

腫瘍の細胞学的研究***

(第一報)

吉田肉腫細胞の染色体異常像に関する 基礎的研究

丸 山 雄 造*

石 井 善 一 郎**

(信州大学 医学部病理学教室)

(1) 緒 論

腫瘍組織の細胞学的研究に際して、細胞分裂像殊に染色体像の異常は屢々認められる所であるが、之等の異常はその儘核内遺伝質の異常を示すものであり、細胞の癌性変化に対して、これらの変化が一次的であれば勿論、たとえ二次的变化であるにせよ、腫瘍細胞の本態並びに発生に、或は又遺伝子に関しても何等かの知見を与えるであろう事は想像に難くない。

然し乍ら従来の方法による組織切片標本に於ては、母体より切除后固定に到る迄に、或は固定操作中に、新規分裂の停止、進行中の分裂の完了、乃至逆行性変化による為か、顕微鏡下に於て、腫瘍の發育状態から推定せられる程には、案外、分裂像に接する機会が少く、たとえ分裂像が見られても、標本作製時に於ける薄切、固定、包埋、脱水等人工的諸操作に因る染色体の欠損、収縮、変形が強く、多極分裂、橋形成、不等分離の様な比較的大まかな変化を認め得る程度で、充分満足な染色体像を得る事が困難であつた。

吉田肉腫の出現(1943)はこの意味に於て、腫瘍の細胞学的研究の分野に一段の進歩をもたらす機会を作つた。尙最近弘前系肉腫、北大M. T. K. 腫瘍等次々に系統の異なる腹水肉腫が報告されている。著者等は吉田肉腫細胞の染色体異常像に就き、数ヶ月間研究した結果を茲に報告する。

(2) 研究材料及び方法

使用した動物は吉田肉腫細胞腹腔内接種の2頭以后今日迄累代接種せる7代24頭の雑種ラツテで、雌雄を問わず、又体重に関しても、80g前後の理想的なものを揃える事が困難であつた為40~200gの大小種々のラツテを用いた。腫瘍移植法は毛細管ピペット法

* 信州大学助手

** 信州大学教授

***腫瘍特に悪性腫瘍の細胞学的研究は癌の本態觀樹立の根本をなすものであるが、吾々は先ず吉田肉腫細胞に就て、その染色体及び細胞質の形態学的觀察から第一歩を踏み出し、物理的・化学的環境変化による腫瘍細胞の態度を種々の方向から追究し、更に人体腫瘍細胞に及ぼす計画である。

によつた¹⁾。

染色体の検索に当つては、移植の際と同様の毛細管ピペットにて採り出した腹水を載物硝子上に塗沫、乾燥后、又は未乾燥の儘、直にメタノール、カルノア氏液、1%無水クロム酸水溶液、フォルマリン、ヘリー氏液等にて固定したが、乾燥後のメタノール固定は比較的簡単且良好な結果が得られるので愛用した。

北大動物学教室吉田俊秀氏も上記固定液以外にブアン氏液、フレミング氏液も使用比較した結果カルノア氏液、ついでメタノールを推している²⁾。染色法としてはギムザ氏液染色を以て標準とし、之と併行して特に染色体検索の目的を以て佐藤氏³⁾の考案による醋酸ゲンチアナ紫液を使用し次の様な所見を得た。

(3) 自家観察例

吉田肉腫細胞の分裂異常に関しては従来多くの報告があるが、ここに私共が経験した異常像を北大牧野教授の分類に倣つて⁴⁾⁵⁾次の如く二大別し順を追つて説明してみよう。

- (I) 染色体自体の異常に基づく染色体像異常。
- (II) 細胞質特に紡錘体の異常に基づく異常。

I 染色体自体の異常に基づく染色体像異常所見

(a) 染色体数の異常

正常のシロネズミ (*Rattus norvegicus*) の染色体数は42個であるのに対し、その体細胞の変化によつて生じた此の腫瘍細胞の染色体数は可成広い範囲に亘つて変動を示す。第1表は腹腔内移植后5日目のラツテ腹水中の分裂像より得た各染色体数の頻度であるが30~34を中心として上下に広く変動するのを見る事が出来る。腫瘍細胞中には此処に特に数値を挙げ得ない様な極端に多い例や少い例が見出され、図1の如きは、四極分裂とも見られるが203個の染色体を算え、又最も少い例としては16個のものが見られた。図2、図3に示すものは比較的少い例の一部である。(写真1参照)

unter 22	7
23.....24	2
25.....26	4
27.....28	10
29.....30	12
31.....32	8
33.....34	12
35.....36	6
37.....38	3
39.....40	3
over 41	8

(b) 異形染色体の出現

正常シロネズミの42個の染色体の中には長さに長短はあるが、全部桿状乃至棒状を呈し、V字型或はJ字型を呈するものは存在しない。

然るに吉田肉腫細胞に於ては、2乃至10個の、又はそれ以上のV字型、J字型を示す染色体を見出す事が出来る。

牧野教授によれば、多数V字型染色体を見てゆく中に必ず1個極めて大きなV字型染色体を見出す事が出来るというが⁵⁾、図4の如く成程それと認められる染色体を発見出来る場合もあるが、多くの場合、図5の如く、特に大型のV字型染色体を見出す事は出来なかつた。この異常は前述染色体数の変化と共に染色体構成即ち核型の異常であり、染色体数及其形の異常からそこに何か一定した吉田肉腫細胞としての核型類似の性格を想定する事が出来よう。

(c) 染色体の粘着

表1 染色体数の頻度

次に染色体の物理化学的性状の変化に基づくと考えられる諸異常像に就て述べよう。顕微鏡下に染色体像を追う際、染色体同志の重なりは屢々認められる所であるが、この重なりとは別に、互に粘着融合せる像に遭遇する事がある。図6は其の一例で、細胞体には特別の異常を認めないが、図7に示したものでは、染色体が互に著明な粘着融合を起し一塊をなす例で、細胞体には空胞が多数発生し変性像が著明である。

(d) 染色体の膨化

標本作製に際して、氷醋酸の様な脱水性の薬品を作用させない場合は、作用させた時に比して染色体は一般に太く見えるが、時に、それ以上特に太く膨化した像を見出す事がある。図8はその一例である。

(e) 染色体の不均等染色

染色体はギムザ氏液、醋酸ゲンチアナ紫液いずれを用いても、時に大きな螺旋像を見るほかは均等に染色されるのが普通であるが、中には均等に染らぬものがある。図9、10、11がその例で、この中図9は染色体空胞形成像と考えられる、図10の像は吉田俊秀氏が数珠状変性と名付けたものに良く似て²⁾、数珠状をなす一条の又は一對の索状物として認められる。之に対し、図11は染色質濃縮とでも名付くべき観を呈し、アズールにて淡染する基質中に、濃くアズールに染つた染色質顆粒が並列して又一部不規則に散在している。然しそこに何か前者即ち数珠状変性と同様、対の形成が認められる様な部分もあり、之等三者は一聯の変化の如く考えられるが確かではない。

(f) 染色体の螺旋糸崩壊

染色体は全く崩壊して、その螺旋糸が長く伸びている変化で、細胞自体が既に可成強い変性に陥っている場合に屢々見られる変化である。

図12の如く細胞質を全く欠く様な場合もすくなくない。

(g) 后期及び末期橋形成

染色体粘着等が原因となつて后期及び末期に橋形成を見る者がある。

II 細胞質の異常による染色体像の異状所見

(a) 偏位

染色体は分裂時核板上に放射状乃至同心円状に平等に排列するのが正常であるが、細胞質内の含水量等の部位的変動のため、紡錘糸形成に当つて歪を生じ、不平等に偏位する事がある。図13はその一例であるが、V字型染色体の際示した図5にも同様の変位が現われている。

(b) 散乱

偏位の場合、染色体の排列は不平等ではあるが、個々の染色体は一定の方向に従つて並んでいる。此処に散乱と呼ぶ異状は染色体の定向性が失われて、互に勝手な排列をとるもので、染色体の方向を決定すると考えられる紡錘糸が何等かの原因により攪乱されたと考えられる像である。(図14)

(c) 分裂軸異常

后期又は末期の二娘細胞核の中心を結ぶ線、即ち分裂軸が偏位したり、屈折したりす

る異常を総称した。図15に示すものは分裂軸が細胞の中心から著しく左方に偏位した一例であるが、分裂像自体は余り異常を起していない。

(d) 多極分裂

分裂中の一個の細胞の中に多くの染色体群を認める事は少くない。之等は一つの分裂が多極的に起つた場合及び多核細胞の各々の核が同時に分裂を起した場合とが考えられる。図16に示したものは染色体の排列状況よりみて三極分裂、図17は四核細胞の同時分裂中期像と考えられ、夫々22, 20, 28, 22個の染色体を算する。然し多核細胞にあつても図2の様に一核のみ分裂に入り、他核は分裂せずに留まる像も稀に見受ける。

(e) 不等分離

染色体の分配に当り、二個の娘細胞に不等に分配される異常で、図18の例に於ては両者の間に染色体数の差異のみならず、形の上でも可成の差を認める事が出来る。これが前述の染色体の中期核板上に於ける偏在と関係があるか否かは疑問である。

(f) 染色体移動の遲滞、不分離

細胞分裂后期の末期に当つて、大部分の染色体は既に両極に移動し終つているに拘らず、未だ中間に取り残されている像を認める事がある。之が両極に結局移動する時は遲滞となり、全く取り残されれば不分離と云う事になる。

図19は不分離の像で、2個の染色体が両染色体群の間に取り残されており、又図20に於て、上方の染色体群とやゝ離れて存在するV字型染色体は軽い程度ではあるが遲滞と云う事が出来る。

(g) 后期及び末期橋形成

図20に示す如く、后期に、又稀に末期に娘染色体群の間を連絡する染色体像をみる事がある。之を橋形成と呼び、前項にも触れた様に、染色体自体の変化特に粘着等によつて、この様な像を呈する事もあるが、紡錘糸の異常によつても起り得ると考えられる。

(4) 考 察

以上吾々の経験例に就ての所見を、染色体に由来する異状及び細胞質特に紡錘体に由来する異状の二つに大別して述べたが、既述の異常の他、文献に於ては染色体の切断、復旧核形成、染色体の先行、四分子状染色体の形成、球状変化等が挙げられているが、吾々はそれ等の像に接する事は出来なかつた。

諸吾々の得た上記所見に就き若干の考察を加えて見よう。先ず染色体数の変動に関しては従来²⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾の報告によれば表2に示すように、何れも正常染色体数である42の前(38~45)に最頻値を有しているのに対し、吾々の今回得た数値は可成左方に移動し、30前後(25~40)に最頻値が見られる。之に対しV字型、J字型をとる染色体は全例に殆んど洩れなく見出され、その数も2~10個、平均5~6個を算し、之を佐藤氏の報告と比べると可成り上廻つている。勿論この場合二個の染色体の端と端が相重なつたものをV字型染色体と間違えぬよう充分注意した。この数値は移植后6代目のラッテ腹水塗抹標本から得たものであるが、初代から余り変動がない様に思われる。もしこれが事実であるとすれば6代に亘つて腫瘍細胞染色体数は一応固定された状態に在ると考えら

れ、いわば吉田肉腫細胞の一新品種が生れた事になり興味のある現象と思われる。尙V字型染色体は大小併せて平型5~6個が一細胞内に見られるが、特に其の中一個だけ大きな例は極く尠く、多くの例に於て、このような染色体を指摘する事は出来なかつたが、この点牧野教授の所見と異つていた。

次に染色体並びに細胞質に由来する異常の命題の下に幾つかの異常所見を記載したが、之等に就ては研究着手后日尙浅く、充分な検討吟味は后日に譲る。只一言付加したいのは、従来の報告例中に見出せない染色体の不均等染色像を得たので述べてみよう。染色体標本作製の際或特別な前処置、例えば冷却、加温等を施す時、染色体は不均一な染色態度を示し、その中或ものは褪色反応と呼ばれて核型分析に利用せられて居り、又異常凝縮 (Heterpynosis) と呼ばれる変化もある。従来不均一染色或は数珠状変性として報告せられたものは之等の像に類似しており、凝集した染色が質糸状様に連なり、対

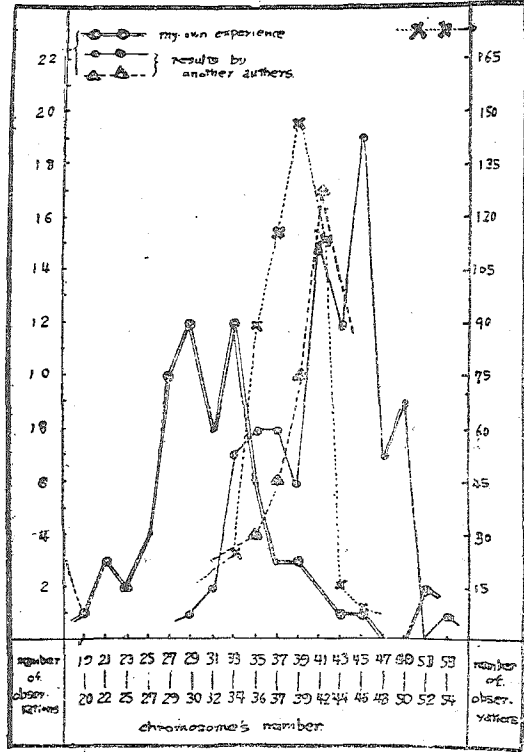


表 2

をなし (数珠状変性)、或はこれの極く初期の段階乃至程度の軽いもの (不均一染色) と考えられよう。今回吾々の認めた像は、これは反対に強い程度に起つたものと考えられる場合で、アズール淡染の基質中に、アズール濃染の顆粒が互に連絡なしに存在する。写真4に於て、染色体像は比較的良く保たれ、一部の染色質が球状に凝集しており、凝集塊は染色体長軸に沿うて並び、数珠状変性との間に何等かの関聯性を想起させる。

写真3では染色体は互に癒着を起し、一部を除いて殆んど不規則に凝集塊が散在して

前 期	26	いるのを認める (図11参照) 更に両例の細胞質も可成りの変
中 期	3	性に陥つている。之等不均等染色として一括した例に於て、
	6	褪色反応乃至異常凝縮の際に見るられ様な一定部位の褪色、
	7	凝集が認められるか否かに就て調べて見たが、相同染色体の関
	3	係も極めて不確実であり、又腫瘍細胞のここととて染色体構成
	4	も乱れている為確認する事は出来なかつた。
	3	
	4	
	21	
後 期	1	以上染色体異常の頻度を腹腔内移植后5日目のラツテ陽水
	1	標本によつて算出した (表3) が、染色体数異常並びにV、
	8	J字型異型染色体の出現は殆んど大部分に見られ、たとえ42
	5	

表 3

個の染色体を算え得ても、之等は正常染色体の42個とは異り、単に変動した腫瘍細胞の染色体数が偶然正常数と一致したに過ぎず、染色体の形態学的構成の面を考慮する時は矢張染色体数の異常に含めてよいと思う。従つて此等の数値はここに含めなかつた。又一個の細胞に二種類以上の異常ある場合は、著明と考えられる方に編入した。

(5) 総括並びに結語

以上吾々は吉田肉腫細胞染色体の異常に就て、(1)染色体自体の異常に基づく諸像(数の変動, 異型染色体, 粘着, 膨化, 不均等染色, 螺旋糸崩壊, 橋形成)(2)細胞質の異常による染色体異常諸像(偏位, 散乱, 分裂軸異常, 不等分離, 染色体移動の遅滞及び不分離, 橋形成)の各項目に分類して, 経験した処を述べたが, 腫瘍細胞は正常細胞に比し物理的, 化学的に種々の異常があり, その現われの一斑として, 分裂時に於て染色体像乃至は分裂像の異常が現われる。上述所見は腫瘍細胞分裂像の平面的観察に過ぎぬが, 腫瘍細胞の物理的・化学的本態追究の糸口がその中に秘められている。以上の基礎的所見を出発点として今後更に進んで本腫瘍細胞染色体の細胞化学的方面乃至種々の病的条件下の染色体の変化を追究する予定である。

附 記

本業績は文部省科学奨励金に負う所が多い。
尙本研究実施に当り那須 毅教授以下教室員の協力を受け, 写真図附の作製は塩沢久要助手の手に成つたものである。茲に深謝の意を表する。

文 献

- 1) 吉田富三：吉田肉腫
- 2) 吉田俊秀：シロネズミの吉田腹水肉腫細胞の染色体異常, 小熊博士退職記念細胞学遺伝学論文集(上) p.130, 1949
- 3) 佐藤春郎：醋酸ゲンチアナザイオレット法に依る腫瘍細胞の染色・日病会誌 Vol. 40, 1951
- 4) 牧野佐二郎, 吉田俊秀：癌の異常核分裂(1)シロネズミの腹水肉腫に於ける染色体数の変異と原因・日本遺伝学会誌 Vol. 24, p. 26, 1949
- 5) 牧野佐二郎：吉田肉腫細胞の核学的特異性と移植一世代に於ける其の行動・遺伝 Vol. 5, p. 2, 1951
- 6) 佐藤春郎：吉田肉腫の染色体の研究(一個の細胞から増殖した腫瘍細胞についての観察) 癌 Vol. 43, p. 1, 1952
- 7) Hiroshi Nakahara: A study of the chromosomes in Yoshida sarcoma cells transplanted into mice. 遺伝学雑誌 Vol. 27, p.25, 1952
- 8) 牧野佐二郎：吉田肉腫の染色体と移植一世代間に於ける腫瘍細胞の行動(癌の細胞学的研究)染色体 No. 9~10, p.393, 1951
- 9) 吉田富三：癌の本態観 第13回日本医学会会誌 p. 34, 1951

図 版 説 明

異常染色体並びに分裂諸像

1. 染色体数増加 ($2n=203$)
- 2.3. 染色体数減少 ($2n=19, 25$)
- 4.5. V字型異形染色体(特に大きい一個のV字型染色体を指摘し得る例と指摘し得ない例)
6. 軽度染色体粘着
7. 細胞変性を伴う高度粘着像
8. 染色体空胞形成
9. 数珠状変性
10. 染色質凝縮
11. 膨

- 化 12. 螺旋糸崩壊 13. 中期核板上での染色体分布の偏位 14. 同散乱 15. 分裂軸偏位
 16. 三極分裂 17. 四核細胞の同時分裂 18. 不等分離 19. 不分離 20. 后期橋形成
 (詳細は本文参照)

写真説明

写真(1) 図1の写真で4乃至5極分裂の像を示し、全部併せて203個の染色体を算える事が出来た。

写真(2) 数珠状変性の一例で、左上方の数個の染色体に明かな数珠状構造が認められる。右側、下側のものは一部螺旋糸崩壊の像を示し、且つ細胞質は極めて不明瞭で、可成り変性の起っている事を示す。

写真(3), (4) 染色体不均等染色の中で特に染色質凝縮とでも名付けたい所見で、写真3は図11に示したものであるが、顆粒の状態は明かでない。数珠状変性と異り、顆粒間に之を連絡する糸状部がなく、顆粒が孤立しており、写真3では不均等に散在している。写真2、及び4は写真3と一聯の変化の様にも見受けられる。

Summary

Cytological Studies of Neoplasms. (The 1.st Report.)

A fundamental study of the pathological chromosomes figures of Yoshida sarcoma cells.

By

Yuzo MARUYAMA.* Zen-ichiro ISHII.**

(Department of Phthology, School of Medicine, Shinshu University)

Some reports have been published in Japan concerning various pathological chromosomes figures or cell divisions of Yoshida sarcoma cells, for instance, abnormal numbers, peculiar forms (V-, J-shaped chromosomes.), irregular staining, vacuole formation, so-called rosary-like deformities, adhesion, swelling and disintegration of chromosomes caused by abnormalities of chromosomes themselves, dispersion and dislocation of chromosomes on equatorial plate, displacement of division's axis, multipolar division, non-disjunction, delay of disjunction and bridge building etc. caused by abnormalities of cytoplasm.

Some new facts can be added in the result of our studies as follows. We found chromosome numbers most fluctuate around 30—34 against the normal number of 42 reported in the past studies. Particularly large V-shaped chromosomes could not be always found. Some new types of chromosome figures we discovered in one case were named by us provisional "Chromatin Pyc-

* Assistant of Shinshu University.

** Professor of Shinshu University.

nosis", which were observed pycnotic masses of chromatin in the matrix normal or abnormal in shape, stained faintly by Azur and are supposed to have relation with above mentioned irregular staining or rosary-like deformities of chromosomes, especially with the latter.

The causes or meanings of these findings should be clarified in future.

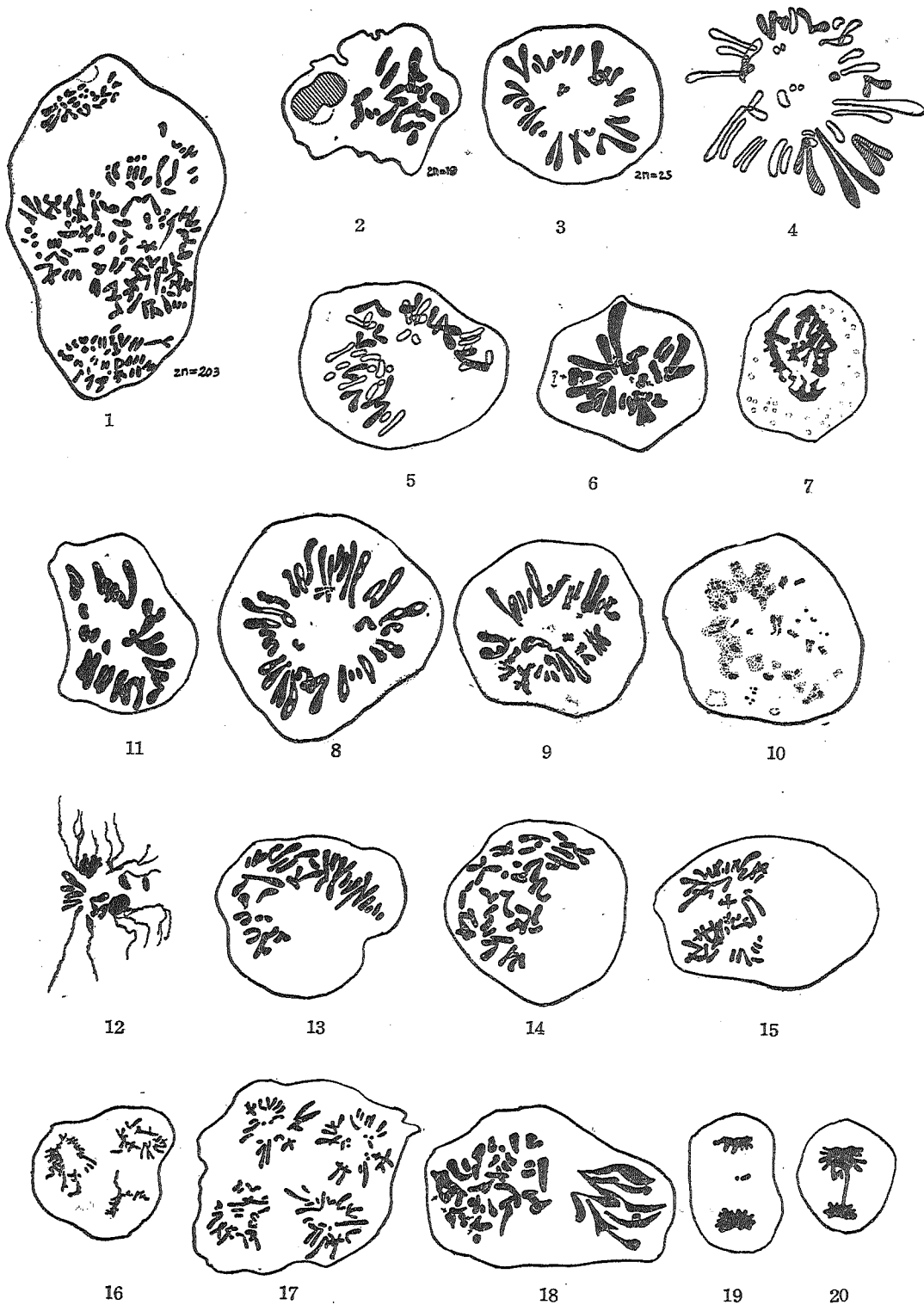




写真1

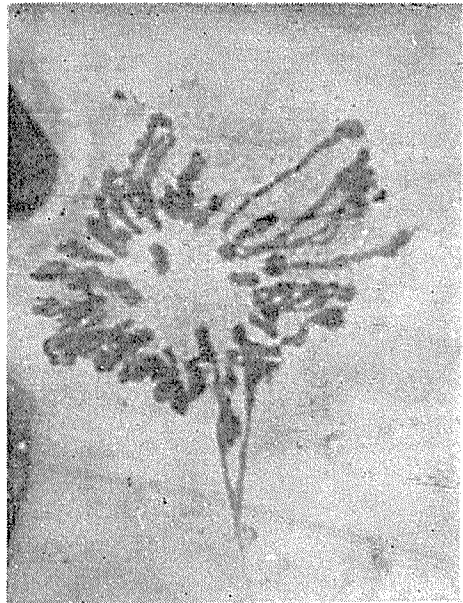


写真2

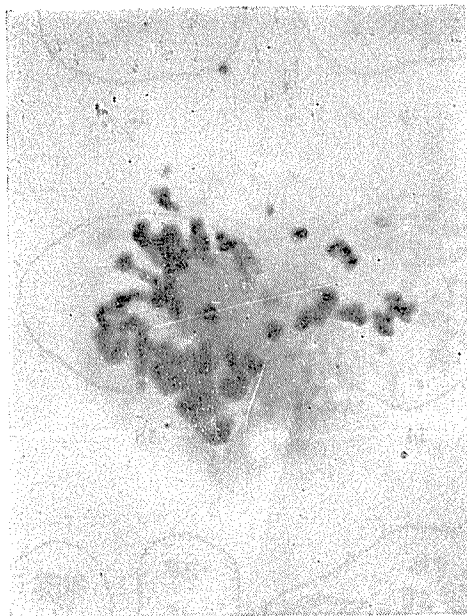


写真3



写真4