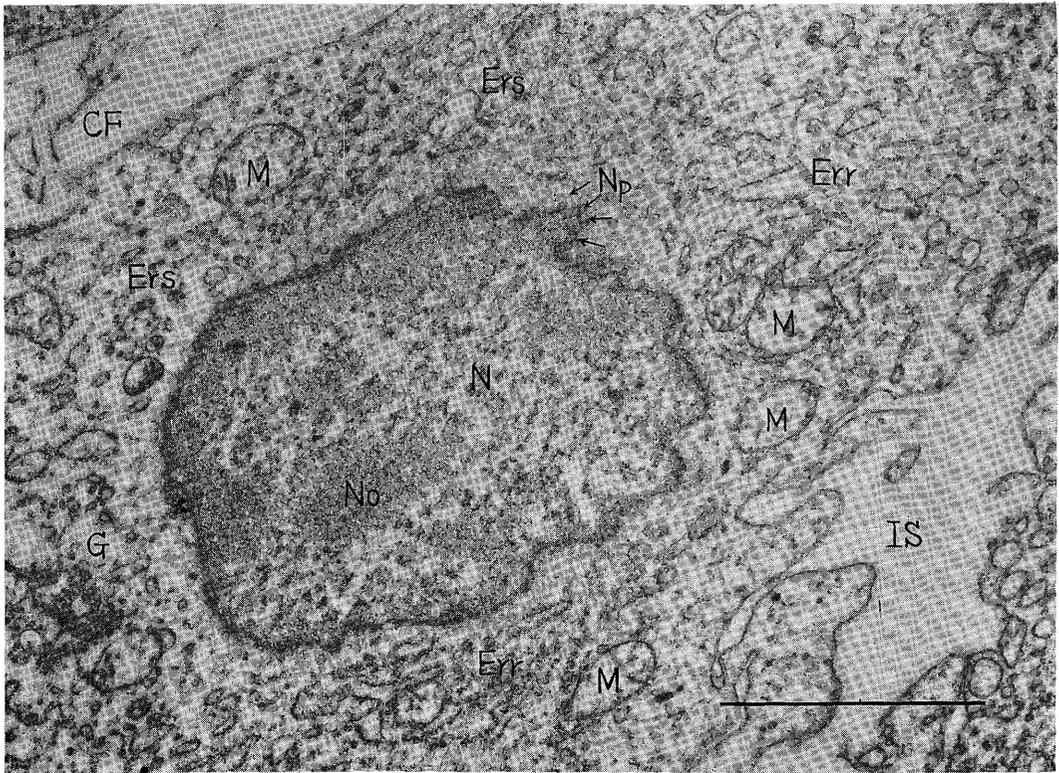


Fig. 16

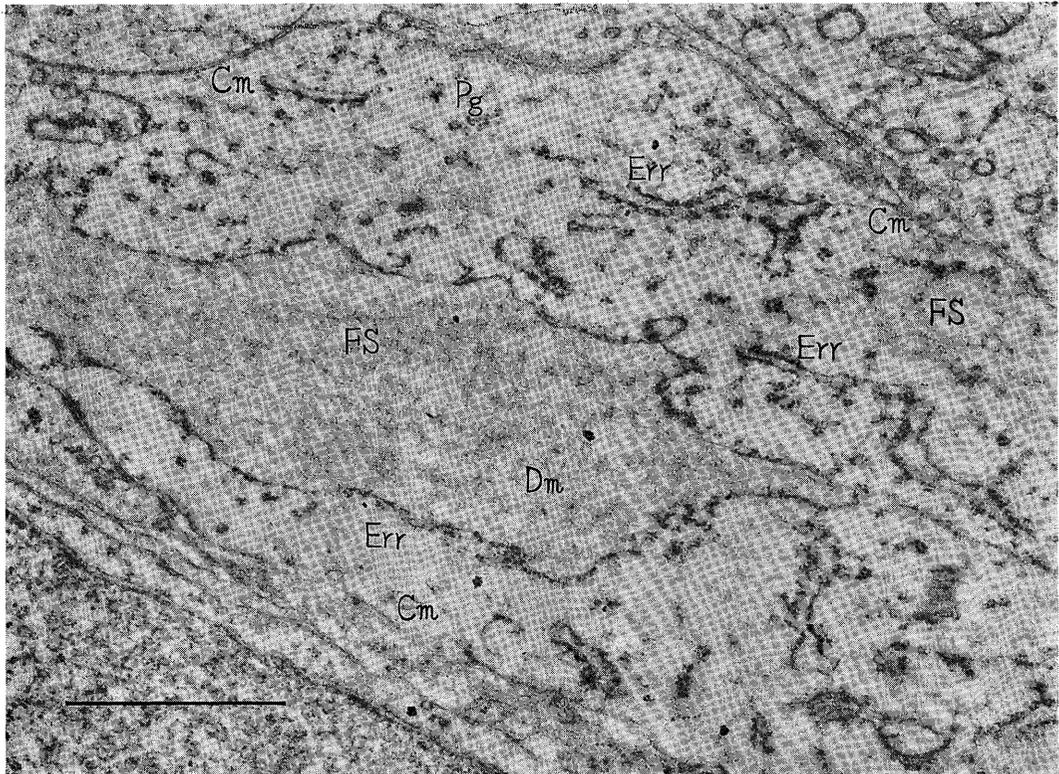


Fig. 17

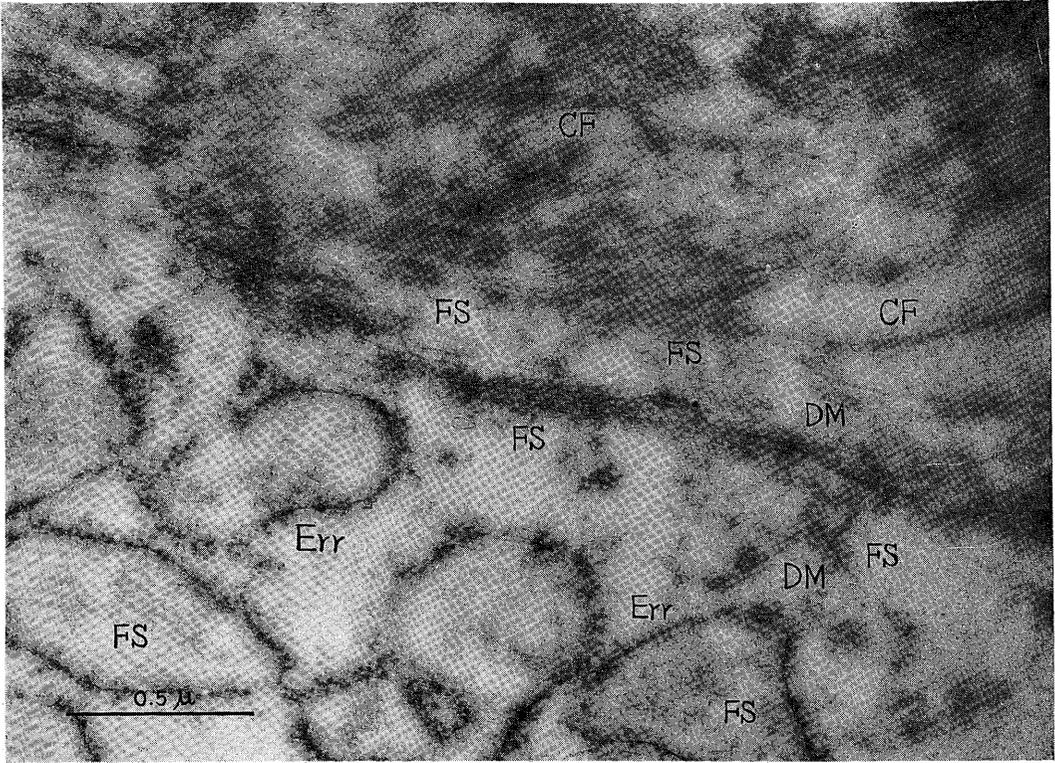


Fig. 18

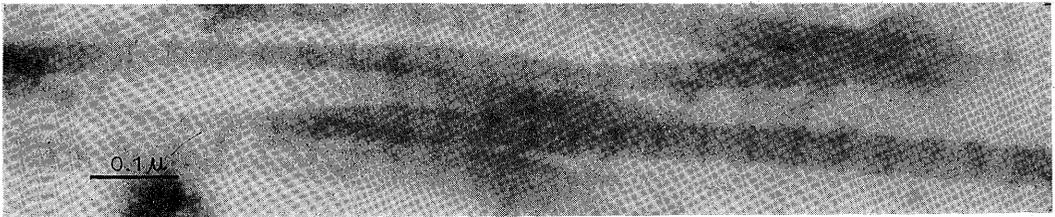


Fig. 19

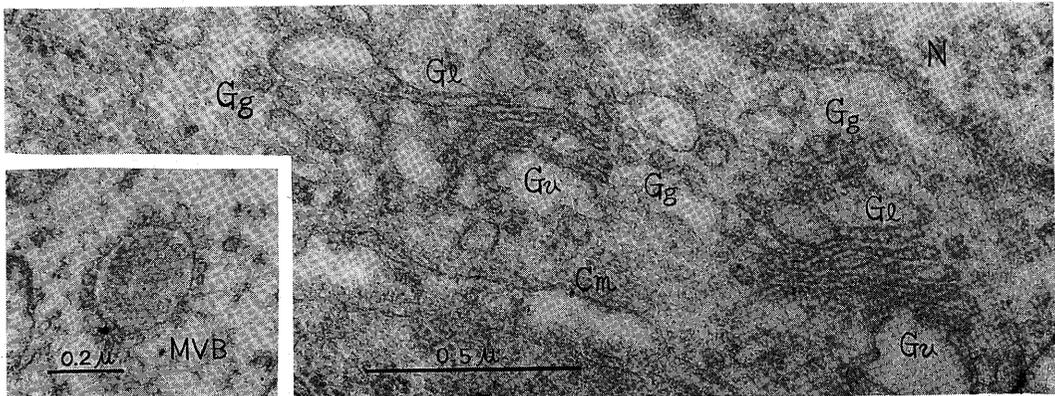


Fig. 20

Fig. 21

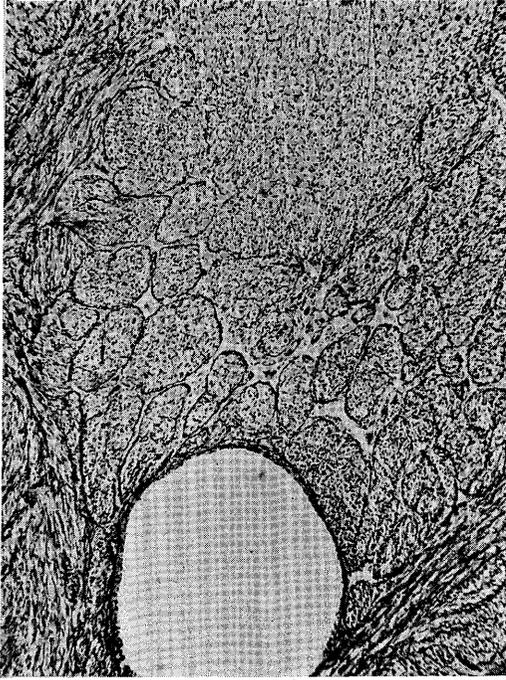


Fig. 22

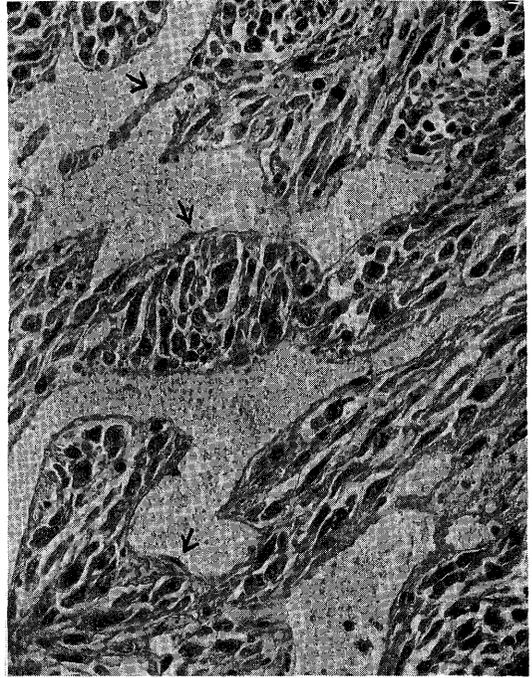


Fig. 23

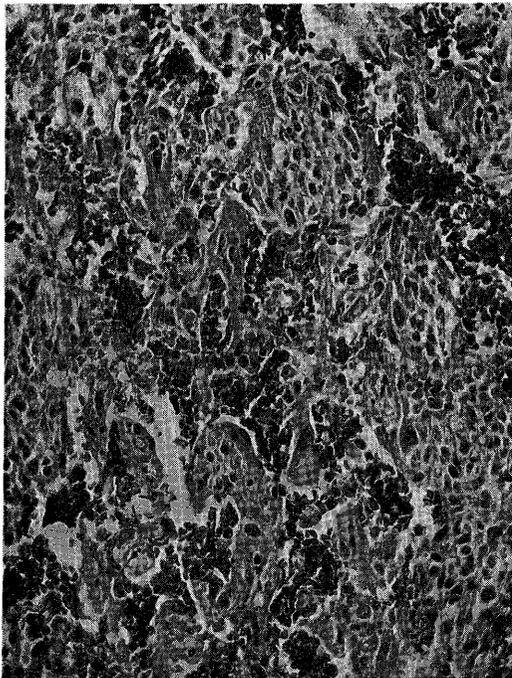


Fig. 24



Fig. 25

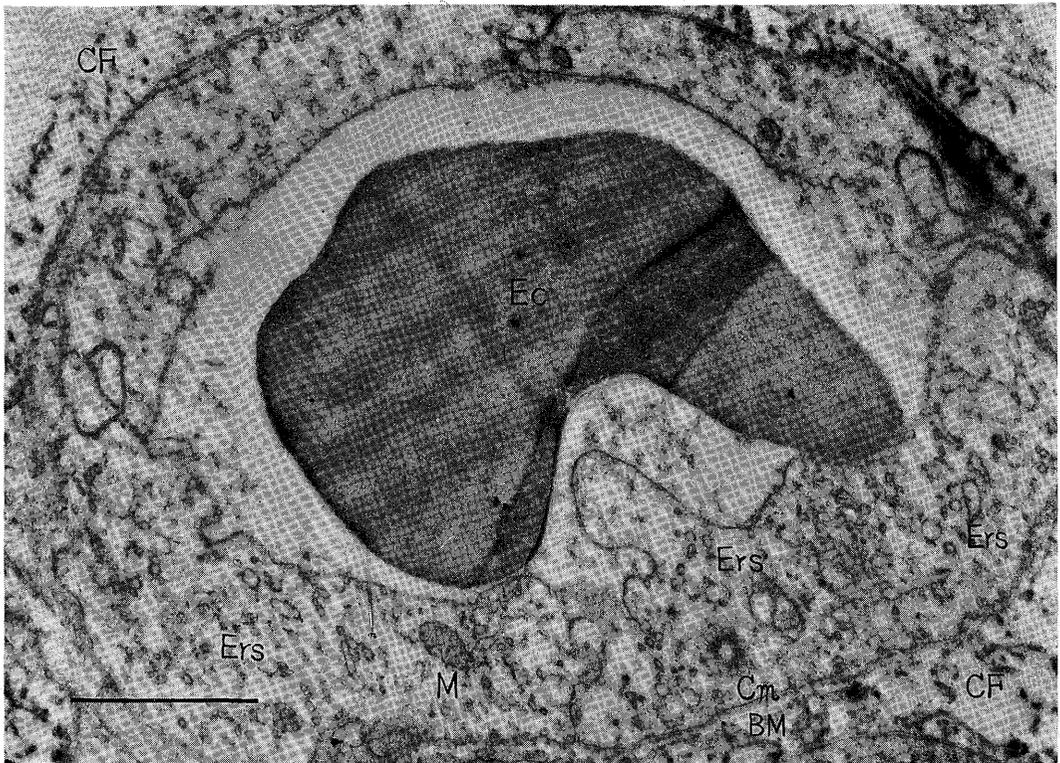


Fig. 26

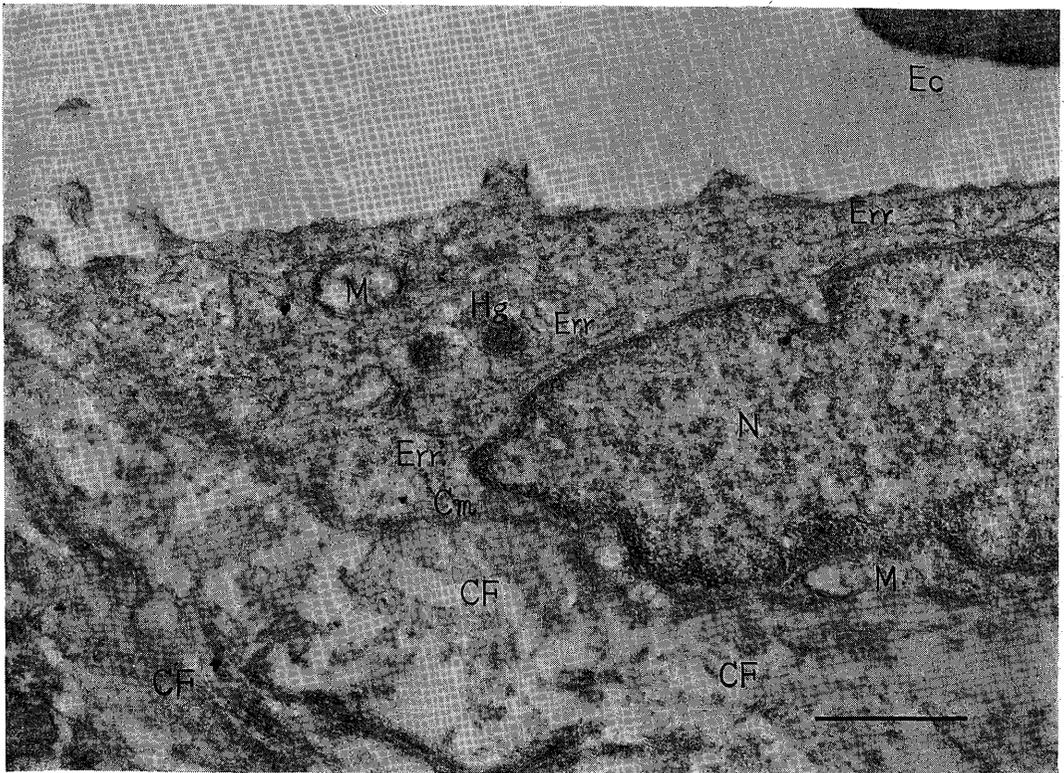


Fig. 27