

胃癌の組織化学的研究殊に Succinic Dehydrogenase 並びに Phosphamidase 所見について

金沢大学医学部第二病理学教室(主任 石川大刀雄教授)

大 橋 市 郎

(昭和34年11月18日受付)

1) まえがき 胃癌の診断について、殆んどあらゆる分野からの研究が勢力的に行われているにもかかわらず、その早期発見は甚だ困難である。特に臨床症状から早期診断を行うことは殆んど不可能であつて、事実ここに用いられた症例の中、かなりのものはすでに根治的手術が不能のものであつた。

癌の早期診断、ことにその信頼性に関しては、幾多の検討事項が存する。しかし、何らかの検査材料から、直接癌細胞を検出するほど確実なものはない。臨床所見、免疫反応、X線所見その他の臨床検査より類推するよりも、遙かに確実である。従つて、Papanicolaou & Traut (1943)¹⁾が、腔分泌物中に腫瘍細胞を検出することによつて、子宮癌の診断が可能となると発表して以来、このような癌の細胞学的診断法が著しく促進され、すでに肺気管支系腫瘍、前立腺尿路系腫瘍、消化器系腫瘍、漿膜腔系腫瘍等の診断に応用されるに至つた。我国においても近年特に細胞学的癌診断法への関心が高まり、胃癌²⁾、気管支癌³⁾等について多数の成績が発表されている。

胃癌の細胞学的診断の際に、胃鏡の如き直達鏡を使用して直視下に疑わしい部分を擦過して細胞を採取することは、診断のためには有効な手段であるが、直達鏡の性質上診断に部位的な制約を受け、また臨床的にかなりの技術を要し、時に危険を伴うばかりでなく、患者に少なからぬ苦痛を与えるという点で、その応用は屢々困難である。従つて患者に苦痛を与えることが少なく、安全且つ容易に診断を行うためには、胃液中の脱落細胞の中から腫瘍細胞を検出する努力が試みられて然るべきであらう。

採取された胃液中には、胃粘膜からは勿論、その上流の口腔、咽喉、鼻腔の一部及び食道から剝脱した上皮性細胞の外に、多核白血球、リンパ球、単核細胞、

赤血球等の種々の非上皮性細胞が含まれている。これらの上皮性及び非上皮性細胞は、更に幼若細胞であるか、老化細胞であるか、また退行変性に陥つた細胞であるか、新鮮な細胞であるかによつて、それぞれ著しく異つた所見を呈する。従つて、これらの様々な生活過程上にある細胞の中から、悪性腫瘍細胞を鑑別発見するためには、かなりの時間と経験とを要し、診断も容易ではない。

2) 組織化学的方法の導入 癌細胞或いは癌組織の生化学的性状が、正常組織のそれと比較して、かなりの相違を示すことは、Warburg 以来種々の方面で実証されて来た。現在、癌組織に特徴的であるという生化学的或いは酵素化学的特性は未だ見出されていないが、正常組織と癌組織との間に、その反応度、或いは活性度の差がかなり著明に認められる時には、この組織化学的診断法の導入によつて悪性腫瘍の細胞学的診断がかなり容易になるに違いない。しかしこの際組織化学的方法のみによつて診断することは、それが癌組織に特有な反応でないために、危険であり、従つて元来行われて来た無固定新鮮標本の色光学的、並びに位相差顕微鏡的観察法、Papanicolaou 法、H-E 染色法、Giemsa 染色法等によつて確立された腫瘍細胞の診断基準に従がう標本の見方に習熟することは勿論重要なことである。

3) 悪性腫瘍の細胞学的診断法に対する琥珀酸脱水素酵素 (SDH) 系の応用

SDH (succinic dehydrogenase) は、水に可溶性の酸素で、至適 pH 7.3~7.6、生活細胞の酸化還元系の一つである Succino-Oxydase System の主要な構成物質であつて、Cytochrom C. Zymohexase 等と密接な関係を有し、脂肪、含水炭素、蛋白質の酸化に関係する。

Histochemical Study on the Gastric Cancer, especially on the Succinic Dehydrogenase and Phosphamidase. Ichiro Ohashi, Department of Pathology (Director: Prof. T. Ishikawa), School of Medicine, University of Kanazawa.

脱水素酵素の表示には、古くは Methyleneblue (Semenoff)⁶⁾, Tellurite (Klett)⁷⁾ が指示薬として使用されて来たが1941年 Kuhn & Jerchel⁸⁾ によつて、無色の Tetrazolium 塩が植物細胞内において、脱水素酵素作用により赤色の化合物に変えられることが発見されて以来、主として次の如き Tetrazolium 塩が使用されている。

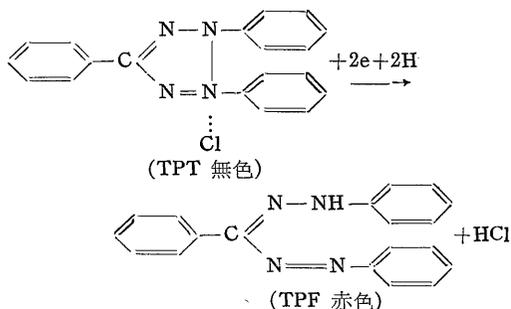
1) TPT or TTC (2-3-5 triphenyl tetrazolium chloride)

2) Neo tetrazolium or NT (p,p'-diphenylene bis 2-[3, 5-diphenyl] tetrazolium chloride)

3) Blue tetrazolium or BT (3,3'-dianisole bis 4,4' [3,4-diphenyl] tetrazolium chloride)

4) Tetrazolium Violet or TV (化学構造不明)

本実験には TPT が使用された。TPT は Pechman 及び Runge (1894)⁹⁾ によつて作られた無色の水に易溶性の結晶で、ヒドロ亜硫酸ソーダ、或いは種々の脱水素酵素によつて還元され、水に不溶性、有機溶媒に可溶性の赤色色素 Triphenyl formazan (TPF) を生ずる。若し TPT が不純な時、少量の純アルコールに溶かして後4~5倍量のエーテルで沈澱させ、再結晶したものを使用する。



1948年 Straus & Cheronis¹⁰⁾ が、TPT 及び 2,3-diphenyl-5-methyl Tetrazolium Compound が悪性、或いは良性腫瘍の鑑別診断に利用されることを報告して以来、多数の人々によつて¹¹⁾⁻¹⁵⁾ 種々の立場からその有用性が論じられて来た。

この実験においては、TPT の特殊性を応用して、胃癌、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃炎等の癌、非癌における、1) 胃液中の脱水素酵素量の測定、2) 胃液中の脱落上皮細胞の TPT に対する細胞化学的研究、3) 胃切除標本についての SDH の組織化学的研究、4) Phosphatase, Phosphamidase 等の組織化学的研究及び H-E 染色による病理組織学的研究を同時に行い、悪性腫瘍に関する従来の形態学的な分類から新たに、代謝学的な分類を試みる努力を行った。

材料並びに実験方法

1. 主要胃疾患における Succinic dehydrogenase 系の追究方法

胃癌、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃炎等の主要疾患において、病態生理学的に SDH 系の変動が如何様になるか、また実際に得られた所見から逆にもとの疾患をどの程度まで判定しうるかを定めるために、TPT を指示薬として、以下に述べる種々の方法により次のような材料について実験を行った。

A. 胃液 B. 胃組織 C. 腹水

A. 胃液について

1) 材料採取法

胃液採取は早朝空腹時に行う。前晩の食事は、胃の通過障碍の有無により、流動食または絶食とし、食後3時間で軽く胃洗を行つておく。

細胞診断を目的とする胃液採取方法としては、一般に次の3法が行われている。

- a) Abrasive balloon 法
- b) Gastric brush 法
- c) 洗滌吸引法

この実験の目的のためには、なるべく胆汁を混じらない、食物残渣を含まない胃液の採取が望ましい。洗滌吸引法には Rehffuss tube または Levin tube が用いられるが、これらは嚥下に際し刺激が強く、屢々吐逆運動のため胃液に多量の胆汁を混ざるので好ましくない。従つてこの実験では、胃切除後に使用する細い吸引用鼻腔ゾンデに5~6個の側孔をあけて、グリセリンを塗布し、なるべく刺激を与えないように鼻腔より挿入し、胃に達した後、洗滌することなく、直ちに種々の高さにおいて胃液の吸引、注入を、数回反覆し、胃の広い部分から、可及的多くの脱落細胞を得るように努めた。採取する胃液の量は7~8cc で充分である。高度の幽門狭窄が存在すると、なお食物残渣を混ざることがある。この際はガーゼ2枚にて軽く濾過する。

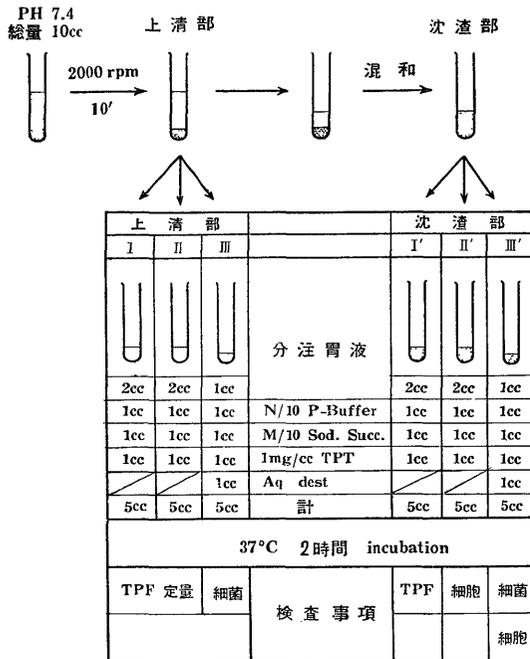
2) 実験方法及び実験項目

採取した胃液は速やかに検索の用に供されねばならない。若し放置されると、自家消化のため胃液中の脱落細胞が破壊されるばかりでなく、腐敗のため(特に癌胃液では速やかに腐敗する)酵素化学的な目的に使用し得なくなる。

5cc の胃液を試験管に取り、その pH 値により適当に 10/N Na₂HPO₄、或いは 10/N NaH₂PO₄ 溶液を加えて pH 7.4 に調整した後、更に pH 7.4、10/N 磷酸緩衝溶液を加えて総量を 10cc にする(若し上述の

方法により pH 調整後の総量が 10cc 以上になつたならば、後に定量値を稀釈倍数より算出すればよい)。胃液中に脱落せる細胞のみを検索目的とする場合は、pH 調整後 1~2 時間氷室に保存しても細胞内酵素活性には大した変化は見られないが、その他の定量的測定には保存胃液は使用出来ない。(表 1 参照)

第 1 表 実験方法及び検査項目



調整胃液を 2000 rpm 10分間遠心する。静かに上清部 5cc を取り、2cc あて 2本の試験管 (I, II) に分注し、残り 1cc は別の試験管 (III) に取る。ついで沈渣部 5cc を振盪混和して均一な細胞浮游液となし、内 4cc を取つて、2cc あて 2本の試験管 (I', II') に分注し、残つた試験管内の 1cc はそのまま試験管 (III') として以上の試験管と同様に次の如く処理する。

各試験管に

- pH 7.4, 10/N 磷酸緩衝溶液 1cc
- 0.1 mol コハク酸ソーダ水溶液 1cc
- cc/1mg TPT 水溶液 1cc
- 蒸溜水 (試験管 III, III' にのみ) 1cc

を加え、振盪混和後 37°C, 2時間孵卵器に保存する。反応完了後、次の如く検索を進める。

- 上清部 { ITPF の定量
- II細菌学的検査
- III細菌学的検査

- 沈渣部 { I'TPF の定量
- II'細胞学的検査
- III'細菌学的・細胞学的検査

i) 胃液中の SDH 活性の測定

原理：SDH 作用により TPT が還元されて生じた赤色色素 TPF を、酢酸エチルにて抽出し、光電比色計により比色定量する。

孵卵器より取り出された試験管につき、まず肉眼的に TPF の発色の程度を検査する。発色は必ずしも個々の試験管に均一でなく、少量の脱落細胞、その他の残渣が沈澱している沈渣部の試験管底に、酵素活性が強く現われるのが普通である。また肉眼的に何らの沈澱を認めない上清部試験管においても、稀に底部に比色定量不能な極微の発色をみることがある。

SDH の定量を行う試験管 I, II, I' には、直ちに 0.5cc の 20% トリクロール酢酸を加えて酵素反応を停止せしめる。ついで各試験管に 7cc の酢酸エチルを加えて充分振盪し、TPF を酢酸エチルに移行せしめて抽出する。若し加えた酢酸エチルが完全に透明にならない時には軽く衝激を与えるか、或いは 1000~2000 rpm 5分位遠心すれば容易に分離する。赤色に着色せる酢酸エチル層は、先端の細いピペットで比色用セルに移し、日立光電比色計により比色定量する。フィルターは 470mμ (緑) のものを使用した。

基準曲線は、種々の濃度の TPT 溶液に少量のヒドロ亜硫酸 ツーダを加えよく振盪し TPT を還元せしめ、これを酢酸エチルにて抽出し比色定量して作成する。

ii) 細菌学的検索

試験管 III 及び III' について夫々、概略的な細菌数の推定、細菌の種類を検索を行い、胃液中細菌の SDH 作用に及ぼす影響について考察した。細菌数と胃液の TPT 還元能との関係を調べるために、TPT 加寒天平板を使用した。

TPT を加えた寒天平板は、長く保存すると微量であるが TPT の自発的還元がおこり、寒天は淡赤色に着色され、ある場合には平板から色素の吸着により集落の着色することも考えられる。従つて、用に臨み新たに TPT を加えた平板を使用すべきである。

12~24時間以内では、自発的還元による着色は全く認められない (室温)。

製法：普通寒天平板 1個あたり、1mg/cc TPT 1cc を無菌的に加え、加熱、溶解、混和したものを凝固せしめて培養基とする。

培養法：試験管 III, III' から, incubation の前及び後に 1 白金耳の被検胃液を取り, TPT 加寒天平板に塗抹し, 37°C, 24~48時間培養を行う。

細菌学的な検査を終えたならば, 試験管 III' を遠心し, その沈渣について試験管 II' と同様に (後述) 細胞学的検査を行う。

iii) 細胞学的検査

沈渣部試験管 II' を 2000 rpm 10分間遠心する。沈渣を取つて普通の無固定新鮮標本を作り, SDH 活性を示す脱落細胞を目標に鏡検する。標本は少なくとも 3 枚を作り比較判定に資する。細菌学的検査を終つた試験管 III' も同様に処置する。

標本製作後直ちに鏡検されない場合は, 反応液の蒸発濃縮及び反応の持続のため, 次第に, TPF の球状針状結晶が析出し, 標本が見難くなる。従つて漸次放置される場合, 或いは以下に述べる固定標本の製作の際には, 沈渣に適当量の生理的食塩水を加えて 1~2 回遠心洗滌し, 反応液を流し去つて後標本を作ることが必要である。標本の長期保存は全く不可能であるが, 次のような操作により数日間の観察に耐え得る標本を作ることが出来る。

製作方法

- 1) スライド上に濃厚塗抹 (血液標本製作の要領)
- 2) 室温不完全乾燥
- 3) 10%中性フォルマリン固定 2~3分
- 4) 水洗 2~3分
- 5) 必要なら後染色, 水洗
- 6) 室温不完全乾燥
- 7) グリセリン・ゲラチン封入

更に長く十数日の保存を要する場合は, 室温乾燥後, 封入せずにそのまま保存する。

標本を油浸系で観察すめ後染色 (Hämatoxylin で可) を行つておかないと, 細胞がツエーデル油に透徹されるため, 細胞境界が全く不明瞭となり, 鏡検に困難を生ずるから注意を要する。

3) 胃液分劃採取検査

SDH は, 酸, アルカリに対する抵抗が弱く, 且つ至適 pH 域がせまい (pH 7.3~7.6)。従つて胃液中に浮遊していた脱落細胞の SDH は, 種々の胃液酸度に対してどの程度の活性を示すかを検討しておく必要がある。

胃液は臨床的に最もよく使用される Katsch-Kalk 法により 15分間隔に分劃採取する。

検査項目： a) 色調 b) 粘液の有無 c) 血塊の有無 d) 漕血反応 e) 乳酸反応 f) 遊離塩酸 g) 総酸度

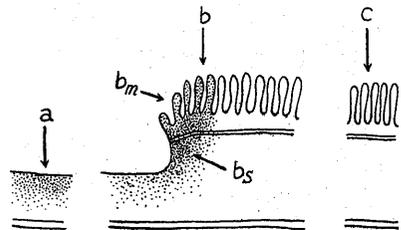
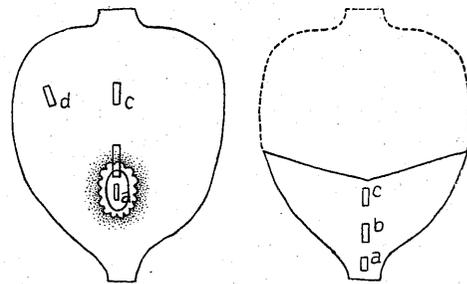
胃液酸度は, 遊離塩酸について, 無酸 (0) 低酸度 (20以下), 正常度 (40以下), 過酸度 (40以上) を區別した。

B. 胃組織：凍結切片標本について

種々の胃疾患により切除した胃組織について, 無固定凍結切片を製作, SDH の組織化学的証明を行い, 凍結切片の染色性と, 胃液中の SDH 活性を示す脱落細胞との関係を考察した。晩期の胃癌にて剔出不能または手術無意味にして, 胃組織の得られなかつた場合には, 転移の認められる区域リンパ腺を剔出し, 材料に供した。

切除標本より採取された組織塊の数及び部位は [第 2 表] の如くである。

第 2 表 切除胃より組織塊の切り方, 及び標本の部位的な名称



- a 部：潰瘍または癌の中心部
- b 部：潰瘍縁または癌縁 (移行部)
- bm 部：b 部の粘膜部分
- bs 部：b 部の粘膜下部分
- c 部：正常部
- d 部：主病変以下の病変部 (必要時)

標本の観察に際しても, 部位的な記載は第 2 表の a 部, b 部, bm, bs 部, c 部または d 部に従つて行う。但しリンパ腺組織で, a 部と称するは癌巣部。b 部とはリンパ腺実質を示す。採取された各組織塊の一部は, 直ちに氷冷アセトン固定を行い, Phosphatase, Phosphamidase の検査に使用し, 一部は, Seligman & Rutenburg (1951)¹⁶⁾, Rosa & Velardo (1954)¹⁷⁾ 変法により, SDH 組織内証明に使用する。

SDH 証明法：

- 1) 無固定凍結切片, 厚さ 30~50 μ
- 2) 直ちに反応液に入れ 37°C 2時間浸漬する。
反応液組成 :
0.1% KCN 加, 0.1M 磷酸緩衝溶液 (pH 7.6) 8cc
0.2M コハク酸ソーダ溶液 1cc
0.5% TPT 溶液 1cc
- 3) 軽く水洗
- 4) 中性フォルマリン (4倍稀釈液以下) 固定 5~10分
- 5) 載物ガラスにのせる
- 6) グリセリン・ゲラチン封入

剔出組織は, 4°C, 4時間の保存では酵素活性に大した変化を示さない (Seligman & Rutenburg)。またドライアイス, 雪状 CO₂ で凍結した組織も, 4時間迄は, 活性の損失を殆んど示さない (Gomori)¹⁸⁾。しかし SDH は破壊されやすい酵素であるから, 剔出後直ちに実験を行つた方が安全である。

反応液は予め煮沸して溶液中の O₂ を少なくし¹⁹⁾ 後 37°C に冷却して使用する。切片は刃から直ちに反応液の中に入れる。TPT の還元により生じた TPF は, O₂ が存在しても自発的变化を起さないから, 色調の消褪を示さないが, 嫌氣的に反応を行わしめると TPF の生成は更に促進される。従つて反応容器に N₂ を通ずる (Rutenburg, Wolman & Seligman)¹⁹⁾ か減圧して O₂ 濃度を低くすれば, 更に反応度を促進することが出来る。本実験では, 小型のツンベルク管を使用して, 水流ポンプにより減圧を行い, O₂ の比較的少ない状態で incubate した。

反応器に凍結切片を入れて減圧すると, 切片中に溶存していた空気が微細な気泡となつて, 切片の表面に附着し, ために切片は液面に浮き上つてしまう。浮上した切片と, 反応液の底部に沈んでいる切片とを比較すると, 前者の活性度は, かなり低く現われるので, かかる場合は, 必ず細いガラス棒を用いて切片を動揺せしめ, 表面に附着した気泡を除去して一旦反応管の底に沈めてから, あらためて減圧し, 切片を反応器内の大気から遮断した状態で反応を行う方がよい結果を得る。切片が沈みにくい時, またガラス棒で動揺することによつて破砕される恐れのある時は, デッキガラスの小破片と一緒に沈めるとよい。一反応器中の切片の数は 3~4片程度にとどめる。多くても反応度に影響は見られないが, 無固定切片であるため, incubation 中にお互に粘着して, 後に載物ガラスに延ばし, 張付ける際の分離が困難となるからである。

固定用フォルマリンは, 指示薬として TPT, TV, を使用する際は必ずしも中性であるを要しないが, 他

Tetrazolium 塩 (NT, BT) を使用する際は, フォルマリンが強く酸性域 (pH 4.5) に傾くと, 組織内に生成した Formazan の溶出が起るから, 必ず中性フォルマリンを使用せねばならない (Shelton & Schneider)²⁰⁾。封入前には余分の水分を吸い取る。

グリセリン・ゲラチンでの封入は多くの気泡が混入し易いから特に注意を要する。

時間的に許されれば, 載物ガラスに張付けてから, 張付面を下に, 斜めに立てかけて, 室温中で自然に乾燥し, 半乾燥状態となつた時に, グリセリン・ゲラチンに封入すればより美しい標本を得ることが出来る。この際, 水洗により, 反応液が充分除去され, 且つ切片の固定がよく行われておれば, 封入後に TPF の赤色針状の結晶が析出して, 標本を見難くするようなことはない。この方法で作られた標本は数日間の保存に耐えるが, 観察はなるべく早く行つた方がよい。

以上の SDH による組織化学的反應は, すべてロマン酸 (0.05 M) により完全に阻害され, エチル尿素 (1%) ではかなり阻害されるが, 靑酸ソーダ (0.5%), 弗化ソーダ (1.05mg/cc) 沃度酢酸 (0.15mg/cc) では阻害されない。(大原・倉田・橋²¹⁾, Seligman, & Rutenburg)

C. 腹水について

癌性腹膜炎を惹起した患者の腹水中に浮遊せる脱落細胞について, SDH 活性の有無を調べた。なるべく多くの腹水を遠心して脱落細胞を集める。これに生理的食塩水 : 1cc, N/10 磷酸緩衝液 (pH 7.4) : 1cc, 0.1 M コハク酸ソーダ : 1cc, 1mg/cc, TPT 1ml を加え, 軽く振盪して 37°C, 2時間 incubate する。以後は胃液中の脱落細胞に対する処理と同様に, 新鮮標本を作り鏡検する。若し赤血球が多く, 反応後の TPF の色と鑑別がまぎらわしいと思われた時は遠心後, 沈渣に適当量の蒸溜水を加えて溶血を起させ, 再び遠心して集めた細胞成分に対して上述の方法を行つた。

胸水についても, 同様な方法で実験を試みた。非常に粘稠な胸水では, 予め生理的食塩水を加え, 稀釈して後遠心しないと, 十分に細胞を集められないことがある。

胸水, 腹水中に存在せる脱落細胞は, 胃内の脱落細胞と異なり, 長期間胸腔内, 腹腔内に浮遊していたものが多いため, 細胞変性に陥つたものが多く, 従つて細胞内の SDH 活性も著明には見られず, また実験例も少なくその集計は出来なかつた。SDH 活性の低下には, これらの貯溜液が屢々強くアルカリ性に傾いていることにも関係していると思われる。

2. 悪性細胞及び非悪性細胞の鑑別

第3表 癌細胞診断における癌細胞の特徴 Papanicolaou (1954)

<p>1. 細胞及び核の変形</p> <p>a) 核 の 変 化</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1) 核の不均衡な増大, 核細胞質比の異常 2) Hyperchromasia 3) 核構造変化: 分葉, 不正形, クロマチン迷入, 延長, 陥入 4) 核小体増加 • 5) 核異型, 多核 • 6) 分裂異常 7) 核膜肥厚 8) 退行変性 <p>b) 細胞体の変化</p> <ul style="list-style-type: none"> 1) 染色性の変化 2) 封 入 3) 異型水泡変性 <p>c) 細胞全体の変化</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1) 膨 大 	<ul style="list-style-type: none"> • 2) 変形, 長大化, 不規則化 3) 退行変性, 壊死 <p>2. 細胞間の相互関係の変化</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1) 形の不規則性 • 2) 細胞不整, 核不整, 大小不同 • 3) 細胞境界の不明 • 4) 細胞集団形成, 密集 • 5) 細胞内細胞含有 • 6) 分化型の細胞集団の存在 • 7) 重 畳 <p>3. 間接の支持</p> <ul style="list-style-type: none"> 1) 赤血球の存在 2) リンパ球過多 3) 組織球過多 4) 多核球過多 <ul style="list-style-type: none"> • 印は, TPT 法による細胞学診断上参考となる重要所見.
--	--

A. 悪性腫瘍細胞の診断基準

Papanicolaou 法, H-E 法, Giemsa 法等の従来の染色法による腫瘍細胞の鑑別に際して, その根拠となる点は, a) 核細胞質比の異常, b) 核小体増大, c) クロマチン増大等の核の性状変化である。勿論細胞学的腫瘍診断が, これらの所見のみで決定されることは殆んどなく, 更にいくつかの所見が組合わされて確定される。Papanicolaou (1954) は, 腫瘍細胞の診断に役立つ種々の所見をまとめて, [第3表] の如く発表している。現在行われている細胞学的な診断は, 主としてこの表によつて判断されるが, これらの基準は絶対的な悪性腫瘍の特徴を何一つ含んでおらず, 正常な肉芽組織, 胎児組織においても同様な所見が見られる。

SDH 活性所見についても同様である。その陽性所見は, 癌に対する絶対的な示表ではないが, 高率な確率において, 癌を診断せしめる。従つて, Papanicolaou の表に加えて, 全く別の観点から, 癌の細胞学的診断に好資料を与える細胞化学的な手技を吟味することも無意義ではない。

B. 胃液中に見られる非悪性細胞

1) 上皮性細胞

a) 円柱上皮細胞

胃液中に見られる円柱上皮細胞の大部分は, 胃粘膜上皮に由来する。新鮮な脱落細胞は, 円柱状, 核は円形または楕円で一方に偏し, 無固定新鮮標本では, 細胞縁の角化のため屈折増大して, あたかも光輪を有する如くに見える。脱落後時間の経過と共に次第に膨化

して, 紡錘状~類円形となり, 時として扁平上皮細胞と区別の困難なこともある。核の位置も屢々細胞の中心近くを占めている。円柱上皮細胞が細胞集団として脱落し, 重畳した状態で鏡検されると, 細胞縁の重畳のため境界が不明瞭となり, 小円形細胞の集団(時として, この型のものは単純癌であることがある)の如く見えることがある。

b) 扁平上皮細胞

口腔, 咽喉, 鼻腔の一部, 食道の上皮等より由来するものである。組織学的な構造より次の3つに分類することが出来る。

表層細胞: 比較的大型, 扁平な丸味のある四辺形の細胞である。核は小さく円形で胞体のほぼ中心に位する。細胞集団では, 細胞縁はやや不明瞭に見えるが, 孤立細胞では著明な細胞縁を認めることが出来る。

基底細胞: やや小型の扁平~円柱型の細胞で, 核は小さく, 円形または楕円形を呈する。

深細胞: 小型の円形または丸味のある立方形の細胞, 核は円形または楕円形である。

扁平上皮細胞中最も屢々見られるのは表層細胞である。基底細胞, 深細胞は, 普通の状態では脱落しない。従つて, 殆んど見出されることがない。これらの細胞は, それ自身が良性であるにかかわらず, 気管支癌の際に, 屢々患者の気管分泌液中に出現するという(香月, 大久保, 額賀)⁹⁾。従つて, 深層細胞が出現した場合は, 何らかの原因によつて表層細胞が欠落し, 深層細胞が露出した異常状態を考えることが出来る。

2) 非上皮性細胞

多核白血球, リンパ球, 単核細胞, 組織球, 赤血球, その他.

これらは胃病変部の粘膜, リンパ濾胞等より遊走, 濾出する. 特に炎症の強い時には増大する.

実験成績

1. 胃癌における Succinic dehydrogenase 価

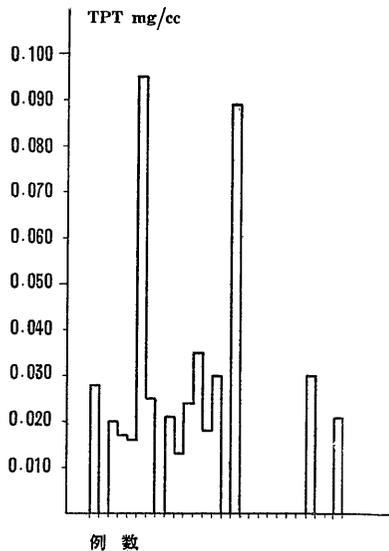
A. 胃液中の SDH 測定成績

胃癌27例, 潰瘍, 胃炎等の非癌12例について, 胃液中の SDH を測定した. 胃癌, 非癌, 胃疾患を問わず, 上清部試験管 I, II には, 殆んど酵素活性を証明することは出来なかつた. これに対し, 沈渣部試験管 I' については, 癌群と非癌群との間に酵素活性量の明瞭な差異が見られた. (第4, 5表)

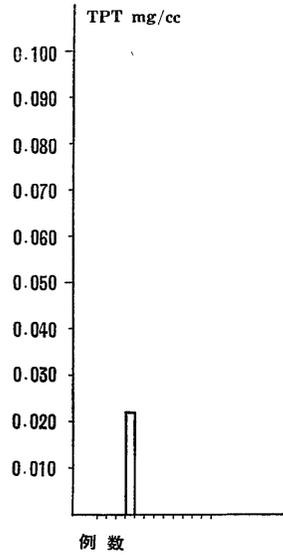
すなわち癌群においては, 半数以上 (55.5%) に TPF の発色を認め, しかもその殆んど (86.6%) が TPT 還元量 0.02mg 以上に相当するかなり著明な酵素能を示した. 特に高度な酵素活性を示した2例の中, 1例は高度の癌性幽門狭窄, 他の1例は胃体部の扁平上皮癌であつた. 一方, 非癌群においては, 膀胱に穿孔せる *Ulcus callosum* の1例 (8.3%) を除き, 他のすべてに TPF の発色を認め得なかつた. (91.7%). すなわち胃癌胃液では, 屢々 SDH 活性が非癌胃液よりも高くなつてゐることが知られた.

一般に胃癌細胞中に増量する酵素は, 二次的に胃液内にも増量すると考えられる. 事実 *Alkaline Phosphatase* (齋藤²²⁾, β -グルクロニダーゼ (芝²³⁾,

第4表 胃癌胃液における脱水素酵素の定量



第5表 非癌胃液における脱水素酵素の定量



は癌組織内の増量に伴つて胃液中にも増量してゐることが知られてゐる. SDH が, 癌組織内において増量してゐることは, 組織化学的方法によつても, また癌組織の Homogenate の SDH 定量 (御園生, 戸沢²⁴⁾によつても知られてゐるが, この事実と上述の実験成績から, “胃癌胃液中の SDH 活性の増加を以つて, 直ちに癌組織内に増加せる SDH の結果である” と考えるのは, はなはだ危険である, というのは, SDH は水溶性で, 真に胃液中に増量してゐるならば, 上清部 I, II にも酵素活性が認められるべきであるし, また実験操作中の 2000 rpm 10分の遠心によつて, 酵素の殆んどが沈渣部分に落ちたため, 上清部に現われなかつたことは考え難い. 更に, 37°C, 2時間の incubation で, SDH 活性を示さない試験管 I, II 及び活性を示す I' を, 夫々そのまま incubation を続けると, いずれにも時間と共に酵素活性が強くなり現われてくる. 従つていずれの試験管にも, 時間と共に SDH 量の増強をもたらすような物質の出現が考えられる. その原因の一つは, 先ず細菌の増殖によるものであらう. 結局次のような実験によりそのことを確かめることが出来た.

B. 胃液内細菌の酵素化学的実験成績

TPT 加, 寒天平板法により, 試験管 III 及び III' の胃液中の細菌を培養すると, 細菌の種類により種々の形の美しい赤紅色の集落を作るのが見られる. 上清部 III 及び沈渣部 III' を培養した平板を夫々比較すると, III を培養した平板の集落数は少なく, 十数個~数十個を算するにすぎないが, III' を培養した平板の集落数

は非常に多く、数十個～数百個を算した。

Ⅲ' を培養せる平板について、癌群と非癌群とを比較すると、集落の数は、一般に癌群に多く見られた。且つ、先に I' より定量された胃液の SDH 量と、Ⅲ' から培養された細菌の集落数との関係を調べると、非癌群では胃液の脱水素酵素能が陰性か稀に陽性、細菌数は少ないかやや多い程度。癌群では脱水素酵素能が陽性、細菌数は多いといった傾向を示した。(第6表) すなわち、胃壁中の SDH 活性度と細菌数とはほぼ平行状態にあることが知られた。

第6表 癌及び非癌胃液における脱水素酵素能と細菌数との関係

		SDH 値 0.02以上	細菌数
上清	癌	0	少ない
	非癌	0	非常に少ない
沈渣	癌	55.5%	非常に多い
	非癌	8.3%	稍々多い

更に TPT 加、寒天平板に生えた集落から細菌を採取して単染色を行い、細菌の形態を調べると、胃液中の殆んど大部分の細菌(連鎖球菌、葡萄球菌、双球菌、桿菌、連鎖状桿菌等)に強い TPT 還元能が見られた。稀に認められた *Sarcina* の集落には TPT の還元が証明されなかつた。胃液中には、これらの細菌の他に、脱落上皮細胞、食物細片、無定形残渣等が混在することがある。後に述べるように、ある種の脱落細胞及び新鮮な植物線維に、わずかの SDH 作用を認めることがあるが、いずれも反応は胞体内、或いは線維内に限局され、他に影響を及ぼすことがない。無定形残渣には脱水素酵素作用はない。ただし屢々細菌がこれに附着増殖して沈澱するので、あたかも活性を有するかのように見えることがある。

以上の成績を要約すると、次の如くである。i) 癌胃液では屢々非癌胃液よりも高い SDH 活性を示す。ii) 癌胃液中には、非癌胃液中よりも一般に多くの細菌が存在する。iii) 胃液中の細菌の殆んど大部分が強い TPT 還元能を有する。iv) 長時間 incubate すれば、どの試験管にも着色が現われる、この際、試験管内の細菌は、incubation 前と比べて著しく増殖している。すなわち細菌の分裂増殖に伴って着色が強くなつたと判断される。

従つて、胃癌胃液において、TPT の還元が非癌胃液よりも強く起るのは、種々の原因により癌胃液中に繁殖せる細菌の脱水素酵素作用によるものであつて、

癌組織内に増加せる、SDH の量とは直接の関係がないものと考えられる。井内²⁾は胃液内細菌の研究において、培養陽性率及び生菌数共、胃癌例に圧倒的に高い値を示すことを指摘し、生菌数だけからでも、ある程度の癌の識別が可能であると述べている。若し胃液内の細菌数の消長より癌を類推するのであれば、培養或いは生菌数の計算を行うよりも、胃液の中の細胞の SDH 活性度を測定した方が遙かに簡単に、正確に行われる。胃癌胃液内における細菌の増殖は、主として酸度の低下、腫瘍のために起る種々の程度の胃の通過障碍及び、運動障碍によるものである。しかし癌でなくてもそれと同じような機構の存在する場合、例えば潰瘍による高度の幽門狭窄、無酸性胃炎、巨大潰瘍の際、TPT の還元が癌と同程度に起ることもあり得る。また癌であつても、初期においては屢々還元能が充分行われぬ。このように一様に断定することは困難であるが、一応 SDH の定量において、胃液に 0.02mg 以上の TPT を還元する酵素能を示す場合には、なんらかの病変、特に胃癌の存在を濃厚に疑うことが出来る。

C. 胃液中の Succinic dehydrogenase 陽性物質について

酵素化学的に処理された試験管 II' 及び III' を遠心し、それらの沈渣を生理的食塩水で洗滌して後、新鮮標本を作つて検鏡すると、種々の脱落細胞、食物残渣、無定形残渣等が見られる。

而してこれらの細胞或いは食物残渣内には、夫々かもつ SDH 活性度に従つての TPT 還元による着色が観察される。

1) 植物線維及び無定形残渣

胃内の植物残渣中、稀に TPF の着色を示すものは植物線維で、その他の普通の食品は、すでに消化分解され、胃内に残存しないか、または SDH 活性を示さない無定形残渣となつている。植物線維では、その種類により、線維の中心に赤い線条を示すもの、或いは赤い小点の線状連続を示すものがある。これらの植物線維はすべて、前日の夕食、或いはそれ以前に摂られたものであるが、このことから SDH は胃内環境においてもなお、かなりの時間、酵素能を保有することが知られた。

2) 脱落細胞について

胃液中に見られる諸細胞については、すでに述べたが、実際に標本で観察される大多数の細胞は、種々の生活段階に位置する円柱上皮細胞、扁平上皮細胞、及び小数の腫瘍細胞であつて、深層細胞は、このような無固定新鮮標本において正確に識別することは、殆

んど不可能である。非上皮性細胞は細胞診断上の意義は少ない。胃液中に浮遊していた脱落細胞は、酵素化学的な処理を受けると、細胞内に保有する SDH の量によつて、TPT を還元し、美しい紫紅色の顆粒を現をす（以下この顆粒を有する細胞を TPF 顆粒細胞と呼ぶ）。顆粒は、微細点状または、やや粗大な点状を呈するが、いずれも完全に細胞内に包含され、同一細胞内においては、顆粒の大きさはほぼ均等である。細胞の辺縁部よりも、核を中心としたその周囲に密集して現われる。

従つて、細胞膜と TPF 染色顆粒との間には、狭い間隙の存在を認めることが出来る。核及び細胞膜には、原則として着色や顆粒が現われない。Shelton & Schneider は腎凍結切片で核の着色が見られたことはないという。本実験においては 1 例に、細胞体に比して大きな核の着色を認めたものがあつた。河野、村沢、大原²⁰⁾はショウジョウバエの唾液線細胞に Tetrazolium 塩を与えると、核の（超）生体染色が認められることを報告している。

TPF によつて着色される細胞内顆粒の生物学的意義はなお不明な点が多く、従つて胃液中に出現した、TPF 顆粒細胞をもつて、直ちに胃癌の診断を下すことは危険であるが、今までに行われた幾多の実験¹⁰⁻¹⁵⁾から、少なくとも、かかる細胞は、ある種の臓器の腫瘍の存在、或いは腫瘍細胞の発生と密接な関係を有することが明らかにされている。本実験においても、胃液中の TPF 顆粒細胞と胃癌との間には、極めて密接な関係があり、臨床的に胃癌の診断にたいして充分価値があると認められる成績を得た。

SDH 作用を利用した TPF による超生体染色法は、Papanicolaou 法、その他の染色法と異なり、無固定新鮮標本であつて、普通には核の着色が見られないから、その微細構造をうかがうことは出来ない。従つて悪性細胞の診断に際し、Papanicolaou の基準を適用するには、幾分の不利を感じるが、なお核：細胞質比の変化、核の大小不同性、核異常を伴える多核等の点についての観察には、何らの不自由を感じない。

しかも実際の検索においては、細胞内に紫紅色の顆粒を有するものを目標として、他の無顆粒の細胞を一応無視し得るので、Papanicolaou 法の如く一様に染色された細胞の中から悪性細胞の検索を行うよりも、遙かに容易に目標を補足し、更に詳しく吟味することが出来る。

Papanicolaou は検鏡上、細胞の悪性度を判別するため、次の V 級を分類して、診断の「確実」を期している。

- I 級 異型細胞のないもの
- II 級 異型細胞あるも悪性でないもの
- III 級 悪性の疑いあるも確実でないもの
- IV 級 悪性の疑い濃厚なるもの
- V 級 確実に悪性であるもの

TPT 法による判定の場合には、細胞内の SDH の存在に従つて、細胞内に現われる TPF 染色顆粒が一つの重要な診断的根拠をなし、また本法の特徴となっているので、顆粒の量的並びに形態の所見に応じて、新たに次の如き分類を行い、更に P 氏分類を加味して、TPT 法による診断基準を定めた。

I 型 細胞の染色及び細胞内の紫紅色の顆粒を全く認めないもの。異型細胞を認めないもの。

II 型 細胞の染色を認めず、細胞内顆粒は認めるが、少量、微細点状で、且つ細胞が単独遊離形のもの、異型細胞はあるが悪性ではないもの。（第 1 図）

III 型 II 型の細胞が重畳し配列がやや不規則と思われるもの、悪性の疑いあるも確実でないもの。（第 2 図）

IV 型 細胞の赤色染色を認め、細胞内顆粒は多量、濃厚、粗大点状を呈し、且つ細胞が単独遊離形のもの、悪性の疑い濃厚なもの。（第 3 図）

V 型 IV 型細胞が重畳し配列が不規則なもの、確実に悪性と思われるもの。（第 4、5 図）

I 型 II 型と陰性、III 型を疑陽性、IV 型 V 型を陽性と判定する。以下の実験成績の記載はすべて、この基準によつて判定された。

D. 胃液中の TPF 顆粒細胞発見率

胃癌 32 例中 28 例に TPF 顆粒細胞を発見し、その 1 例は疑陽性であつた（疑性を含めて的中率 87.5%）。陰性 4 例中 1 例は胃洗滌液を使用した症例であつた。（第 7 表）

これに対し、慢性胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍等の非癌においては、16 例中 13 例に陰性（的中率 81.3%）、3 例に疑陽性、IV～V 型に属する陽性例は皆無であつた。疑陽性を呈した 3 例中 1 例は巨大潰瘍、1 例は 3 個の潰瘍を有し、残り 1 例には高度の胃炎が認められた。すなわち、TPF 顆粒細胞は癌の場合に高率に発見されるが、潰瘍、炎症性変化では、むしろ現われないことが多いということを示している。（第 7、8 表）

普通染色による細胞学的診断に際しては、遊離した単独の細胞について診断することを避け、多くは細胞集団について、核の変化、細胞の大小不同性、配列の不規則性等から診断が下されている。一般に腫瘍細胞は集合傾向が強く、腫瘍組織から脱落する際も集団的に脱落することが多いといわれているが、TPF 顆粒細胞

第7表 癌及び非癌胃液における TPF 顆粒細胞の発見率

種類	型	陰性		疑性	陽性		計
		I	II	III	IV	V	
癌	例数	4	0	1	8	19	32
	%	12.5%		3.1%	84.4%		
非癌	例数	12	1	3	0	0	16
	%	81.3%		18.7%	0%		

第8表 非癌胃液における TPF 顆粒細胞の各疾患別陰性率

非癌	陰性		疑性	陽性		計	陰性率
	I	II	III	IV	V		
慢性胃炎	5	0	1	0	0	6	83.3%
胃潰瘍	4	1	2	0	0	7	71.4%
十二指腸潰瘍	3	0	0	0	0	3	100%
	13		3	0		16	

胞も屢々細胞集団、或いは細胞塊をなして発見される。従つて TPT 法による標本の検索に際しては、紫紅色の細胞内顆粒を有する小円形細胞群を目標に観察を行うべきで、1個の遊離した陽性細胞からの診断には、充分慎重であらねばならぬ。微細な紫紅色の細胞内顆粒は、非癌において屢々扁平上皮様細胞に見出される。顆粒の形状、量、細胞の配列等から、主として II 型、III 型に属するものであるが、円柱上皮からの化生、膨化、変化の有無を考察する必要がある。

TPF 顆粒細胞の細胞学的所見から癌の種類を推定することは全く出来なかつた。

E. 胃液酸度と TPF 顆粒細胞の発見率

TPT 法は酵素反応の応用であつて、pH の影響が大である。従つて癌、非癌における種々の酸度の胃液は、その中に浮遊せる脱落細胞の、TPT 法に対する陽性率に如何なる影響を与えるかを調べた。(第9、10表)

SDH 活性は、アルカリ性におけるよりも、酸性において、より多く低下するが、TPF 顆粒細胞の発見率についても同様で、酸度が高まるに従つて、発見率が低下している。しかし、胃癌の場合、無酸、低酸のため非特異的の反応によつて陽性率が高くなるのではないことは、非癌の場合に、無酸、低酸であつても、陽性細胞の出現が少ないことから説明される。且つ胃癌の大部分は、無酸、低酸であつて、数的にこの群に属す

第9表 胃液酸度と TPF 顆粒細胞 発見率との関係：癌群

癌群	酸度	陰性		疑性	陽性		計	陽性率
		I	II	III	IV	V		
無酸	1	0	1	5	13	20	90%	
低酸	1	0	0	1	6	8	87.5%	
正常	1	0	0	0	0	1		
過酸	1	0	0	2	0	3	66.6%	

第10表 胃液酸度と TPF 顆粒細胞 発見率との関係：非癌群

非癌群	酸度	陰性		疑性	陽性		計	陰性率
		I	II	III	IV	V		
無酸	3	0	1	0	0	4	75.0%	
低酸	5	1	0	0	0	6	100%	
正常	0	0	0	0	0	0		
過酸	4	0	1	0	0	5	80.0%	

るものが多いことも関係している。正常、過酸の症例は少ないので、統計的な結論は出し難いが、すでに述べた植物線維中の SDH 活性の存在、またかなりの過酸における顆粒細胞の発見等から考えると、脱落前に絶えず胃液にさらされていた胃壁細胞は脱落後も、ある程度の時間内であれば、酸に対する抵抗性を有し、従つて細胞内の SDH もかなり保存的であるのではなからうかと思われる。

F. 胃癌発生部位と TPF 顆粒細胞発見率

胃を噴門部、体部、幽門前庭部の3部分に分け、腫瘍の存在部位による顆粒細胞の発見率を調べた。(第11表)

第11表 癌発生部位と TPF 顆粒細胞発見率との関係

	陰性		疑性	陽性		計	陽性率
	I	II	III	IV	V		
噴門部	0	0	0	0	2	2	100%
体部	2	0	1	5	9	17	82.3%
幽・前庭部	2	0	0	3	8	13	84.6%

TPT 法による場合は平均 80%位で、部位的に著明な差が見られない。普通染色による場合の部位的な腫瘍細胞の発見率は、諸家により種々であるが、大体どの部位においても 80~90%前後で、臨床的に特別の意義を見出さない。また最近、胃液採取には、Abrasive balloon 法が推奨されているが、湯川等が述べている

ように、本実験においても、部位的並びに全般的陽性率を比較すると必ずしも、その利用を必要としないように思われる。

G. 凍結切片標本における Succinic dehydrogenase 活性について

胃癌組織、癌転移リンパ腺、非癌組織より凍結切片を作製し、それらの酵素活性度の強弱、特に癌群と非癌群とにおける酵素作用の差を比較した。(第12表)

第12表 癌及び非癌組織の凍結切片における SDH 活性率

	陽 性	弱陽性	陰 性	計
胃 癌	14 73.7%	4 21%	1 5.3%	19
癌 転 移 リンパ腺	12 92.3%	0	1 7.7%	13
非 癌	0	2 12.5%	14 87.5%	16

SDH 作用により、凍結切片に見られる TPF の色調は、脱落細胞内に見られる色調とは、少し異なつた感じを与える。すなわち、細胞内顆粒は帯紫紅色でむしろ暗いが、凍結切片では赤～紅色で、明るい感じの色調を示す。

癌群では、19例中14群に、癌巢の明らかな着色を認め(陽性、73.7%)、4例は癌巢の着色が微弱(弱陽性、21%)。残り1例には全く活性は見られなかつた(陰性、5.3%)。すなわち、胃癌19例中18例の癌巢に、多少とも SDH 作用による赤色の着色が認められた。また胃癌転位リンパ腺13例中12例に、癌巢の着色を認め(92.3%)、1例に陰性(7.7%)であつた。

非癌群では、粘膜或いは潰瘍部に、癌巢の着色の如き著明な染色を示すものはなく、殆んど(87.5%)無着色のままにとどまる。ただ16例中2例、すなわち12.5%に弱陽性の反応を示すものがあつた。この弱陽性2例中の1例は、十二指腸潰瘍及びそれに続発したと思われる慢性胃炎、1例は胃潰瘍の症例であつた。また、非癌の SDH 活性の分布状況に特徴的なものがなく、慢性胃炎、十二指腸潰瘍及び胃潰瘍等を相互に区別することは全く不可能であつた。

以上の成績は、非癌胃凍結切片よりも、胃癌凍結切片において、SDH 活性度が、より高く現われる(12.5% : 94.7%) 場合が多いことを示している。このことは、またすでに述べた如く、TPF 顆粒細胞は非癌胃液からよりも、癌胃液の方が遙かに高い発見率を示

す(陽性、疑陽性を合せて、18.7% : 87.5%)ということと相まつて、癌組織と TPF 顆粒細胞との間に、代謝学的に密接な関係のあることを暗示している。更に胃癌において、胃液中の脱落細胞に見られる SDH 作用と、癌凍結切片に見られる、SDH 作用の発見率を比較すると、87.4% : 94.7%で、凍結切片における SDH 活性の方が高く現われる。この理由は、おそらく脱落した細胞が、胃液その他の影響を受けて、次第に癌母組織より酵素活性度が低下するに反し、剔出組織は常に新鮮状態で検査されるためと考えられる。

癌の病理組織学的な所見によつて、凍結切片の SDH 活性度、及び分布状態には、次の如く多少の差が見られた。

単純癌： 酵素活性は、癌の浸潤領域に瀰漫性に認められる。特に、癌浸潤の辺縁部においては、屢々高度の活性を示し、時には間質に TPF の針状結晶の沈着を認めた。一般に単純癌では、他の癌と比較して SDH 活性がかなり強く現われる傾向を示した。ただし間質の非常に多い硬性癌では、SDH 活性は殆んど常に低下している。(第6図)

扁平上皮癌： 癌胞巢に殆んど一樣な、微弱な着色を認めた。間質との着色境界は明瞭である。ただし症例が1例のみであるので追試を要する。

腺癌： 腺様構造の癌細胞に、種々の程度の活性を示す。特に多層の癌細胞から構成されている腺癌では、底部及び体部下方 $\frac{1}{2}$ の部分に屢々高い活性を示す。また腺癌の横断面については、腺腔に面した細胞よりも、基底膜に近い部分に活性度が高い。間質と癌巢の染色性の差は明瞭である。(第7、8図)。

同一の胃切除標本から採取された癌組織、及び非癌組織の SDH の活性度分布を調べると第13表の如くであつた。癌においては、

a 部(癌の中心部)に最も強い活性を示す場合 15.8%。

b 部(癌辺縁部より未癌化部への境界附近)に、最も強い活性を示す場合 47.4%。

a 部、b 部共に一樣な活性を示す場合 31.5%、活性分布は必ずしも一定ではないが、約半数の場合に、癌の種類に如何にかかわらず、発育の最も強いと考えられる b 部に強い活性を示したことは興味深い。

癌転移リンパ腺の無固定凍結切片は、普通の胃組織、或いは癌組織の凍結切片より、切片操作が容易であるため、良い標本を作ることが出来る。

リンパ腺実質は多くの場合、活性を示さないが、時には微弱な活性を認めることもある。いずれも癌細胞

第13表 癌及び非癌組織における
部位的な SDH 活性率

	—	■	■	■	計
非癌	87.5%	0	0	12.5%	16例
転移リンパ腺	7.7%	92.3%	0	0	13例
癌	5.3%	15.8%	47.4%	31.5%	19例

-  : a 部 b 部ともに活性を示さぬ。
 : a 部が b 部より強い活性を示す。
 : a 部のみ活性を示す。
 : b 部が a 部より強い活性を示す。
 : b 部のみ活性を示す。
 : a 部 b 部ともに活性を示す。

はリンパ腺実質よりも高い活性を示し、実質内の癌転移巣は、酵素活性の差により明瞭に識別することが可能である。(第9図)

非癌群の部位的な SDH 活性状態は、一般に a 部、b 部、c 部(正常粘膜部)には共に活性を呈しないことが多い(87.5%)。弱陽性を示した症例においても、瘢痕状となつた潰瘍中心部には活性を認めないが、粘膜部には一様に微弱な活性を認めた。更に、癌或いは非癌にかかわらず、筋組織、脂肪組織は屢々着色を示す。特に脂肪組織は殆んど常に、著明に着色する。着色は組織切片外に遊離した脂肪小滴にも見られる。

これらの着色は、いずれも粘膜、筋組織、または癌巢の着色と異なり、明るい帯黄紅色～橙色で、色調から容易に判別することが出来る。脂肪組織、遊離脂肪滴の着色は、その等自身の中に存在する SDH 作用によつて起つたものではなく、切片の製作に際し、破碎された細胞から溶出した SDH が、切片周囲において TPT を還元し、生じた TPF はリポイド可溶性であるため、脂肪組織、脂肪滴に吸着されたものと考えられている(Shelton, Schneider²⁶⁾, 御園生, Goebel & Puchtler²⁷⁾。

2. 固定標本における胃癌の組織化学的検索成績

固定標本における胃癌の酵素系の研究では、Alkaline Phosphatase (以下 Al-Pase と記す)、及び Acid Phosphatase (以下 Ac-Pase と記す)、についての所見は、すでに報告されつくした感があるので、本項では Phosphamidase (以下 P-amidase と記す) 及び既述の SDH の部位的な酵素活性の対比を主体として、他の Alk-Pase, Ac-Pase を附随的に取り扱つた。以下に行つた染色法は次の如くである。

1. Alkaline Phosphatase 高松法²⁸⁾

2. Acid Phosphatase Gomori 法²⁹⁾

3. Phosphamidase Gomori 法³⁰⁾

剔出標本を直ちに適当な大きさの組織片として、氷冷アセトンで1時間固定、組織片の両面を整えてから、無水アセトン(無水芒硝使用)にて脱水24時間後に、パラフィン包理を行つた。パラフィンは融点 48°C のものを使用し、包理は 52°C、1 時間で完了する。かかる低温での包理は、特に P-amidase の染色性に対して良好な結果をもたらしたが、夏季においては刃及びブロックの冷却をもつてしても室温での薄切はかなり困難である。

また病理組織学的な分類のためには、同じアセトン固定の切片について、H-E 染色を行つた。SDH については、既述の方法によつて得た成績を、他の酵素系と対比しながら吟味を行う。

標本の部位的な名称は(第2表)に示された規約に従ふ。ただし癌巢乃至潰瘍から正常組織に移行する b 部では、粘膜組織(m. mucosa より上部)と粘膜下組織(m. mucosa より下部)とでは、屢々酵素活性度が異なるので、夫々 b_m(b. mucosa), b_s(b. submucosa)に分けて観察を行つた。リンパ腺においては、a 部は癌細胞巣、b 部はリンパ腺実質を指すものとする。胃粘膜は全層を4層に分けて観察した。すなわち、粘膜の最表層を第I層、胃腺頸部を第II層とし、胃腺体部は、2分して上部を第III層、最底部を第IV層として記載する。

各部における酵素活性の分布は、癌細胞巣及び胃腺細胞(上皮性成分)と間質(非上皮性成分)とに分けて別個に観察を行つた。個々の標本所見についての詳しい記載は省略するが、各酵素の活性分布は、一括して[表14, 15, 16]に表示した。各部における酵素活性の程度は(第13, 14表)に示された記号に従つて、同一症例の各部の染色性を視学的に比較して決められたもので、肉眼的に可能な範囲において、H+, H-, +, -, を区別した。

A. Alkaline Phosphatase (Alk Pase)

Alk Pase は、原則として癌細胞及び正常胃腺上皮に活性を示さない。(第10図)

稀に胃液及び潰瘍癌の b 部において、癌細胞、或いは胃粘膜上皮のいずれか一方、または両者共に陽性に認められるが、活性度は強くない。この場合、癌細胞の活性度は中心部に近づくに従つて低下する。胃粘膜上皮においても、b 部から遠ざかるに従つて、活性が低下し、癌細胞及び前癌変化のない c 部では、普通活性を示さない。ただし粘液癌及び、癌細胞が部分的に粘液変性に陥つた場所では、常に Alk Pase 強陽性を

示した。(第11図 a, 第11図 b)。硬性癌の如く, 間質結締織の増殖が強い部位, 胃潰瘍における潰瘍底及び潰瘍縁の如く結締織の増生が著しい部位には, 屢々活性が強く現われる。(第12図)

その他, 腺腔内の無形物質, 腺腔に面した上層の腺細胞, 粘膜, 筋層内の血管及び毛細血管の内皮細胞, 孤立リンパ小節等に種々の程度の活性を認めるが, リンパ小節の胚芽中心では, 屢々活性を欠く。

癌転移リンパ腺においても, 癌細胞には通常活性が認められない(第13図)が, 粘液癌の転移及び粘液変性のあるときは強陽性を呈した。(第14図)

リンパ球の多くは陰性であるが, 胚芽中心の周囲に陽性のことがある。梁柱は部分的に陽性を示す。

B. Acid Phosphatase (Ac. Pase)

特別な変化のない胃粘膜の上皮性要素における Ac. Pase の態度は, 陰性乃至陽性で, かなりの範囲に変動する。癌細胞においては, 大部分が中等度陽性, または強陽性でAc-Pase の著明な増加を示した。特に a 部の癌細胞は, 他の部分の癌細胞よりも濃染する傾向がある(第15図)。b 部における Ac-Pase の活性を (b_m) と (b_s) とに分けて観察すると, 胃潰瘍では, 潰瘍部及び b_s 部の染色性には特別の所見は見られないが, b_m 部, すなわち潰瘍縁を形成せる粘膜部分には, 他の部分よりも活性の増強を認めることが多い。(第16図)。しかし癌では, b_s 部に屢々他部よりも強い活性を示すことがあるのに, b_m 部の活性には特異な変化を伴わない。

b_s 部におけるこのような所見は, 潰瘍より癌化したと思われる比較的初期の癌に典型的に見られたが, 潰瘍より癌化する場合は, “粘膜筋層及び固有筋層が断崖状に欠損を見せている部” から癌化するという久留(1953)の主張と, 場所的に一致しているのは極めて興味深い。非上皮性要素の活性は, 一般に微弱か陰性であるが, 癌細胞附近の非上皮性要素は, 癌巢から隔つた部分のそれよりもかなり濃く染まる傾向がある。また非癌の間質要素の活性度は癌の場合のそれよりも, 更に微弱か陰性であることが多い。

リンパ腺に転位した癌胞巢は, 一般に周囲のリンパ組織より濃染する(第17図)。

リンパ球の活性は, はなはだ不定で, 胚芽中心に比べると陰性のこともあり, 濾胞周辺のリンパ球と同様に陽性のこともある。しかも強陽性を呈する癌胞巢附近のリンパ球は多く共に濃染する(第18図)。

C. Phosphamidase (P-amidase)

本酵素は, 正常な胃組織及び胃潰瘍, 慢性胃炎, 十二指腸潰瘍等の非癌組織には全く活性を示さないが,

時には胃粘膜上皮に弱陽性の活性を証明する場合がある。(第19図)

胃癌組織では一般に癌細胞に強い活性が証明された(第20図)が, 少数例には同様な切片処理にもかかわらず, 全く癌巢に活性を証明しなかつた。Gomori³⁰⁾, Meyer, Weinmann³¹⁾等は, 癌細胞に強い活性を認めているが, Foraker³²⁾はある場合にはかえつて癌細胞の活性が非癌細胞よりも弱いことがあると述べている。

第14表 非癌胃組織における部位的な諸酵素活性分布

	Alk-Pase	Ac-Pase	P-amid	SDH
	a b c	a b c	a b c	a b c
慢性胃炎	=====	=====	=====	=====
十二指腸潰瘍	=====	=====	=====	=====
胃潰瘍	=====	=====	=====	=====
胃ポリープ	=====	=====	=====	=====

- : 陰 性
- : 弱 陽 性
- : 陽 性
- : 中等度陽性
- : 強 陽 性
- : 粘膜部における活性
- : 粘膜下部における活性

上図では粘膜部分 b 部に活性陽性, c 部に陰性, 粘膜下部分 a 部に陽性, b 部に中等度陽性, c 部に弱陽性であることを示す。

第15表 胃癌における部位的な諸酵素活性分布及び代謝学的分類

I群：Alk-Pase (-), P-amidase (-) II群：Alk-Pase (-), P-amidase (+)

■：b部粘膜の各層における酵素活性分布を示す。上部から, I, II, III, IV層

III群：b部の Alk-Pase (+) IV群：a部b部とも Alk-Pase (+)

	Al-Pase			Ac-Pase			P-amid			SDH		Al-P	Ac-P	P-am	SDH	初 発 発 生 腸 上 皮 粘 液 癌 化 層 母 地 化 性 萎 性
	a	b	c	a	b	c	a	b	a	b	b					
I 群	硬 性 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV gast-K (-) (-)
	扁 平 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV? ? (-) (-)
II 群	硬 性 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV UI-K (-) (-)
	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	? ? (-) (-)
III 群	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV gast-K (+) (-)
	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV UI-K (+) (-)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	I-II Polyp-K (++) (-)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	I-II gast-K (##) (-)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV gast-K (##) (-)
	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV UI-K (++) (-)
IV 群	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III Polyp-K (##) (-)
	硬 性 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	? UI-K? (++) (-)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV UI-K (-) (-)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV UI-K (++) (+)
	穀 子 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV UI-K (++) (-)
	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV gast-K (##) (++)
V 群	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV Polyp-K (+) (-)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III ? UI-K (##) (++)
	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	IV ? UI-K (++) (-)
	硬 性 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	? UI-K (+) (-)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV gast-K (+) (++)
	単 純 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	I-II UI-K (++) (+)
VI 群	硬 性 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	I-II gast-K (##) (-)
	粘 液 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	I-II gast-K (##) (##)
	円 柱 上 皮 癌	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	III-IV UI-K (##) (-)

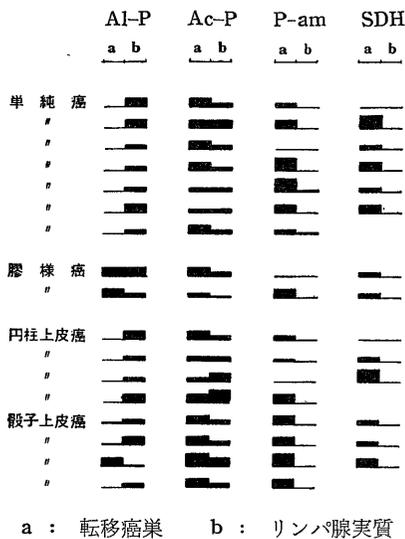
部位的な活性度については、粘膜の再生機能が昇進している胃潰瘍の辺縁部、すなわち b_m 部において、比較的明瞭な活性を認めることがある。(第21図) また癌細胞巢では a 部、b 部とも、殆んど同率に濃染し、全般的には、いずれに活性がまさるともいいがたい所見を呈した。(第17表)

P-amidase 活性は、このように癌細胞と胃腺上皮

とにおいて、著明な差異を示すが、非上皮性間質成分については、癌、非癌に関係なく、如何なる部分にも活性を示さない。時によって、非上皮性細胞の核に痕跡的な活性を示すに過ぎない。

リンパ腺に転移せる癌細胞の P-amidase 活性も、ほぼ同様に癌細胞に卓越せる活性を示し、リンパ腺実質との対比が著明であった。(第22図)

第16表 癌転移リンパ腺における
部位的な諸酵素活性



第17表 癌及び非癌組織における
部位的な P-amidase 活性率

	—	■	■	■	—
慢性胃炎十二指腸潰瘍	80%	0%	0%	20%	5例
胃潰瘍	40%	0%	50%	10%	10例
リンパ腺転移	17.6%	82.4%	0%	0%	17例
胃癌	24%	20%	28%	28%	25例

癌の種類による活性度の変化には、著明な差が見られなかつたが、標本中、組織学的に悪性と思われる部位では一般に P-amidase の活性が高くなつており、Gomori の記載と一致するのを認めた。また Gomori によれば、Colon form の polyp は良性であつても、P-amidase は強陽性であると報告しているが、私の胃ポリープの1例では、中等度陽性の成績を得た。(第23図) これらのポリープは、いずれも臨床的に癌化の傾向が大であるため、前癌状態とも考へべきものであるが、かかるものに活性の増強を来たすのは意義深い。

考 案

以上の成績を綜合考察するに、一般に悪性腫瘍細胞に、SDH 活性が増大しているのが認められる。

しかしこの活性度の増加は、部位的には癌の發育体に強く見られたが、必ずしも一定したものではなく、またその強さは全く様々であつた。このように、屢々癌巢に明瞭な局在性を示しながら、一方においては全

く反応を呈しない場合がある。このことは、癌の種類によつて、その保有する SDH の量が異なるためであるが、その外に SDH 反応に多くの未数の因子が加わつていゝることを見逃すことが出来ない。すなわち Kun & Aboud (1949)³³⁾ は、Diphosphopyridine nucleotide (DPN) の媒介なしに、Cytochrome と直接連鎖を有する SDH が Tetrazolium 塩を還元することを述べているが、Slater (1948)³⁴⁾ は、SDH と Cytochrome との間に Flavoprotein が媒介することを推定し、また Shelton & Schneider (1952)²⁰⁾ は Crystalline lactic dehydrogenase, Alkohol dehydrogenase が Tetrazolium 塩を還元せず、一方 Xanthine Oxidase, Diphosphopyridine nucleotide, cytochrome が Tetrazolium 塩を還元することから、他の何らかの助酵素を必要とすることを推定している。これらの反応機構が明白にされるためには、純化された SDH を使用しての基礎的実験が必要とされる。従つて、この酵素の純化が未だ充分でない現在においては、種々の実験成績も一つの指標的な意義しか有しないともい得ようが、なお臨床的な診断に価値なしとしないものもある。

御園生、伊沢、浅井¹⁴⁾等は、腔分泌液中の細胞に TPT による超生体染色を行い、子宮癌の場合に赤色顆粒を有する細胞が高率 (94.2%) に見られるが、非癌の場合には陰性であることが多く (的中率 89.3%)、従つて子宮癌の診断に利用することが出来ることを報告している。更に顆粒細胞は、子宮癌の組織中にも見られ、特に癌細胞の変性部、炎症の強い部分に多く出現し、フォルマリン固定による Sudan III 染色に際して見られる顆粒細胞と全く同一の所見を呈することを示した。しかし、御園生等の記載による顆粒は、恐らく Zweifach (1951)³⁵⁾, Shelton & Schneider (1952)²⁰⁾ が、ラッテ及び犬の副腎、或いは腎盂に見出したような脂肪滴の染色したものも含まれているようである。

浜崎¹⁶⁾等は、胃癌、直腸癌の腫瘍肺胞内に、多数の TPF 顆粒を認め、更に実験的に吉田肉腫を移植した場合、漿膜細胞が腫瘍化するに従つて、顆粒が出現するのを観察した。この顆粒は RNA に富み、少量のリポイド、グリコーゲンを含有するが、中性脂肪や他の多糖類を含有しないと報告している。

RNA が癌細胞に増加していることは、青木³⁶⁾, 杉本³⁷⁾, 谷口³⁸⁾, 三富³⁹⁾によつて知られている。特に未分化な癌細胞において、核の周囲に RNA 濃染を認めるという谷口の報告は、TPF 顆粒細胞に見られる顆粒が、核の周囲に密集、濃染すること及び浜崎の

第18表 各種の細胞学的診断法における癌の中率

診断目的	検査材料	材料採取法	染色法	癌の中率	非癌の中率	報告者	報告年度
胃癌	胃液	Balloon法	P氏法	88.3%	93.5%	黒川	1956
"	"	ゾンデ法	"	73.1%	96.4%	湯川	1956
"	"	Balloon法	"	79.0%	84.2%	信田	1956
子宮癌	腔分泌液		TPT法	94.2%	89.3%	御園生	1953
胃癌	胃液	ゾンデ法	"	87.5%	81.3%	大橋	1958

RNA の報告と関連して興味深い所見と考えられる。かように顆粒の本態については、なお不明な点が多いが、本実験においても、顆粒の発現が、細胞内酵素作用に直接の関係を認めないという御園生等の報告よりも、細胞内の脱水素酵素作用によって TPF 顆粒が現われるとする浜崎、杉本等の記載に、より多くの一致点を見出した。

細胞学的並びに細胞化学的な癌診断法の応用価値を考察するため、Papanicolaou 法、その他と TPT 法の成績を比較すると(第18表)の如くで、胃癌における中率は子宮癌ほど高率ではないが、十分に臨床的に利用し得るものである。また TPT 法の中率は、従来の諸染法と比較して、何らの遜色を感じない。なお、早期診断の可能性については、いずれもあまり論じられていないが、本実験で TPT 法を行つた症例中、普通に行われる臨床検査から胃潰瘍と診断され、手術標本も肉眼的には潰瘍を思惟せられたにもかかわらず、術前 TPF 顆粒細胞を発見し、術後の組織学的検査により初期の腺癌を発見したものの1例、慢性胃炎の臨床診断で手術されたが、術前 TPF 顆粒細胞を発見し、剔出標本では肉眼的に粘膜の萎縮のみで特別の所見を認めないのに、組織学的検査により、ごく初期の単純癌を発見したものの1例がある。とにかく、TPF 顆粒細胞を示標として、早期の胃癌2例を指摘し得たことは特記されてよい。その他の症例は、いずれもレ線その他の臨床検査により胃癌の診断が出来たものである。癌の初期においては、当然正常な脱落細胞に比して、腫瘍細胞の脱落は極めて少ないと想像されるが、かかる条件において、胃液から悪性細胞の発見を試みることは、成績が向上しないばかりでなく、時間的にも不利であろう。癌巢の浸潤拡大と同時に、陽性率も向上するであろうが、ある程度以上の拡がりをもつ癌に対しては、発見されたとしても最早、臨床診断上の価値を失うのであつて、少なくとも手術に意義がある間に診断し得ることが必要であり、今後の研究を要する。腫瘍の大きさや発見率は、根本的に対立した問題であるが、現在の所この問題を解決すべき唯一の方法

は、細胞学的検査を反覆するという以外に見出せないようである。同一材料から得た組織切片、腫瘍細胞でもその染色性にかかなりの変動を認めることは、すでに述べた如くであるが、特に凍結切片の際には、切片の厚さが染色性に重大な関係を有する。

Zweifach, Black & Shorr⁴⁰⁾, Foraker³²⁾ は、0.5~0.1mm の組織片を反応完了後に、ホルマリン固定、凍結切片として標本を製作している。しかしこの方法では、組織片の表層と中心部の染色性は著しく異なるので、これから作られた凍結切片は、その切られた場所により酵素活性様相が著しく相違する。

Seligman & Rutenburg (1951) は、組織塊或いは組織小片を用いて反応を行うとき、琥珀酸ソーダを加えなくても、TPT の還元が行われると述べているように、生理的に存在する組織内の基質を利用して、種々の脱水素酵素作用が非特異的に起ることも考えられる。従つて組織塊のまま incubate するのは好ましくない。実際に、この方法で染色した組織塊の表面から得られた切片は、殆んど一様な染色性を示し、局所的な酵素活性の差を観察するには、不適當であつたし、また中心部から得られた切片ではあまりにも少ない活性を示した。従つて、この方法で行われた2~3の例は、実験成績から除外してある。

これに反し、同一材料から得られた無固定凍結切片を incubate する場合には、染色性の強弱はあるが、本質的な活性分布の相違は認められない。この場合染色性の強弱は全く切片の厚さに関係し、厚く切られたもの程、高い染色性を示す。従つて、実験のためには、切片の厚さをほぼ一定にしておく必要がある。Seligman & Rutenburg (1951) は、BT を使用した実験において、切片の厚さ 8 μ では、すべて染色に失敗し、10~15 μ では 40~60%、20 μ では 20% に染色が起らないが、30~40 μ ではすべてに染色が見られたことを述べている。脱水素酵素に対する Tetrazolium 塩の反応性は、その種類と、検索臓器とによつて異なるが、本法によつて胃癌凍結切片の染色を行う場合は、切片の厚さは、大体 30~50 μ が適當である。切

片が厚くなると、染色性は向上するが、構造の観察が困難になる不便がある。TPT の腫瘍組織に対する特殊性について、Frangenheim¹⁴⁾ は、手術的に得られた悪性腫瘍細胞の%は強い活性を示したが、他は発色が弱いかまたは全く認められなかつたことから、TPT は一つの組織化学的な還元指示薬にすぎないとしている。Doerr⁴¹⁾ (1950), Seligman, Gofstein & Rutenburg (1949), Smith (1951)⁴²⁾ 等も腫瘍細胞に種々の反応性を認めているが、TPT に特殊な意義を認めていない。良性組織が発色することについて、Meyer (1950)⁴³⁾ は、悪性変化のない組織においても、わずかの嫌氣的解糖が行われるため、TPT の還元が起り着色すると説明している。TPT の発色機序や腫瘍細胞の代謝学的な多様性から考えても、またすでに述べた実験成績から考えても、TPT は悪性腫瘍に特異的に作用する物質ではなく、寧ろ悪性腫瘍の内在的な代謝過程の一面を組織化学的に表示する指示剤と考えるのが妥当である。しかし、TPT に腫瘍特異性がなくても間接的に、癌の診断に充分利用し得ることは、すでに述べた通りである。

次に癌の発生母地を推察するため、癌巢に相隣接する胃組織 (b部) を観察することが重要である。例えば、組織化学的に、代謝異常の有無を観察して、前癌状態の様相を知るためにも極めて重要な意義をもっている。SDH は、屢々b部に増大しているが、前癌状態を云々するのはこれのみにはなお不十分で、Cytol, RNA, DNA, Alk-Pase, Ac-Pase, P-amidase 等の染色を必要とする。

胃癌の組織化学的研究の詳細な報告を行つた教室三富は、Cytol と P-ase の活性分布から、代謝学的に胃癌をIV群に分類したが、本実験では、SDH, P-amidase と Alk-Pase の活性を示標として、代謝学的な分類を試みることにした。Cytol は普通、癌細胞に減少 (ただし粘液癌では増加) し、Alk-Pase と類似した関係を有するが、P-amidase は、これと全く反対で、癌細胞に活性の増大を示し、且つ、その活性度は、大体癌の組織学的な悪性度に比例するのが見られる。従つて組織化学的な分類のためには、寧ろ有利な立場にあるということが出来る。ただ染色成績に多少の不定な所があるのが欠点であろう。

癌胞に対する Alk-Pase, P-amidase の態度から、癌を分類すると、次のIV群に分類することが出来る。(第15表)

第 I 群

Alk-Pase (—), P-amidase (—),

P-amidase の活性が殆んど見られない少数例の癌

がこれに属する。同一操作により、同時に染色せる場合でも、ある標本には P-amidase 陰性のことがある。ただし、この原因は全く不明である、これらの組織に、本質的に P-amidase が減少しているのか、また、不明の原因により減少した如くに見えるのか、この点定め難い。

Eger & Schulte (1954)⁴⁴⁾ は、新鮮凍結切片を使用すれば常に一定した活性を得ると報告しているが、固定標本では、恐らく Gomori 自身が指摘しているように、なお、酵素機構に不明な所が存するものと解される。この群に属する癌は、Ac-Pase の活性も低い傾向を示し、またb部、c部では、腸上皮の化生は殆んど見られないか、あつても極めて少なく、癌細胞の粘液変性に陥れるものを見出さないのが普通である。

第 II 群

Alk-Pase (—), P-amidase (+),

組織化学的には、最も普通の癌の型と考えられる。この型には単純癌、腺癌共に属するが、癌巢より正常粘膜への移行部附近では、多少、腺癌の単純癌化、単純癌の腺癌化の如き混合像を示す場合がある。Alk-Pase は癌細胞には陰性であるが、b部、c部の胃腸上皮、腺窩内分泌物に強陽性を示すことがある。かかる部位では、常に種々の程度の腸上皮の化生、分泌亢進像を認めた。この群の癌細胞にも、粘液変性が見られないのが普通である。なお P-amidase は化生腸上皮、腺窩内分泌物に特別の活性を示さない。

第 III 群

b部の Alk-Pase (+), (P-amidase (+))

Alk-Pase 弱陽性を呈するものも、この群に含まれる。この群に属する癌は、第I群の癌と同様に、形態学的には他の癌への移行像が少ないが、腸上皮の化生は中等度に認められ、また癌細胞に粘液変性を起しているものがある。臨床的には、潰瘍から癌化したと思われるものが多く、且つ、癌の進行度からいえば、比較的早期のもの、或いは、短期間内 (1年以内) に癌化したと思われるもの等が属している。しかし、このことは、必ずしも癌の良性を意味しない。Alk-Pase は、潰瘍の際に屢々b部での活性増加を来たすが、潰瘍から癌化した場合も、なお或るものは、b部に多少の活性を残存し、癌化前の性状の名残りをとどめているものかと判断される。

第 IV 群

a部、b部の Alk-Pase (+), (P-amidase (+))

この群に属するものは、組織学的に著明な悪性像を示すものが多い。すなわち、粘液癌、単純癌であるが、部分的に癌細胞の粘液変性が著しいもの、癌細胞

の大小不同性が特に目立つもの、正常粘膜下までに広汎な癌細胞浸潤を呈するもの等である。この群の癌も、単純癌の腺癌化、腺癌の単純癌化といった傾向を示すが、屢々、第Ⅱ群よりも強く見られる。b部、c部の腸上皮化生も著明である。

以上の如く、各群の癌は組織化学的並びに臨床的にかなり特徴的な所見、性状を有する。一般に第Ⅰ群は、組織化学的に低調な、従つて發育の遅い癌と考えられ、臨床的にも長い経過をとつている。しかし第Ⅳ群は、すべての点で最も悪性で、特に癌細胞に Alk-Pase 陽性の場合には、癌細胞の粘液高性傾向が大きい。Ac-Pase, P-amidase は、粘液癌傾向に対して、特別の指示を与えないが、共に粘液には活性を欠くか、または低いため、胞体全体としては寧ろ明るく見える(第24図)。粘液癌傾向を有する癌は、第Ⅲ群にも含まれているが、これらは、いずれも単純癌、または一部に腺癌化傾向を有する単純癌に見られることが多い。Schmidt (1896)⁴⁰⁾ は、胃の粘液癌の多くは腸上皮から生ずると述べているが、胃癌の場合には、胃粘膜の萎縮性変化、及び腸上皮化生を伴うことは、古くから知られており、慢性胃炎が胃癌發生母地となり得ることも多くの学者により報告されている。

(Konjetzny⁴⁶⁾、久留⁴⁷⁾、高瀬⁴⁸⁾。慢性胃炎の重要所見である腸上皮の化生は、胃粘膜上皮の第Ⅰ層において最も著明で、高度となるに従い、全層に瀰漫性に認められるが、かかる部位の腺腔内分泌物は、屢々 Alk-Pase が強陽性を示し、腸上皮化生を来させる胃腺細胞にも活性の増大を認めることがある。(第28図)

Ac-Pase, P-amidase は、分泌物、腸上皮化生細胞のいずれにも、正常な胃腺細胞と比較して特別の活性を示さない。

胃腺における初発癌化部位については、胃癌の發生母地との関連において考えらるべきもので、単に組織化学的な活性の増減、或いは H-E 染色のみによつて

初発癌巣を推定することは、かなり困難である。この目的のためには、常に両者を併用することによつて、前癌領域の拡がり、腫瘍の發育方向、活性度、發育帯における癌化部位、及び活性部位等を考察し、且つ、H-E 染色から得られる組織構造所見と理論的に矛盾しないことが必要である。このような觀察のためには、常に癌の發育帯附近の数個所から作られた標本について、b部の觀察を行うことが最も肝要であつて、癌の中心部から作られた標本では、全くその用をなさない(第25図)。かかる吟味が Alk-Pase, Ac-Pase, P-amidase の3標本について行われたもの12例、Alk-Pase, Ac-Pase, P-amidase, SDH の4標本について行われたもの8例、全く不能のもの3例であつた。これらの癌の發生母地を、久留の分類に従つて、病歴及び組織標本所見から考案し、更に H-E 染色、組織化学的染色による上述の吟味を経て、胃腺部分における初発癌化傾向を示すと、第19表の如くであつた。すなわち組織化学的、並びに形態学的には、胃腺底部附近より癌化すると考えられるものが多かつたが、一方胃腺頸部より癌化することが多いとの説もある。ここに行われた組織化学的方法の中で初発癌部位の推定を与える最もよい染色法は、P-amidase と SDH であつて、両者の b_m 部における活性部位は大体一致して現われるため、更に相補つて觀察し得る利点がある。特に b_m 部の癌巣に隣接した胃腺においては、組織学的に癌化の証明が未だ困難な時期においても、屢々両者の活性が相伴つて陽性に現われる(第26図)。従つて、b_m 部のⅠ～Ⅱ層、またはⅢ～Ⅳ層に、かかる組織化学的前癌変化ともいふべき代謝異常所見を認めた場合、まず、Ⅰ～Ⅱ層、またはⅢ～Ⅳ層から癌化する傾向が大であると判断してよいであろう(第27、28図)。しかし、ある大きさに達した癌腫の發育帯における癌化傾向が、果して癌の充分初期においても同様であつたかということは明らかにされていない

第19表 初発癌化層についての吟味

P 群 : Alk-Pase, Ac-Pase, P-amidase による吟味

P-S 群 : P 群及び SDH による吟味

	Ⅰ-Ⅱ層		Ⅲ-Ⅳ層		層不確実 P 群	不 明
	P 群	P-S 群	P 群	P-S 群		
潰瘍癌	1		3	3	2	3
胃炎癌	2	1	3	3		
ポリープ癌その他	1		1	1	1	
計	5		14		6	

が、發育体のどの部分においても、同一材料であれば、ほぼ類似した癌化傾向を有すること、また、腫瘍組織は何らかの形で発生母地の性状を保持するということを重視したい。

癌細胞の代謝異常をかなり特徴的に表示する組織化学的方法としては、すでに述べた如く、SDH 増量（正常な上皮細胞に認められることなく）、P-amidase 増量（正常上皮細胞に陽性となることあり）、Ac-Pase 増量（減少するとの説がある）、Alk-Pase 減少（粘液癌傾向のものに増量）等、更に文献によれば、RNA、DNA の増量、 β -glucuronidase の増量、ATP-ase の増量、Peptidase の増量、Cytol 物質の減少等が報告されている。

以上のような癌の詳細な代謝学的分類は、近い将来において、癌の化学療法の面から更に要求されることになる。組織学的に同型の癌であつても、抗癌物質に対する感受性が屢々異なつていているということは、恐らく癌の内在的な代謝系の相違に関係すると考えられるからである。しかし、癌細胞に特異的な代謝系が、発見されておらず、また特異的に親和性を有する染色剤も存在しない現在、如何なる組織化学的検索を、どのような組合せにおいて行ふか、ということが重要である。この点更に今後の有利な組織化学的方法の創案を期待したい。

結 語

1. 胃癌 48 例（胃癌転移リンパ腺含む）、非癌 17 例（慢性胃炎 4 例、胃ポリープ 1 例、胃潰瘍 10 例、十二指腸潰瘍 2 例）について、イ）胃液に関し、胃液内 SDH 価定量、TPF 顆粒細胞の検索を行つた。

2. 胃液内 SDH 価は、胃癌胃液において増大することがある。3）に記すように、一般に胃癌組織の SDH 能は増大するが、胃癌胃液における SDH 価の増大は、胃癌組織のそれによるものでない。それは全く、胃癌胃液内に増加せる細菌の有する脱水素酵素能によるものである。

3. 胃癌胃液内に見出される殆んどすべての細菌は、著明な脱水素酵素能を有する。一般に、胃癌胃液内には、非癌胃液内よりも多くの細菌が見出され、逆に細菌数の測定から、ある程度の癌診断が可能とされている。同様な理由から、胃液内（の細菌による）脱水素酵素能を測定することにより、簡単にある程度の癌診断が可能である。臨床試験的には、胃液の TPT 還元量が 0.02mg/ml 以上となるとき、癌の疑いが濃厚である。

4. 胃癌胃液内に脱落した上皮性細胞内に、屢々

TPT 還元により発色した、TPF 顆粒を認める。このような TPF 顆粒細胞を、5 型に分類して、記載した。TPF 顆粒は、癌化に伴う脱水素酵素能の増大（或いは胃癌の代謝過程）において、出現するものと考えられる。それによる、胃癌の的中率は 87.5%、非癌の的中率は 81.3%で、癌の臨床診断に充分利用し得る。従来同様な診断目的のために、Papanicolaou 法が推奨されているが、TPF 顆粒細胞では、細胞種の鑑別がより確実、且つ簡単で、的中率にも遜色がない。

5. 新鮮凍結組織切片による SDH は組織化学的証明を行うと、癌組織のそれは、強く増大していて、94.7%に染色陽性であつた。一方、非癌組織のそれは、低く、わずかに 12.5%に染色陽性であつた。その陽性例も、詳細に吟味すると、然るべき、理由原因を見出し得ることが経験された。

6. SDH 並びに P-amidase 染色は、癌化並びに前癌状態の判断に対して、すぐれた指示を与える。就中 SDH 陽性所見は、前記の如くに高率であり、P-amidase 陽性所見は、大略胃癌の悪性度に平行している。

その他、教室既往業績その他の文献をも考慮し、癌細胞に比較的特徴的に現われる組織化学的方法は：Cytol, RNA, 諸 P-ase, ATP-ase, β -Glucuronidase, Peptidase 等である。夫々の方法により、かなり高率に癌診断を行い得るが、唯一法で絶対的な診断を行い得るものがない。この意味において、諸種の方法を組合せて行い、診断確率を増大せしめることが望ましい。

7. 癌は、形態学的に分類されるのみでなく、代謝学的にも分類されるべきである。すべての癌は、いずれの例も同じ組織化学的な特性を示すものでない。この意味において、6）に証した諸法に基づいての検索、ひいては代謝学的分類が要とされる。この報告においては、就中、Alk-Pase, P-amidase, Ac-Pase SDH 染色による精査、分類を行つた。これによつて、胃癌に最も普通の 4 群に分類した。

8. 癌の組織化学的特徴を把握することによつて、前癌、癌初発巣等を定めることが出来る。この報告にあつては、就中、SDH 並びに P-amidase 染色によつて、すぐれた成績を挙げる事が出来た。

胃癌の初発巣は、多くは胃腺の所謂第Ⅲ～Ⅳ層の深層に見出され、少数例（前者の約 1/3 例において、胃腺の第Ⅰ層（すなわち、胃腺頸部）に見出された。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導を賜りました、石川教授に対し、深甚なる謝意を表す、

文 献

- 1) Papanicolaou, G. H. & Traut, H. F. :
Diagnosis of uterin cancer by vaginal smear.
New York 1943. 2) 黒川利雄・米村広・
宇留賀一大 : 手術, 10, 251, 1956. 3)
信田重光 : 日外会誌, 57, 684, 1956. 4)
小野譲・石川七郎 : 胸部外科, 6, 384, 1953.
5) 香月秀雄・大久保壽夫・額賀弘 : 胸部外科,
8, 266, 1955. 6) Semenoff, W. E. : Z.
Zellforsch, 22, 305, 1934~1935. 7)
Klett, A. : Z. Hyg, 33, 137, 1900. 8)
Kuhn, R. & Jerchel, D. : Berichte d. dtsh.
chem. Gesell., 74, 941, 1941. 9)
Pechman, H. V. & Runge, P. : Berichte d.
dtsh. chem. Gesell., 27, 2920, 1894. 10)
Straus, F. H., Cheronis, N. D. & Straus,
E. : Science, 108, 113, 1948. 11)
Schnerman, H. : Klin. Wschr., 464, 15, 1950.
12) Black, M. M. & Speer, F. : Am. J. Path.,
27, 743, 1951. 13) Frangenheim, H. :
Zbl. Gynae, 48, 1897, 1952. 14) 御園生
雄三・戸沢澄・浅井恒宏 : 癌, 44, 124, 1953.
15) 浜崎幸雄・小田修 : 癌, 45, 343, 1954.
16) Seligman, A. M. & Rutenburg, A. M. :
Science, 113, 317, 1951. 17) Rosa, C.
G. & Velards, J. J. : J. Histochem. & Cyto-
chem., 2, 110, 1954. 18) Gomori, G. :
Microscopic Histochem., Chicago, 1952.
19) Rutenburg, A. M., Wolman, M. & Selig-
man, A. M. : J. Histochem. & Cytochem., 1,
66, 1953. 20) Shelton, E. & Schneider,
W. C. : Anat. Rec., 112, 6, 1952. 21)
大原実・倉田自章・橋武彦 : 医学と生物学, 25,
111, 1952. 22) 斎藤省三 : 北海道医誌,
26, 39, 1951. 23) 芝茂 : 癌, 43, 87,
1952. 24) 御園生雄三・戸沢澄 : 癌, 46,
84, 1955. 25) 井内良三 : 日外会誌, 57,
783, 1956. 26) 河野賀通・村沢健介・大原
実 : 日病会誌, 28, 106, 1949. 27)
Goebel, A. & Puchtler, H. : Virchow's Arch.,
326, 119, 1955. 28) 高松英雄 : 満洲医
学雑誌, 29, 1351, 1938. 29) Gomori, G. :
Stain Tech., 25, 81, 1950. 30) Gomori,
G. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 69, 407,
1948. 31) Meyer, J. & Weinmann, J.
P. : J. Histochem. & Cytochem., 1, 305, 1953.
32) Foraker, A. G. : Surg. Gyne. Obst., 102,
1, 1956. 33) Kun, E. & Abood, L.
G. : Science, 109, 144, 1949. 34)
Slater, E. C. : Nature, 161, 405, 1948.
35) Zweifach, B. W., Black, M. M. & Shorr,
E. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 76, 446,
1951. 36) 青木貞童 : 癌, 45, 223, 1954.
37) 杉本顕俊 : 癌, 43, 221, 1952. 38)
谷口積三 : 臨床外科, 12, 917, 1957.
39) 三富京子 : 十全医会誌, 57, 281, 1955.
40) Zweifach, B. W., Black, M. M. & Shorr,
E. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 74, 844,
1950. 41) Doerr, W. : Frankf. Z. Path,
61, 557, 1956. 42) Smith, F. E. :
Science, 113, 751, 1951. 43) Meyer,
A. J. : Zbl. Path. 86, 92, 1950.
44) Eger, W. & Schulte, W. : Acta histochemica
1, 60, 1954. 45) Schmidt, A : Vir-
chow's Arch., 143, 477, 1896. 46)
Konjetzny, G. E. : Der Magen Krebs, Stutt-
gart Ferdinand, Enke, 1938. 47) 久留勝 :
日外会誌, 15, 1, 1952 : 久留勝 : 癌, 43, 137,
1952. 48) 高瀬武平 : 臨床外科, 9, 581,
1954 : 高瀬武平 : 日外会誌, 55, 754, 1954.

Abstract

In cases of stomach cancer and none cancerous stomach diseases such as ; chronic gastritis, stomach polyp, stomach ulcer and duodenal ulcer ; histochemical studies were performed for following problems :

- A. For stomach fluid
a. Quantity of succinic dehydrogenase (SDH)
b. Research of triphenyl-formazan granular cells (TPF-granular cells)
B. Enzymic research for cancer tissue
a. Succinic dehydrogenase
b. Alkaline phosphatase

c. Acid phosphatase

d. Phosphamidase

1. Quantity of SDH in stomach fluid frequently increases in cases of stomach cancer. However, this increasing of SDH quantitative value in cancer is not due to the influence of cancer tissue, but microorganisms which grow more in the stomach fluid of cancer than in that of gastritis or gastric ulcer.

2. Most microorganisms in stomach fluid have definite dehydrogenase activity. For this reason, stomach cancer is being diagnosed by the quantity of reduced triphenyl tetrazolium chloride in stomach fluid as well as by the count of bacterial number in stomach fluid.

In clinical test, if the quantitative value of reduced triphenyl tetrazolium chloride is more than 0.02mgm/ml, stomach cancer is suspected.

3. Some of the epithelial cells which desquamated into stomach fluid of stomach cancer have dark reddish or purplish reddish fine granules chiefly around the nucleus which are colored by reduction of triphenyl tetrazolium chloride (TPT).

These cells are named 'TPF-granular cell.' TPF-granular cells are classified into five types.

Most of the TPF-granular cells appear in increasing of dehydrogenase activity according to canceration or a metabolic process of stomach cancer. The diagnostic probability of stomach cancer as an indicator TPF-granular cells is 87.5% positive in cancer and 81.3% negative in none cancerous.

4. SDH activity localizes in cancer tissue with a high percentage (94.7% positive stain in cancer, 12.5% positive stain in none cancer), and phosphamidase activity is closely parallel with the malignancy of stomach cancer. These activities and localizations are utilized for presumption of canceration or carcinoma in situ.

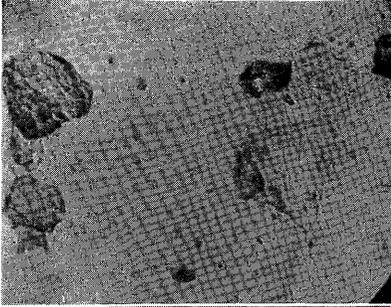
According to researches in our department and other references, histochemical reactions which fairly well characterize malignancy of tissue are cytol, RNA, several phosphatases, adenosin triphosphatase, β -glucuronidase and peptidase.

5. Cancer is not only classified in morphology, but also should be classified from the view-points of metabolism. A few combinations of histochemical methods for a cancer tissue, will let us know the presence of several cancer groups having the same characteristics in metabolism.

Using histochemical methods described in this paper, stomach cancer is divided into four different types in metabolism.

6. By research of histochemical characteristics of cancer, cancerated portion or initial focus will be able to be pointed out.

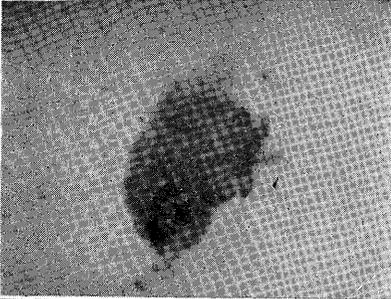
Many stomach cancers arise from III or IV layer of gastric glands, and other a few cancers (about 1/3 of the above) arise from I layer, so called ampulla.



第 1 図

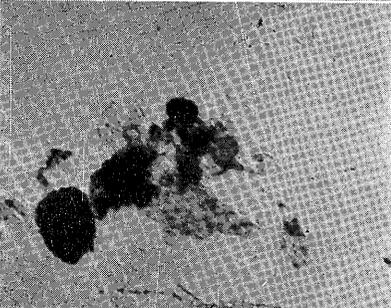
TPF 顆粒細胞第Ⅱ型

右方の無染色の細胞は第Ⅰ型



第 2 図

TPF 顆粒細胞第Ⅲ型



第 3 図

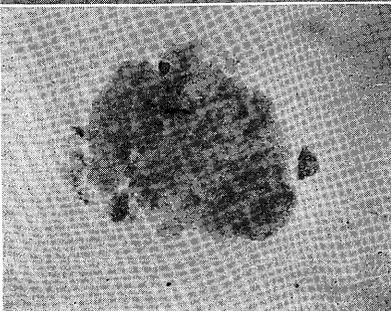
TPF 顆粒細胞第Ⅳ型



第 4 図

TPF 顆粒細胞第Ⅴ型

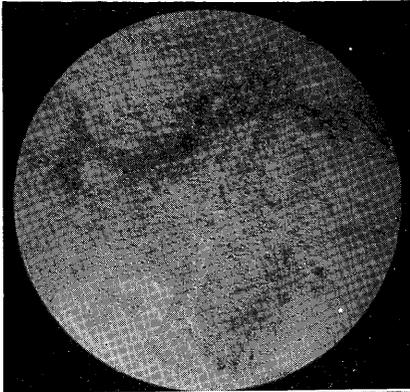
周囲の無染色細胞は第Ⅰ型



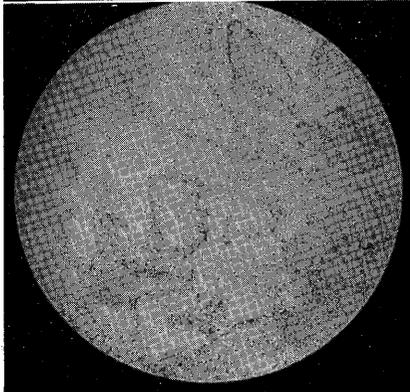
第 5 図

TPF 顆粒細胞第Ⅴ型

強拡大，細胞の大小不同著明



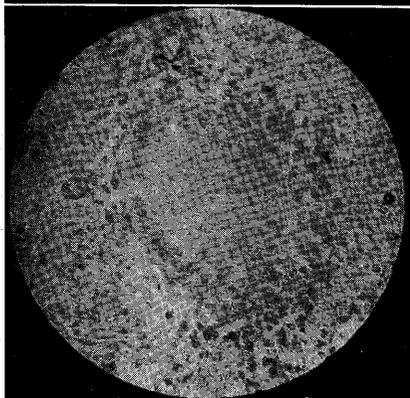
第 6 図
胃癌凍結切片, SDH, 単純癌



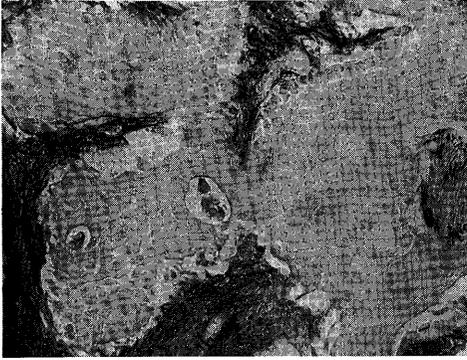
第 7 図
胃癌凍結切片, SDH, 円柱上皮癌



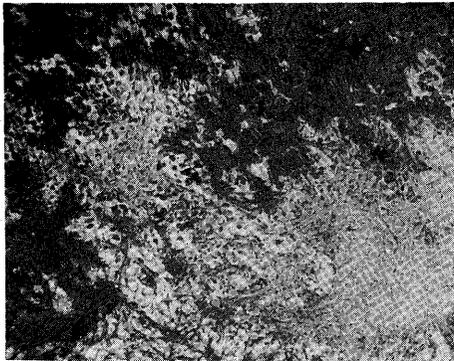
第 8 図
胃癌凍結切片, SDH, 円柱上皮癌



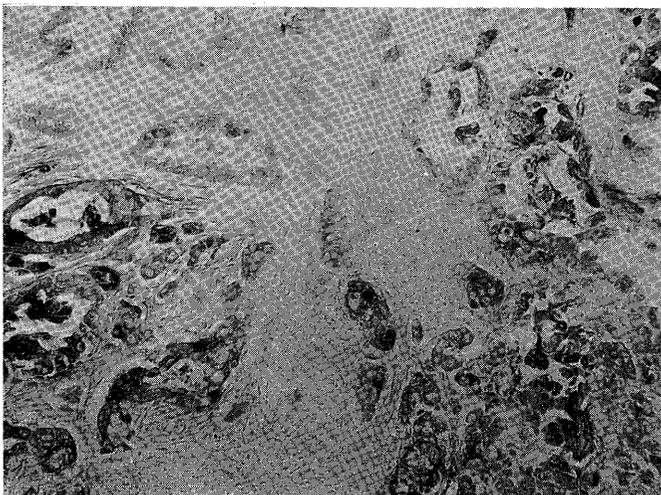
第 9 図
胃癌転移リンパ腺凍結切片, SDH, 単純癌



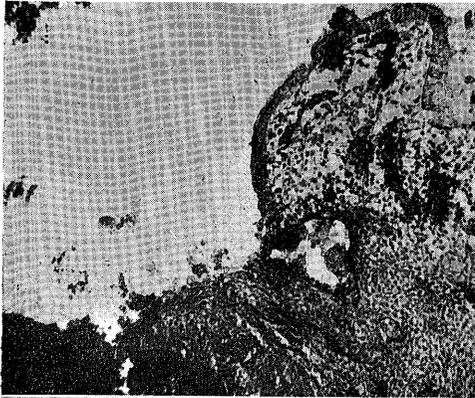
第 10 図
Al-Pase, 扁平上皮癌, 癌巣に活性(+) 間質に強陽性



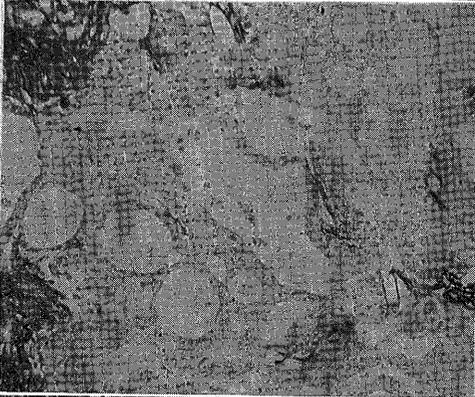
第 11 図 a
Al-Pase, 単純癌, 癌細胞に粘液変性傾向が強い。癌細胞, 間質とも部分的に強陽性



第 11 図 b
Al-Pase, 立方上皮癌, 癌細胞に活性(++) 粘液癌傾向が強い。



第 12 図
Al-Pase, 胃潰瘍, a 部 b 部の結合織の
増生部に強陽性



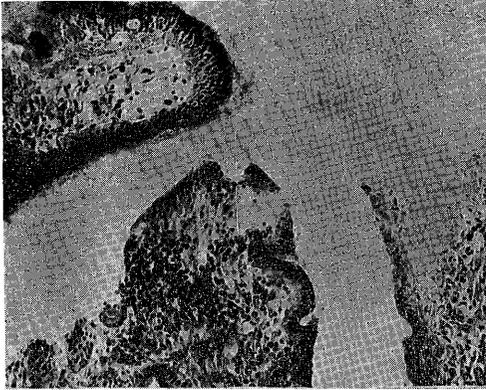
第 13 図
Al-Pase, 胃癌転移リンパ腺, 立方上皮
癌, 癌胞巣に活性 (一)



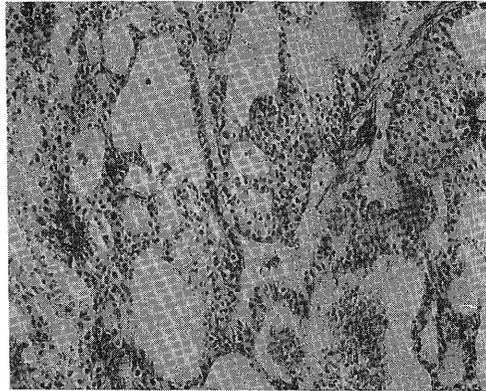
第 14 図
Al-Pase, 胃癌転移リンパ腺, 粘液癌,
多数の印環細胞あり, 未熟な細胞ほど活
性が強い.



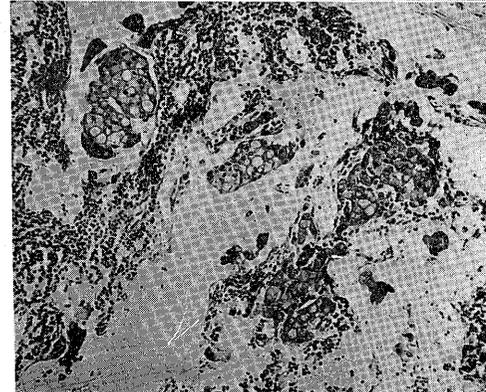
第 15 図
Ac-Pase, 円柱上皮癌, 癌胞巣に活性
(卅~卅) a 部 (右方) に活性が強い.



第 16 図
Ac-Pase, 胃潰瘍, bm部 (左方) に活性の増強を示す. 右方は潰瘍面



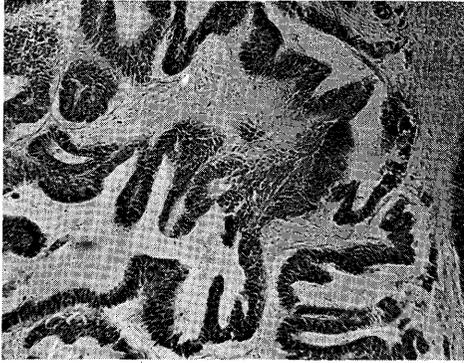
第 17 図
Ac-Pase, 胃癌転移リンパ腺, 立方上皮癌, 癌巣の活性向上



第 18 図
Ac-Pase, 胃癌転移リンパ腺, 単純癌, 癌巣周囲のリンパ腺に活性を認める. 粘液癌傾向あり.



第 19 図
P-amidase, 慢性胃炎部分的に弱陽性または陰性



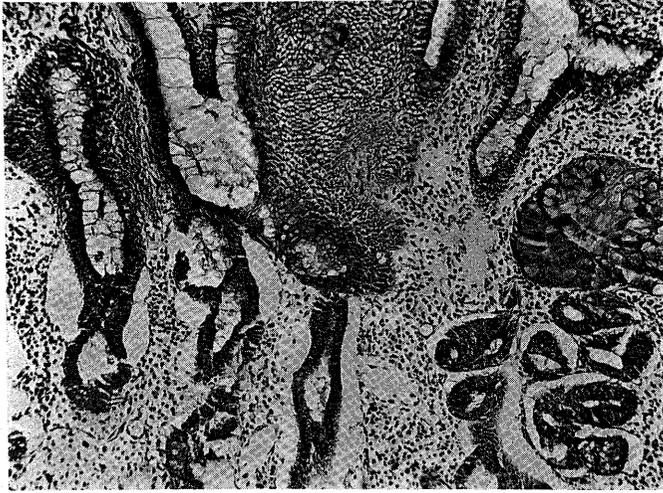
第 20 図
P-amidase, 円柱上皮癌, 癌細胞に著明な活性を示す.



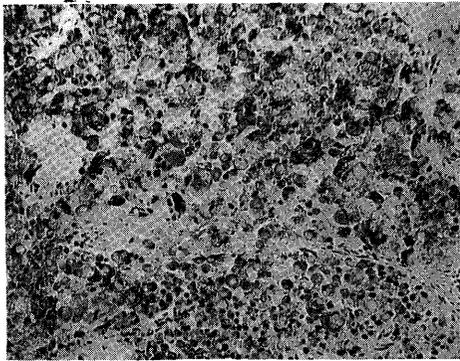
第 21 図
P-amidase, 胃潰瘍, bm部に活性の増大を認める.



第 22 図
P-amidase, 胃癌転移リンパ腺, 癌巣に卓越せる活性を示す.



第 23 図
P-amidase, 胃ポリープ, 全般に中等度陽性, 特に Adenom 様変化(右方)の部に活性が強い.



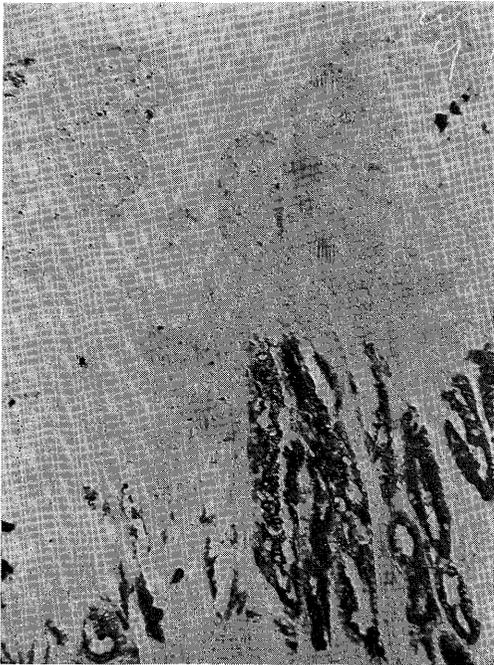
第 24 図
P-amidase, 粘液癌, 組織学的に悪性なるも粘液には活性を欠くか低いため, 癌細胞は明るくみえる.



第 25 図
P-amidase, 単純癌, b 部 I 層に粘液癌化傾向が著明, 正常胃腺との境界明瞭である. 活性度は I~II 層に強くみられる.



第 26 図
P-amidase, 組織化学的前癌状態,
癌巣に隣る正常胃腺に強陽性である。活性はI~II層に局限す。I~II層より癌化



第 27 図
P-amidase, 円柱上皮癌比較的早期に発見された癌, 活性はIII~IV層に局限す, III~IV層より癌化



第 28 図
Al-Pase, 組織化学的前癌状態, 癌層に隣る正常胃腺(左方)に活性の増大を認る。右方は正常胃腺 Al-Pase (###) の部の胃腺上皮に腸上皮化生を認める。