

各種甲状腺腫における酵素並びに多糖類の組織化学的研究

石 田 康 雄

信州大学医学部九田外科教室

Histochemical Studies on Enzymes and Polysaccharides of Goiters

Yasuo ISHIDA

Prof. MARUTA's Surgical Clinic, Shinshu University

緒 言

甲状腺組織の酵素組織化学的研究としては教室においては既に佐野¹⁾の業績があるが、その後酵素組織化学の分野における進歩は著しく、とくに cryostat の出現により未固定の組織切片について酵素の移動を最少限にして酵素を検出することが出来るようになった。また武内等²⁾により解糖酵素である phosphorylase の検出が可能となり、細胞レベルにおける糖質代謝の研究が容易となった。

一方、甲状腺には腫瘍、過形成、炎症等種々の疾患があるので、著者はこれらの方法を応用して各種甲状腺組織の糖質代謝、蛋白質代謝及び間質多糖類の変化等について組織化学的研究を行ない、その病態の解明を試みたので、その成績を報告する。

I. 研究材料及び研究方法

A. 研究材料

九田外科において手術を施行した甲状腺疾患のうち単純性結節性甲状腺腫39例、甲状腺癌27例、バセドウ氏病及び甲状腺中毒症31例、慢性甲状腺炎9例を研究対象とした。なお対照の正常甲状腺組織としては単純性結節性甲状腺腫の反対側腺葉から採取した組織を用いた。

B. 研究方法

1. 酵素組織化学

手術により剔出した甲状腺腫組織及び対照の正常甲状腺組織から $0.5 \times 0.5 \times 0.5 \text{ cm}$ の組織片を切り出し、ドライアイス-アセトンで冷却したイソペンタン中に投入し凍結させた。凍結後 -20°C の cryostat 中で、厚さ 15μ の凍結切片とし、スライドガラスに貼付し、 5°C の空气中で乾燥せしめ、次の反応液中に浸漬して各酵素の検索を行なった。

Phosphorylase (武内氏法³⁾)

Glucose-1-phosphate	50mg
Adenosine-5-phosphate	10mg
Acetate buffer (pH 5.6)	10ml
Alcohol	5ml
Glycogen	2mg
Distilled water	10ml

Lactic dehydrogenase (Nachlas 氏法⁴⁾)

Sodium lactate (0.5M)	0.6ml
NAD (5mg/ml)	0.3ml
Nitro BT (5mg/ml)	0.3ml
Phosphate buffer (0.2M, pH7.4)	1.0ml
Distilled water	0.8ml

Cytochrome oxidase (Burstone 氏法⁵⁾)

Para-aminodiphenylamine	15mg
8-Amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroquinoline	one drop

Tris buffer (0.2M, pH7.4)	15ml
Ethanol	0.5ml
Distilled water	35ml

Leucine aminopeptidase (Nachlas 氏法⁶⁾)

L-leucyl- β -naphthylamide hydrochloride (8mg/ml)	1ml
Acetate buffer (0.1M, pH6.5)	10ml
Sodium chloride (0.85%)	8ml
Potassium cyanide ($2 \times 10^{-2}\text{M}$)	1ml
Diazo blue B	10mg

以上の各方法により染色した酵素のうち leucine aminopeptidase を除いた3酵素の酵素活性の程度を陰性(-)、弱陽性(+), 中等度陽性(++)、強陽性(+++)の4段階に分け、leucine aminopeptidase は単に陰性と陽性とに分けて検討を行なった。

2. 間質多糖類の組織化学

酵素組織化学に使用した残りの組織片を純アルコールで固定し、パラフィン包埋後、厚さ4 μ に薄切し、alcian blue-PAS 重染色 (Vialli Lison 氏法⁷⁾) により間質多糖類の検索を行ない、また Hämatoxylin-Eosin 染色により形態学的観察を行なった。

II. 研究成績

A. 酵素組織化学

1. Phosphorylase

a. 濾胞上皮細胞

対照においては、表1に示す如く、12例中、弱陽性1例の他はすべて陰性である。

単純性結節性甲状腺腫においては32例中16例が陰性で、残りの16例は弱陽性乃至強陽性を示している。Phosphorylase の色調は帯紫青色から帯紫紅色まで種

々の色調が認められた。組織像と phosphorylase との関係を検討すると、表2の如く、コロイド腺腫では8例中弱陽性は1例のみで他は全例陰性である。濾胞状腺腫では11例中陰性は3例で、残りの8例は弱陽性乃至中等度陽性である。また管状腺腫では6例中陰性は1例のみで、残りの5例では種々の程度の phosphorylase 活性が認められ、とくに強陽性が1例認められたことは注目に値する。腺腫様甲状腺腫では7例中2例が弱陽性で、残りの5例は陰性であった。すなわち腺腫様甲状腺腫を除外した単純性結節性甲状腺腫のみについてみれば濾胞構造の分化の程度が低い程 phosphorylase 活性は強い傾向が認められる。

つぎに単純性結節性甲状腺腫の組織像、とくに濾胞構造と phosphorylase との関係について検討すると、コロイド腺腫及び濾胞状腺腫では一般に大濾胞が多いが、このような部分では写真1の如く phosphorylase

表 1 各種甲状腺腫の phosphorylase

冊	●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	
冊	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	
+	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	
-	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
	対 照	単純性甲状腺腫	甲 状 腺 癌	甲状腺機能亢進症	慢性甲状腺炎

表 2 単純性甲状腺腫の組織像と phosphorylase

冊			●●●●●●●●	●●●●●●●●	
冊			●●●●●●●●	●●●●●●●●	
+	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
-	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
	対 照	コロイド腺腫	濾胞状腺腫	管 状 腺 腫	腺腫様甲状腺腫

活性は陰性であり、その中に時として散見される小濾胞の立方状の上皮細胞では弱陽性或いは中等度陽性である。管状腺腫は一般に様に小濾胞、立方状上皮細胞からなり phosphorylase 活性も写真2の如く一様に認められるが、写真3の如く被膜に接した小濾胞或いは被膜の結合織中にとり込まれた上皮細胞にはとくに強い活性が認められた。

甲状腺癌は組織学的には、大部分が乳頭腺癌で、そのほかに濾胞腺癌及び未分化癌が1例ずつ含まれているが、これらの phosphorylase は表1の如く24例中、強陽性10例、中等度陽性3例、弱陽性8例で陰性はわずか3例にすぎない。またその色調は一般に紫色を混じた濃青色である。甲状腺癌の phosphorylase はこのように一般に陽性のことが多く、その程度も中等度陽性乃至強陽性が多いが、写真4の如く癌細胞が周囲の被膜様結合織内に浸潤している部分にとくに強い傾向が認められる。

甲状腺機能亢進症では表1の如く27例中陰性は13例で、残りの14例には弱陽性から強陽性に至るまで種々の程度の活性が認められ、その色調は紫紅色を示している。組織像と phosphorylase との関係について検討すると、表3に示す如く両者の間に明らかな関係は認められなかった。しかしながら写真5に示す如く組織学的に乳頭状発育の傾向の著しい部分に phosphorylase 活性がとくに強く、また写真6の如く大濾胞に比較して小濾胞に強い活性が認められた。

慢性甲状腺炎においては、表1の如く8例全例に phosphorylase 陰性である。

以上述べた甲状腺濾胞上皮細胞における phosphorylase 活性の成績を要約すれば、phosphorylase は対照及び慢性甲状腺炎では陰性であるが、単純性結節性

甲状腺腫、甲状腺癌、甲状腺機能亢進症では陰性から強陽性に至るまで種々の程度に認められ、とくに甲状腺癌では強陽性が多い。また組織像との関係では、phosphorylase は単純性結節性甲状腺腫の分化の程度の低いもの程強く、甲状腺癌では浸潤先端部に強く、また甲状腺機能亢進症では乳頭状増殖、或いは小濾胞の部分に強く認められる。これらの成績から本酵素は細胞増殖の旺盛な組織に強く出現するものと考えられる。

b. 問 質

単純性結節性甲状腺腫、甲状腺癌、甲状腺機能亢進症、慢性甲状腺炎等の間質結合織には全例 phosphorylase 陰性であった。

2. Lactic dehydrogenase

a. 濾胞上皮細胞

対照においては表4の如く14例中陰性例は1例のみで他の13例は全例弱陽性である。酵素活性の強さに関して濾胞構造による差異はみられないが写真7の如く上皮細胞の基底膜に接する部分に多少活性が強い傾向が認められる。

単純性結節性甲状腺腫においては、表4の如く36例中27例が弱陽性、4例が中等度陽性で、残りの5例は陰性である。単純性結節性甲状腺腫の組織像と lactic dehydrogenase との関係について検討すると、表5の如く両者間に関係は認められないが、コロイド腺腫は対照とはほぼ同様に弱陽性乃至陰性であるのに対し、濾胞状腺腫では弱陽性の他に中等度陽性例と陰性例がそれぞれ1例ずつ認められ、管状腺腫及び索状腺腫では弱陽性乃至中等度陽性であった。なお腺腫様甲状腺腫では陰性から中等度陽性まで認められた。また写真8の如く単純性結節性甲状腺腫の濾胞構造による酵素

表 3 甲状腺機能亢進症の組織像と phosphorylase

卅				
卅				
+				
-				
対 照	Struma colloidis macrofollicularis proliferans	Struma colloidis basedowificata	Struma colloidis basedowiana	Struma parenchymatosa basedowiana

表 4 各種甲状腺腫の lactic dehydrogenase
















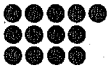








卅					
廿					
+					
-					
	対 照	単純性甲状腺腫	甲 状 腺 癌	甲状腺機能亢進症	慢性甲状腺炎

表 5 単純性甲状腺腫の組織像と lactic dehydrogenase

卅					
廿					
+					
-					
	対 照	コロイド腺腫	濾胞状腺腫	管 状 腺 腫	索 状 腺 腫
					腺腫様甲状腺腫

活性の差異は認められず、酵素活性の細胞内分布についても明らかな所見は認められなかった。

甲状腺癌においては写真9の如く lactic dehydrogenase 活性は著しく強く、その成績は表4に示す如く26例中陰性例はなく全例陽性であり、その程度は中等度陽性例が最も多く13例、強陽性10例、弱陽性3例である。濾胞構造による酵素活性の差はみられないが、被膜様結合織に接した癌の浸潤先端部には酵素活性が多少強い傾向が認められる。しかしながら癌細胞内における酵素分布は一樣であって、細胞内の部位による著しい差は認められなかった。








甲状腺機能亢進症においては、表4及び写真10の如く30例中、中等度陽性24例、強陽性6例で弱陽性例及び陰性例は認められなかった。甲状腺機能亢進症の組織像と lactic dehydrogenase との関係について検討したが、その成績は表6に示す如く両者間に明らかな関係は認められなかった。しかしながら組織学的に乳

頭状増殖の著しい部分では lactic dehydrogenase 活性が多少強い傾向が認められ、また写真11の如く細胞内においても基底膜に接する部分にとくに強く出現する所見が認められた。

慢性甲状腺炎の lactic dehydrogenase 活性は表4及び写真12の如く一般に強く、8例中6例は中等度陽性、2例は強陽性であった。また酵素の細胞内分布に関しては対照、甲状腺機能亢進症と同様に基底膜に接する部分に強く出現する例もみられるが、中には明らかな差異のない症例もあった。

以上述べた甲状腺濾胞上皮細胞における lactic dehydrogenase 活性の成績を要約すれば、lactic dehydrogenase は対照及び単純性結節性甲状腺腫では弱陽性が最も多いが、甲状腺癌、甲状腺機能亢進症、慢性甲状腺炎では一般に強い活性を示している。Lactic dehydrogenase 活性と単純性結節性甲状腺腫の組織像との関係は phosphorylase との関係における

表 6 甲状腺機能亢進症の組織像と lactic dehydrogenase

冊				
冊				
+				
-				
	対 照	Struma colloides macrofollicularis proliferans	Struma colloides basedowificata	Struma parenchymatosa basedowiana

程明らかではなく、また癌の浸潤先端部及び甲状腺機能亢進症の乳頭状増殖部に酵素活性が多少強い傾向が認められた。酵素の細胞内分布については正常甲状腺組織及び甲状腺機能亢進症においては基底膜に接して強く現われたが、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺癌及び慢性甲状腺炎の一部のものでは、このような傾向は認められなかった。

b. 間 質

間質結合組織の lactic dehydrogenase 活性は、正常甲状腺組織14例中1例、単純性結節性甲状腺腫36例中3例、甲状腺癌26例中3例、甲状腺機能亢進症30例中1例に弱陽性に認められ、他はすべて陰性であった。また慢性甲状腺炎では8例中5例に弱陽性で他の甲状腺疾患に比較して陽性の頻度が多少高く、リンパ濾胞にも多少の活性が認められた。(写真12参照)

3. Cytochrome oxidase

a. 濾胞上皮細胞

対照においては表7の如く14例中13例は弱陽性で、中等度陽性は1例のみであり、陰性例はない。組織学的には酵素活性は写真13の如く小濾胞にやや強く、また細胞内分布では14例中3例にコロイド側にやや強い傾向が認められたが残りの11例では細胞内に一様に認められ特別な分布は認められなかった。

単純性結節性甲状腺腫では表7に示す如く1例の陰性例を除いて他はすべて陽性であり、その程度も対照に比較して強いものが多く、弱陽性12例、中等度陽性23例、強陽性3例である。単純性結節性甲状腺腫の組織像と cytochrome oxidase との関係について検討すると表8の如く、コロイド腺腫では中等度陽性例が多く、濾胞状腺腫では弱陽性乃至中等度陽性例が多い。また管状腺腫では弱陽性から強陽性に至るまで種々の

程度に認められ、索状腺腫では全例中等度陽性乃至強陽性であった。腺腫様甲状腺腫においては索状腺腫と同様に中等度陽性乃至強陽性であった。すなわち単純性結節性甲状腺腫のうち腺腫様甲状腺腫を除いた他の腺腫においては濾胞構造の分化の程度の低いもの程 cytochrome oxidase 活性は強いものが多い傾向がある。

つぎに単純性結節性甲状腺腫の組織学的所見と cytochrome oxidase との関係について検討すると、コロイド腺腫及び濾胞状腺腫では大濾胞の間に散見される小濾胞に酵素活性がやや強く、また細胞内分布に関しては写真14の如くコロイド側に強い傾向が認められる。一方、管状腺腫及び索状腺腫ではほぼ一様に酵素活性が認められるが、写真15の如く被膜近くの小濾胞或いは写真16の如く被膜の中に取り込まれた濾胞上皮細胞に強い活性が認められた。

甲状腺癌では表7の如く陰性から強陽性に至るまで種々の程度の酵素活性が認められ、27例中陰性4例、弱陽性10例、中等度陽性8例、強陽性5例である。甲状腺癌のなかでも陰性例、弱陽性例及び中等度陽性例では写真17の如く点状の強陽性の部分が散在性に認められることが多く、これは強陽性の5例を除く22例中18例に認められた。甲状腺癌における cytochrome oxidase の細胞内分布は細胞内に一様に認められ、細胞内の部位による著しい差異は認められない。また写真18の如く間質結合組織の中にとり込まれた癌細胞には特に強い酵素活性が認められた。

甲状腺機能亢進症においては cytochrome oxidase 活性は写真19の如く一般に強く、その成績は表7の如く31例中、中等度陽性は23例、強陽性は8例である。甲状腺機能亢進症の組織像と cytochrome oxidase と

の関係は表9に示す如く両者の間に明らかな関係は認められない。

組織学的には写真20の如く乳頭状発育を示す部分及び小濾胞に強い活性が認められ、細胞内分布では写真

表 7 各種甲状腺腫の cytochrome oxidase















冊					
卅					
+					
-					
	対 照	単純性甲状腺腫	甲状腺癌	甲状腺機能亢進症	慢性甲状腺炎

表 8 単純性甲状腺腫の組織像と cytochrome oxidase























冊						
卅						
+						
-						
	対 照	コロイド腺腫	濾胞状腺腫	管状腺腫	索状腺腫	腺腫様甲状腺腫

表 9 甲状腺機能亢進症の組織像と cytochrome oxidase

冊				
卅				
+				
-				
	対 照	Struma colloidis macrofollicularis proliferans	Struma colloidis basedowificata	Struma parenchymatosa basedowiana

19の如く上皮細胞のコロイド側に強く認められる。また Hämatoxylin-Eosin 染色でやや強い好酸性を示す部分には強い酵素活性が認められた。

慢性甲状腺炎では表7に示す如く甲状腺機能亢進症におけると同様に cytochrome oxidase 活性は強く、中等度陽性5例、強陽性4例である。組織学的には写真21の如く Hämatoxylin-Eosin 染色で好酸性がとくに強い部分に強い酵素活性が認められ、上皮細胞の好酸性と cytochrome oxidase との間に密接な関係が認められる。

以上述べた甲状腺腫瘍上皮細胞の cytochrome oxidase の成績を要約すると、cytochrome oxidase は対照に比較して単純性結節性甲状腺腫、甲状腺癌、甲状腺機能亢進症、慢性甲状腺炎のいずれにも強く見られ、とくに甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎においては全例中等度以上の陽性を示している。また甲状腺腫の組織像と cytochrome oxidase との関係では、cytochrome oxidase は単純性結節性甲状腺腫の分化の程度の低い腺腫に強く、甲状腺機能亢進症では乳頭状増殖を示す部分に強く、また甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎では好酸性変化の強い部分に強い傾向が認められた。本酵素の細胞内分布に関しては、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺機能亢進症等においては上皮細胞のコロイド側に強く現われることが特徴的であるが、対照、甲状腺癌においてはこのような所見は認められず、細胞内に一様に認められた。

b. 間 質

すべての甲状腺腫間質結合組織には cytochrome oxidase 活性は認められなかった。またリンパ球及びリンパ濾胞には cytochrome oxidase 活性は弱陽性であった。

4. Phosphorylase, lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase の相互関係

同一症例で phosphorylase, lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase の3酵素を検索した114例について、3酵素の相互関係を検討した。

a. Phosphorylase と lactic dehydrogenase との関係

表10の如く対照の正常甲状腺組織では大部分が lactic dehydrogenase 弱陽性で、phosphorylase は陰性である。単純性結節性甲状腺腫では大部分が lactic dehydrogenase 弱陽性であるが、phosphorylase は陰性から強陽性に至るまで種々の程度に認められる。これに反し甲状腺癌では、lactic dehydrogenase と phosphorylase の両者が陰性或いは弱陽性を示す症例はなく、いずれか一方或いは両者が中等度以上の陽性を示している。甲状腺機能亢進症では lactic dehydrogenase の大部分が中等度陽性であるが、phosphorylase は陰性から強陽性まで種々の程度に認められる。慢性甲状腺炎では phosphorylase は全例陰性であるが、lactic dehydrogenase は中等度陽性及び強陽性を示している。

表 10 Phosphorylase と lactic dehydrogenase との関係

Phosphorylase	卅	△△	▲▲▲ ▲▲×	▲▲ ▲×
	卅	△△△ △△△ ▲	▲▲ ××× ×××	
	+	△ ○△△ △△△	△△△▲ ▲▲▲× ××××	▲▲ ▲×
	-	○△△ △△	○○○○○ ○○○○○ △△△△△ △△△△△ △△	▲×××× ××××× ×□□□ □□
		-	+	卅
		Lactic dehydrogenase		

- 対照
- △ 単純性甲状腺腫
- ▲ 甲状腺癌
- × 甲状腺機能亢進症
- 慢性甲状腺炎

以上述べた成績を要約すると, phosphorylase と lactic dehydrogenase との間には, 甲状腺疾患によってそれぞれ多少特異的な関係が認められるが, 甲状腺疾患全体として観察すると, 両者の間に一定の関係は認められなかった。

b. Phosphorylase と cytochrome oxidase との関係

対照では表11の如く大部分が phosphorylase 陰性で cytochrome oxidase は弱陽性であり, 単純性結節性甲状腺腫では phosphorylase と cytochrome oxidase との間に一定の関係は認められない。また甲状腺癌においても両者の間に一定の関係は認められない。甲状腺機能亢進症では cytochrome oxidase は中等度陽性乃至強陽性に認められるが, phosphorylase は陰性から強陽性に至るまで種々の程度に認められる。慢性甲状腺炎では, phosphorylase は全例陰性であるが, cytochrome oxidase は中等度陽性乃至強陽性である。

以上の成績を要約すると, phosphorylase と cytochrome oxidase との間には甲状腺疾患によってはそれぞれ多少特異的な関係が認められるが, 甲状腺疾患全体として観察すると両者の間に一定の関係は認められなかった。

c. Lactic dehydrogenase と cytochrome oxidase との関係

表12の如く対照では lactic dehydrogenase, cyto-

chrome oxidase の大部分がいずれも弱陽性である。単純性結節性甲状腺腫では大部分は lactic dehydrogenase 弱陽性で, cytochrome oxidase は弱陽性乃至中等度陽性である。甲状腺癌では大部分が lactic dehydrogenase は中等度陽性乃至強陽性で, cytochrome oxidase は陰性から強陽性に至るまで種々の程度に認められる。甲状腺機能亢進症では大部分が lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase のいずれも中等度陽性である。慢性甲状腺炎においても大部分が lactic dehydrogenase 及び cytochrome oxidase が中等度陽性乃至強陽性を示している。

以上の成績を要約すると, 甲状腺癌を除く他の甲状腺疾患では lactic dehydrogenase と cytochrome oxidase とがほぼ正の相関関係にあることが明らかである。

d. 小 括

以上述べた phosphorylase, lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase の3酵素の相互関係を要約すると, lactic dehydrogenase と cytochrome oxidase との間には甲状腺癌を除外すればほぼ正の相関関係が認められるが, 他の酵素間には明らかな関係は認められない。

5. Leucine aminopeptidase

本酵素はさきに述べた3酵素と異って局部的に種々の程度に出現する為に陽性度を分類することが出来ないで単に陽性と陰性に大別した。

表 11 Phosphorylase と cytochrome oxidase との関係

Phosphorylase	卅	▲▲	▲▲ ▲▲	▲	△▲▲ ××
	卅		△△△ ▲▲	△△△ ▲×× ×××	×
	+		△△ ▲	○△△△ △△△▲ ▲××× ××	△▲▲ ▲▲×
	-	△	○○○○ ○○○○ ○○○△ △△△▲	△△△△△ △△△△△ ▲×××× ××××× □□□□	××× □□□
		-	+	卅	卅
		Cytochrome oxidase			

- 対照
- △ 単純性甲状腺腫
- ▲ 甲状腺癌
- × 甲状腺機能亢進症
- 慢性甲状腺炎

表 12 Lactic dehydrogenase と cytochrome oxidase との関係

Lactic dehydrogenase	卅	▲▲ ▲	▲▲ ▲▲	▲×× ××	▲▲ ×× □□
	卅	▲	▲▲▲ ▲▲	△△▲▲▲ ×××××× ×××××× ×××××× ×□□□□	△△▲▲ ▲××× ××□
	+		○○○○○ ○○○○○ ○○△△△ △△△△△ △△△▲	○△△△△ △△△△△ △△△△△ △▲	△▲
	-	△	○	△△ △△	
		-	+	卅	卅
Cytochrome oxidase					

○ 対照

△ 単純性甲状腺腫

▲ 甲状腺癌

× 甲状腺機能亢進症

□ 慢性甲状腺炎

a. 濾胞上皮細胞

濾胞上皮細胞における leucine aminopeptidase は甲状腺機能亢進症16例中1例、慢性甲状腺炎6例中2例のみに軽度陽性で他はすべて陰性であった。

b. 間質

間質結合組織の leucine aminopeptidase は表13の如く対照、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺機能亢進症のいずれにおいてもほぼ半数が陽性であるが、甲状腺癌及び慢性甲状腺炎では全例陽性に認められた。

Leucine aminopeptidase が陽性に現われる部分の間質結合組織の性状は写真22, 23の如く線維芽細胞と膠原線維に富む比較的幼弱な結合組織であるが、leucine aminopeptidase 陰性の部分は線維芽細胞の少い硝子様結合組織である場合が多い。従って本酵素は甲状腺疾患の種類とは関係なく、結合組織の増生が盛んな部位に出現するものと考えられる。また本酵素はリンパ濾胞

には陰性である。

B. 間質多糖類の組織化学

Alcian blue-PAS 重染色により間質結合組織の構成々分である多糖類を組織化学的に検討すると、正常甲状腺組織の間質結合組織は一般に PAS 弱陽性の結合組織によって構成されているが、その中に時として alcian blue に淡染する結合組織が限局して認められることがある。

単純性結節性甲状腺腫では被膜は一般に alcian blue に弱陽性に染まり、かつほぼ一様の分布を示しているが、症例によっては写真24の如く結節側に alcian blue 陽性度がやや強い傾向が認められることもある。結節内の結合組織はほとんど alcian blue 陰性で主として PAS 弱陽性の間質によって構成されている。

甲状腺癌の間質結合組織は一般に alcian blue 強陽性

表 13 各種甲状腺腫の間質の leucine aminopeptidase

+	● ●	●●●●● ●●●●●	●●●●● ●●●●●	●●●● ●●●●	●●● ●●●
-	●● ●●	●●●● ●●●●		●●●● ●●●●	
	対 照	単純性甲状腺腫	甲 状 腺 癌	甲状腺機能亢進症	慢性甲状腺炎

写真 1

単純性結節性甲状腺腫の phosphorylase : 100×

大濾胞では phosphorylase 陰性で、小濾胞の立方状の上皮細胞では弱陽性乃至中等度陽性。

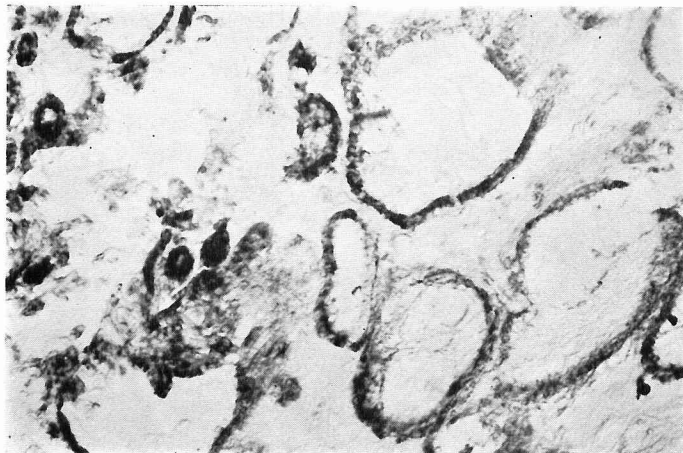


写真 2

単純性結節性甲状腺腫の phosphorylase : 100×

管状腺腫で中等度陽性。

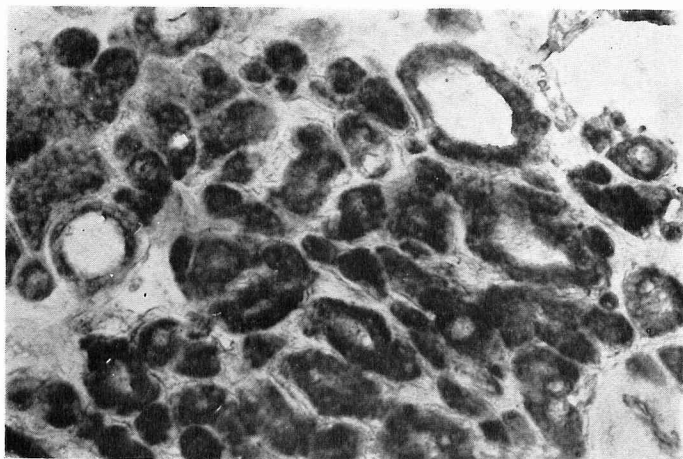
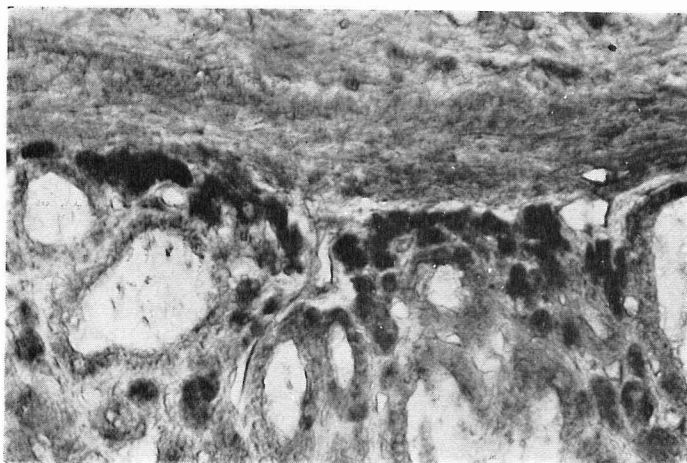


写真 3

単純性結節性甲状腺腫の phosphorylase : 100×

管状腺腫の被膜に接した小濾胞に強い活性がみられる。



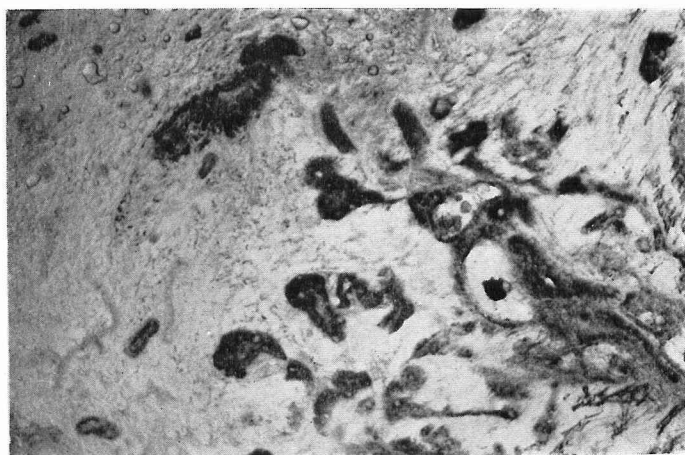


写真 4

甲状腺癌の phosphorylase :
100×
被膜様結合組織内に浸潤している癌細胞に強い活性がみられる。

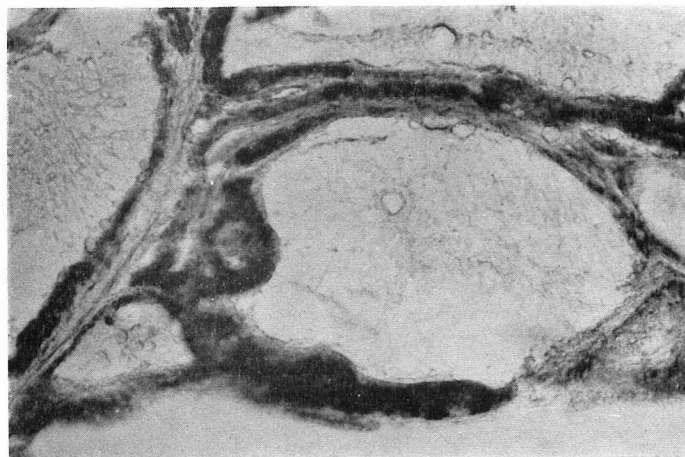


写真 5

甲状腺機能亢進症の phospho-
rylase : 100×
乳頭状発育の部分に強い活性がみられる。

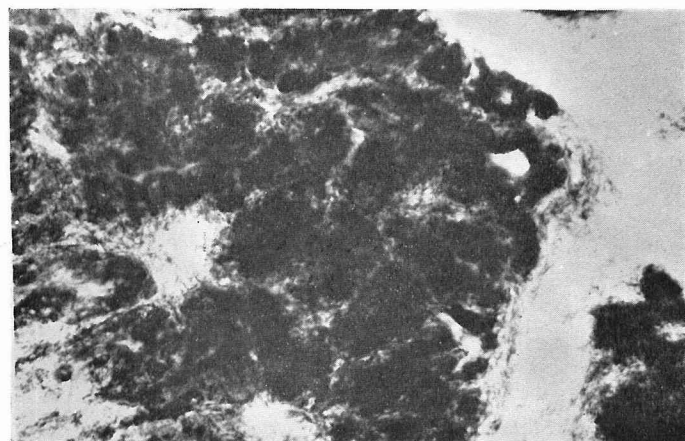


写真 6

甲状腺機能亢進症の phospho-
rylase : 40×
小濾胞には強い活性がみられる。

写真 7

正常甲状腺組織の lactic dehydrogenase : 100×

上皮細胞の基底膜に接する部分に多少強い活性がみられる。

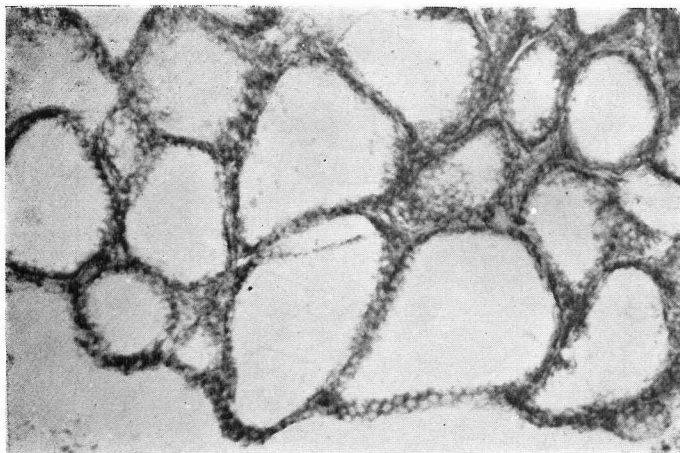


写真 8

単純性結節性甲状腺腫の lactic dehydrogenase : 100×

弱陽性例で細胞内にほぼ一様に活性が認められる。

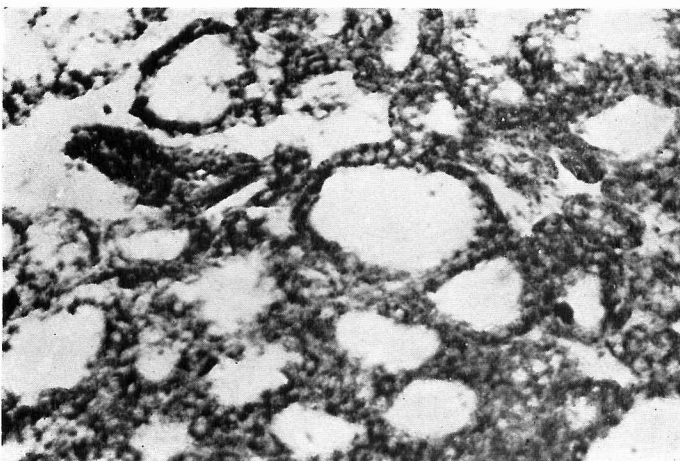
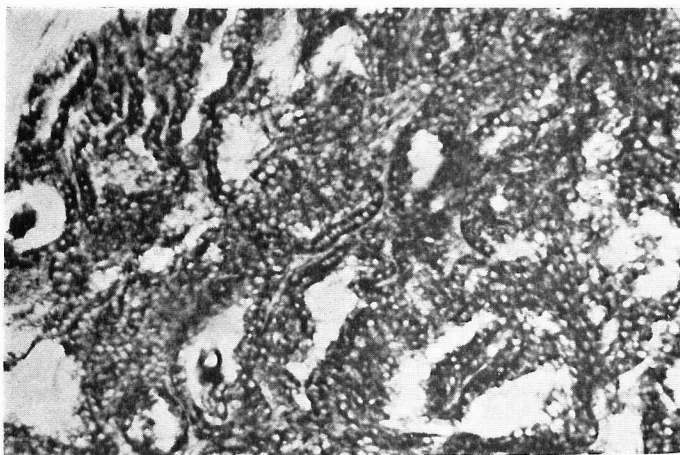


写真 9

甲状腺癌の lactic dehydrogenase : 100×

強陽性例で細胞内に一様に活性が認められる。



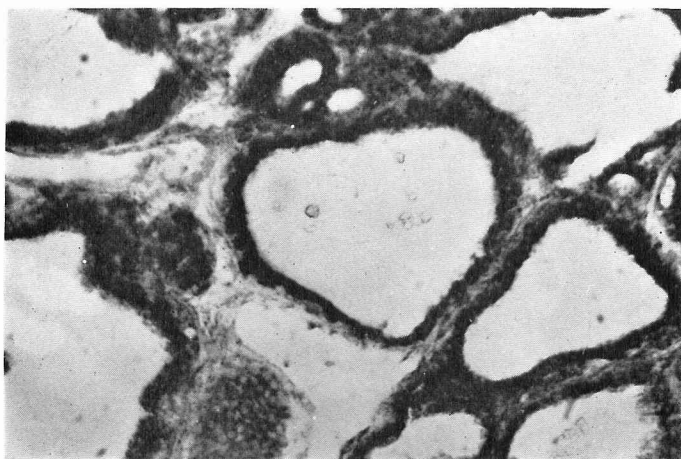


写真 10

甲状腺機能亢進症の lactic dehydrogenase : 100×
強陽性例。

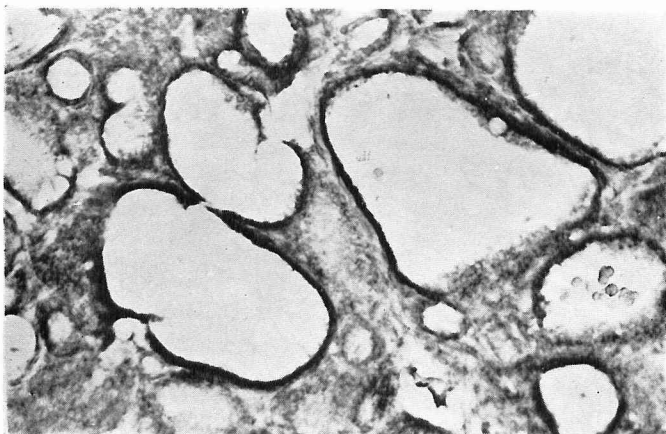


写真 11

甲状腺機能亢進症の lactic dehydrogenase : 100×
基底膜に接する部分に強い活性がみられる。

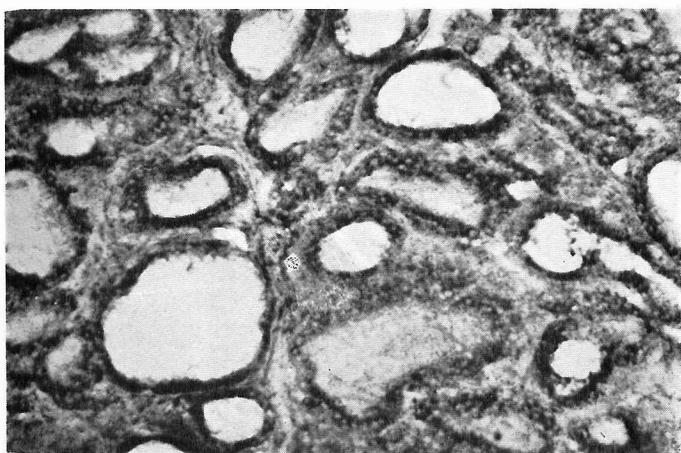


写真 12

慢性甲状腺炎の lactic dehydrogenase : 100×
中等度陽性例で、間質結合組織にも酵素活性がみられる。

写真 13

正常甲状腺組織の cytochrome oxidase : 100×
小濾胞にやや強い活性がみられる。

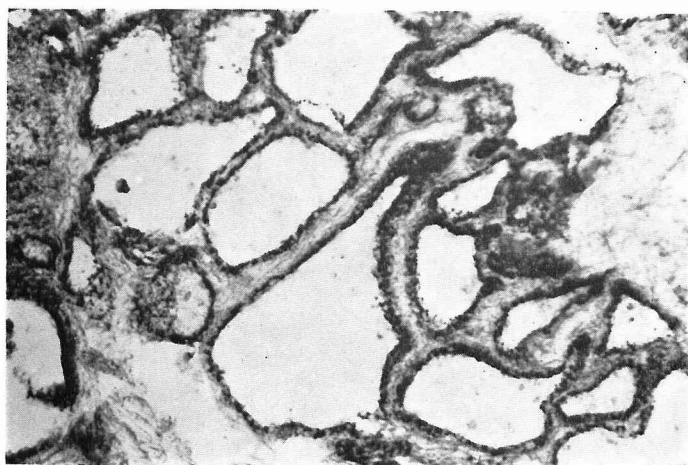


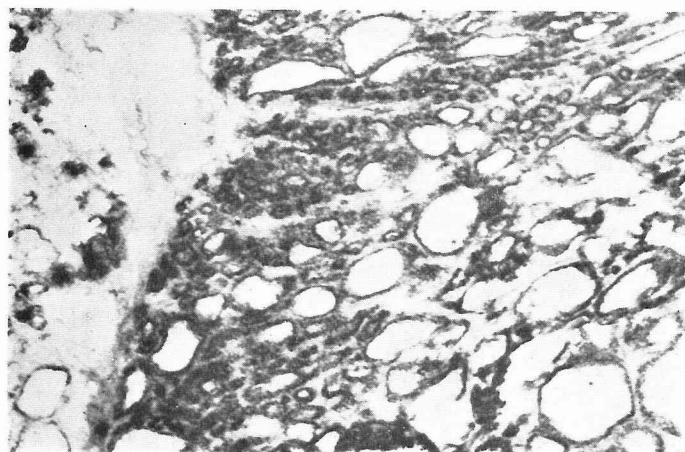
写真 14

単純性結節性甲状腺腫の cytochrome oxidase : 100×
コロイド側に活性がやや強い。



写真 15

単純性結節性甲状腺腫の cytochrome oxidase : 40×
被膜に接する小濾胞に強い活性がみられる。



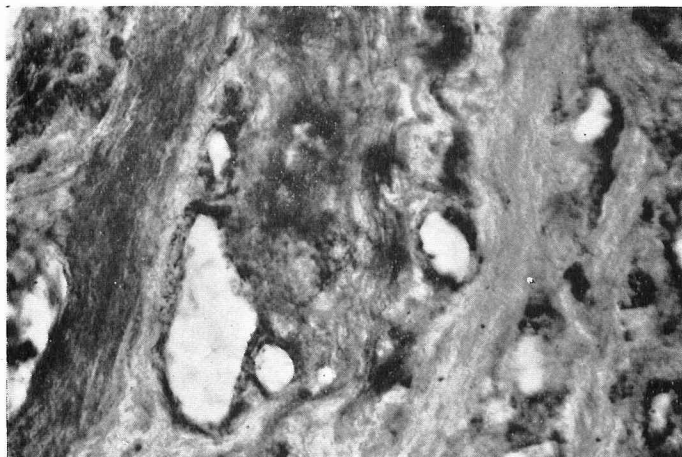


写真 16

単純性結節性甲状腺腫の cytochrome oxidase : 100×
被膜内にとり込まれた濾胞上皮細胞に強い活性がみられる。

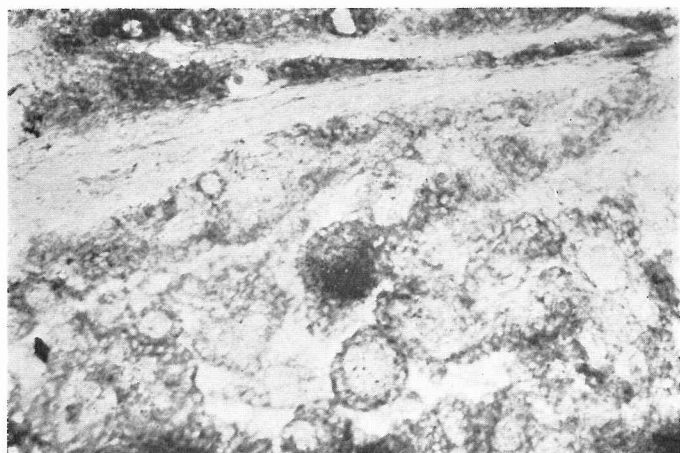


写真 17

甲状腺癌の cytochrome oxidase : 100×
弱陽性例で、その中に点状の強陽性部分がみられる。

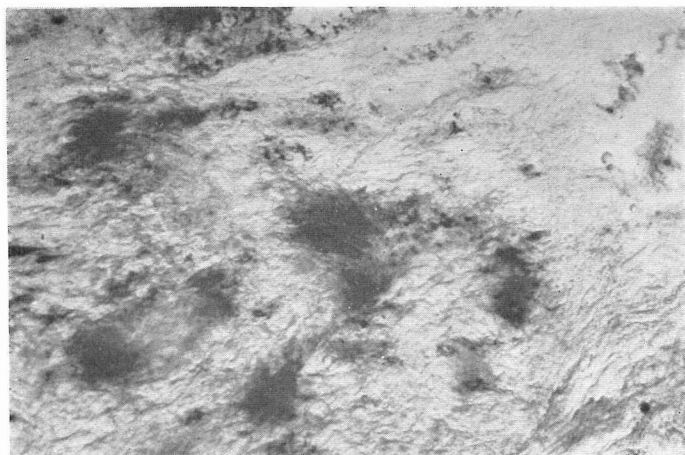


写真 18

甲状腺癌の cytochrome oxidase : 100×
間質結合織の中にとり込まれた癌細胞に活性がとくに強く認められる。

写真 19

甲状腺機能亢進症の cytochrome oxidase : 100×
強陽性例で濾胞上皮細胞のコロイド側に強い活性がみられる。



写真 20

甲状腺機能亢進症の cytochrome oxidase : 40×
乳頭状发育を示す部分及び小濾胞に強い活性がみられる。

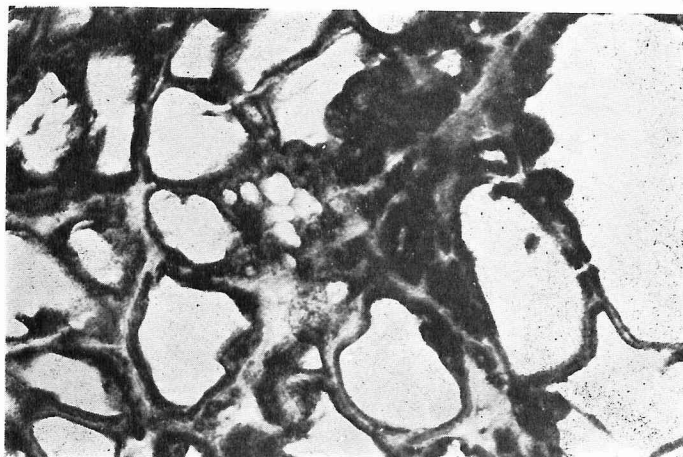


写真 21

慢性甲状腺炎の cytochrome oxidase : 100×
Hämatoxylin-Eosin 染色で好酸性がとくに強い部分に強い活性がみられる。

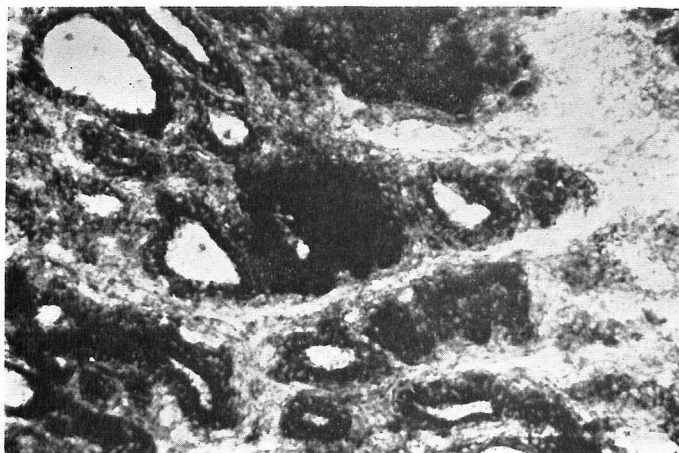




写真 22

甲状腺癌の leucine aminopeptidase : 100×
線維芽細胞と膠原線維に富む比較的幼弱な結合織に陽性。



写真 23

甲状腺癌の間質の H&E 染色 : 100×
Leucine aminopeptidase 陽性の部の H&E 染色で線維芽細胞に富む幼弱な結合織。

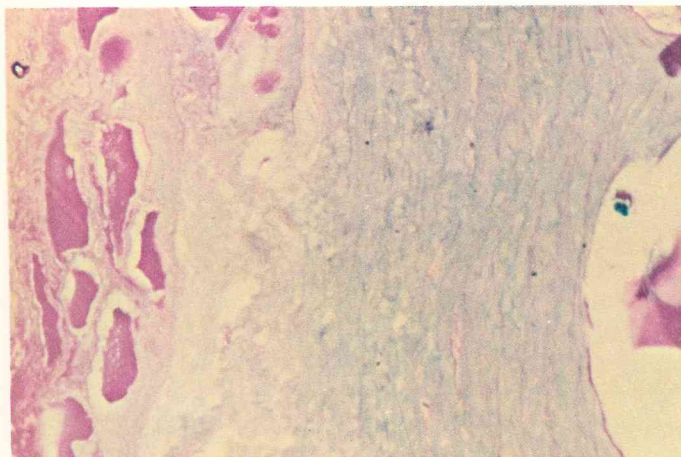


写真 24

単純性結節性甲状腺腫の alcian blue-PAS 重染色 : 100×
被膜に alcian blue 弱陽性, 結節側に多少強くみられる。

写真 25

甲状腺癌の alcian blue-PAS 重染色: 100×
腫瘍内の肝臓状の結合組織は alcian blue 強陽性である。



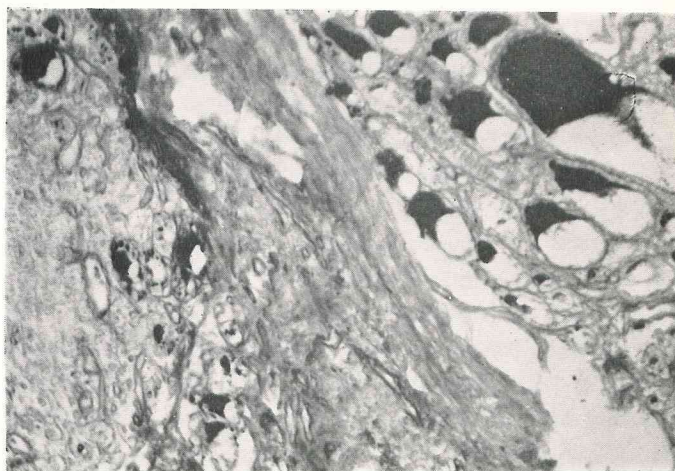
写真 26

甲状腺癌の alcian blue-PAS 重染色: 40×
乳頭腺癌の癌細胞巢の基底層に接する浮腫状間質は alcian blue 弱陽性である。
被膜様結合組織では腫瘍に接する部分は alcian blue 強陽性で、腫瘍から離れるに従って P A S 陽性の結合組織が混入する。



写真 27

甲状腺機能亢進症の alcian blue-P A S 重染色: 100×
間質結合組織は P A S 弱陽性の結合組織よりなる。



で、PAS 陽性の結合組織はきわめて少量である。甲状腺癌の間質結合組織の中でも腫瘍内に梁状に発達した肝臓状の結合組織は写真25の如くほとんど alcian blue 強陽性であり、時としてその中に PAS 弱陽性の結合組織を含むことがある。また乳頭腺癌の癌胞巢の基底層に接する浮腫状間質は写真26の如く一般に alcian blue 弱陽性である。一方、腫瘍周辺部の被膜様結合組織では写真26の如く腫瘍に接する部分は一般に alcian blue 強陽性の間質結合組織であるが、腫瘍から離れるに従って PAS 陽性の結合組織が混入するようになる。

甲状腺機能亢進症の間質結合組織は写真27の如く主として PAS 弱陽性の結合組織より成り、まれに小葉間結合組織にきわめて少量の alcian blue 弱陽性の結合組織がみられることもある。

慢性甲状腺炎の小葉間結合組織は一般に PAS 弱陽性であるがまれにその中に alcian blue 弱陽性の結合組織を認めることもある。

以上述べた成績を要約すると甲状腺癌の間質結合組織は主として alcian blue 強陽性の結合組織からなるのに対し、その他の甲状腺腫は一般に PAS 弱陽性の間質結合組織からなりその中に少量の alcian blue 弱陽性の間質を混入する。

III. 考 按

著者はエネルギー代謝系路の中で最も重要な部分を占める糖質代謝を組織化学的立場から検討するために甲状腺組織について phosphorylase, lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase 等の検索を行なった。

Phosphorylase の検出法は武内²⁾によって完成されたが、本酵素はグリコーゲンが分解して、ぶどう糖-1-りん酸が生成される際に作用するもので、解糖過程の第1段階に作用する。武内⁸⁾⁹⁾は本酵素は筋肉に多量に認められるが、筋肉以外では細胞増殖の旺盛な上皮組織に強く出現し、悪性腫瘍¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾は勿論、胎生期の上皮組織にも認められるが、成熟した正常上皮組織には一般に陰性である¹⁴⁾¹⁵⁾と述べている。本酵素は甲状腺組織においては甲状腺癌及び胎生期の甲状腺組織に出現することが報告されている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾に過ぎない。

著者の成績においては phosphorylase は、対照では1例の弱陽性を除いて他はすべて陰性であり、武内⁸⁾⁹⁾の成績とほぼ一致した結果が得られた。

単純性結節性甲状腺腫においては、ほぼ半数が陽性で組織学的に分化の程度の低い腺腫ほど phosphorylase 活性は強い傾向が認められた。またコロイド腺腫、濾胞状腺腫等の分化した腺腫においても時として小濾胞の部分に phosphorylase 活性が認められた。

これらの事実から単純性結節性甲状腺腫の小濾胞の部分にはグリコーゲンの分解が旺盛であると推測される。

甲状腺癌においては phosphorylase 強陽性例が多いが、これは一般の悪性腫瘍組織における phosphorylase の所見¹⁰⁾と一致する。ただし同一症例でも癌の浸潤先端部に活性が強いことは、この部における癌細胞の分裂が旺盛なことを示唆するものであろう。

甲状腺機能亢進症においてはほぼ半数に phosphorylase 陽性であったが、とくに乳頭状増殖を示す部分及び小濾胞の部分に活性が強いという結果が得られた。これと類似の所見は前述の如く単純性結節性甲状腺腫及び甲状腺癌においても認められたので、甲状腺機能亢進症においても phosphorylase 活性のとくに強い乳頭状増殖部及び小濾胞の部分ではエネルギー代謝が盛んであると推測される。教室の宮川¹⁰⁾の ³H-Thymidine を用いた研究によれば、甲状腺機能亢進症では細胞分裂はとくに促進していないとされているから、甲状腺癌の phosphorylase 活性の場合とは多少意義を異にしているものと推測される。

また phosphorylase の検出にヨード法を用いた場合、合成された α -1,4-polyglucose のぶどう糖結合連鎖の長さによって色調が異り、連鎖が長いほど青色調が強く、連鎖が短いほど赤色調が強くなるものとされている¹⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。著者の成績においても甲状腺癌は一般に濃青色で青色調が強く、単純性結節性甲状腺腫及び甲状腺機能亢進症では赤色調を帯びた症例が多い。このように疾患によって phosphorylase 反応の色調に差異があることは疾患によって phosphorylase の性状に多少相違があるものと推測される。

Lactic dehydrogenase は解糖過程の最後の段階に作用し、ピルビン酸と乳酸との間の反応を触媒する酵素である。本酵素の組織化学は甲状腺以外の臓器¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾では詳細に検討され、悪性腫瘍においては強い活性を示すことが知られている。甲状腺においては教室の野邑²³⁾は生化学的立場から詳細な検討を行なっている。

著者が組織化学的に検索した成績によれば本酵素は対照及び単純性結節性甲状腺腫に比較して甲状腺癌、甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎では著しく亢進しており、とくに甲状腺癌では強陽性を示すものが多かった。この成績は野邑²³⁾の解糖作用の成績とほぼ一致するものである。

さて lactic dehydrogenase は癌の浸潤先端部及び甲状腺機能亢進症の乳頭状増殖部に多少強い傾向が認められたが、これと全く同様の所見が phosphorylase においても認められているので、このような部分では

細胞の糖質代謝がとくに亢進しているものと考えられる。また lactic dehydrogenase の細胞内分布に関しては、対照、甲状腺機能亢進症等の非腫瘍組織においては上皮細胞の基底膜に接する部分に強く現れるが、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺癌等の腫瘍組織においてはこの関係が明瞭でなく細胞内に一様に認められた。この成績は後に述べる cytochrome oxidase の細胞内分布とともに腫瘍細胞における酵素学的特徴とも考えられる興味ある所見である。

間質結合織における lactic dehydrogenase は検索した甲状腺組織 114 個中 13 個に弱陽性に認められ、とくに慢性甲状腺炎において最もしばしば弱陽性に認められた。この成績から明らかな如く、甲状腺組織の lactic dehydrogenase の化学的測定に際しては間質結合織の lactic dehydrogenase も同時に測定することになり易いので、その成績の解釈には注意を必要とする。

Cytochrome oxidase に関しては幾多の研究⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾があるが、本酵素は TCA サイクルにおいて遊離した H イオン或いは電子を O_2 まで運搬し、 H_2O にする過程に作用する酵素であり、従って本酵素の活性は Warburg の組織呼吸と密接な関係にあるものと考えられる。教室の野邑⁽²³⁾はかつて甲状腺組織の組織呼吸について検討しているが、その成績は著者の cytochrome oxidase の成績とほぼ一致している。すなわち単純性結節性甲状腺腫では 1 例の例外を除いて弱陽性から強陽性の間に分布しており、その組織像との関係では腺腫様甲状腺腫を除外すれば、腺腫の分化の程度の低い腺腫程 cytochrome oxidase 活性は強い傾向が認められた。単純性結節性甲状腺腫の組織像と cytochrome oxidase に関するこの成績は前述の phosphorylase の成績ともほぼ一致するものである。

Cytochrome oxidase 活性は悪性腫瘍においては一般に減弱するものとされているが⁽²²⁾⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾、本研究においては cytochrome oxidase は必ずしも減弱せず、甲状腺癌においても中等度陽性乃至強陽性例がかなり認められた。同様のことは組織呼吸においても確認されており、野邑⁽²³⁾は甲状腺乳頭腺癌では一般に組織呼吸は亢進していると述べている。また甲状腺癌で本酵素の陰性例、弱陽性例、中等度陽性例では、しばしば点状の強陽性部分が認められることが特徴的な所見であるが、この所見の酵素学的意義は明らかではない。

Cytochrome oxidase は甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎において著しく強いが、教室の野邑⁽²³⁾、前沢⁽³⁰⁾は甲状腺機能亢進症においては組織呼吸の亢進を

報告している。この cytochrome oxidase の所見はまた糸粒体の電顕像と対比して考察すると興味深い。すなわち cytochrome oxidase を中心とする電子伝達系回路は糸粒体の cristae の表面において作用するものの⁽³¹⁾とされているが、この糸粒体は教室の丹羽⁽³²⁾及び広瀬⁽³³⁾によれば甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎においては著しく発達していることが明らかにされている。

本酵素の細胞内分布に関しては対照の一部、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺機能亢進症においては上皮細胞のコロイド側に強く現れるが、甲状腺癌においては細胞内に一様に認められた。この所見を前述の lactic dehydrogenase の細胞内分布と比較すると、lactic dehydrogenase は非腫瘍組織では上皮細胞の基底膜側に強く現われ、本酵素の細胞内分布とは逆の関係にある。また腫瘍組織とくに甲状腺癌細胞においては両酵素ともに細胞内分布に関する特性が失われ、酵素活性は細胞内に一様に認められるが、これは腫瘍の酵素学的特殊性とも考えられ興味がある。

Phosphorylase, lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase の 3 酵素の相互関係において lactic dehydrogenase と cytochrome oxidase との間にはほぼ正の相関々係が認められたが、他の酵素の間には明らかな関係は認められなかった。この点について考察を加えると、まず phosphorylase と lactic dehydrogenase は図 1 の如く解糖過程の最初と最後の段階において作用する酵素であるので、一見正の相関々係が成立する如く考えられるが、著者の成績では相関々係は認められなかった。これはこの代謝系路の途中に脂質代謝であるグリセリン代謝系路が入ってくるので、結局 lactic dehydrogenase は糖質代謝と脂質代謝の一部を負担することになり、そのため phosphorylase との間に相関々係が成立しないものと考えられる。また phosphorylase と cytochrome oxidase との間にも明らかな相関々係は認められなかったが、これら両酵素の間には多数の代謝系路が複雑に関与しているので理論的にも相関々係を期待することは困難である。

Lactic dehydrogenase と cytochrome oxidase との間には甲状腺癌を除外すれば、ほぼ正の相関々係が成立することが明らかとなったが、このことは酵素学的にまことに興味深い事実である。すなわち解糖過程でピルビン酸まで分解された物質は正常の機構が保たれている限り TCA サイクルから電子伝達系回路へ入ってくるので両者の間に正の相関々係が成立することは理解出来る。しかしながら甲状腺癌においてはこの

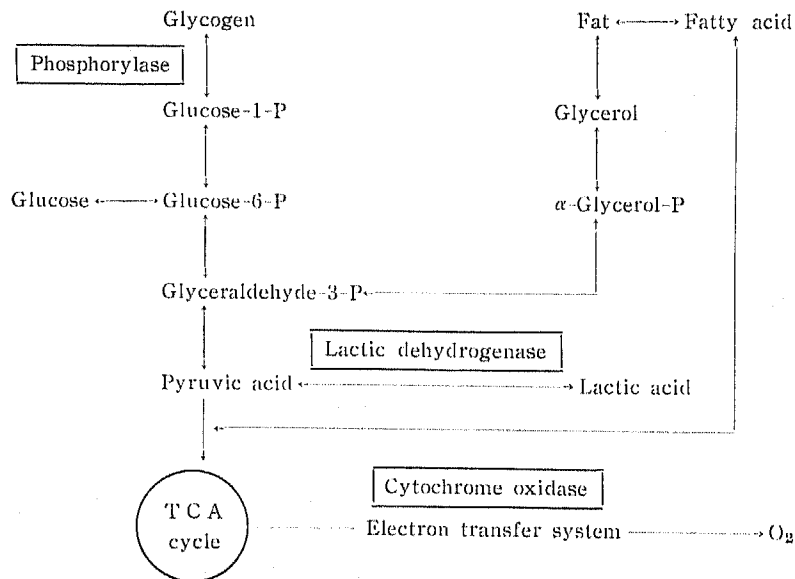


図 1. 糖質及び脂質代謝系路と酵素

正常の機構に障害があるため、ピルビン酸まで分解された糖質は TCA サイクルへ入ることが出来ず、乳酸の形で蓄積されるものと考えられる。

以上 phosphorylase, lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase の相互関係について組織酵素学的立場から考察を行なったが、この点はさらに化学的立場からも再検討されるべきであると考ええる。

Leucine aminopeptidase の組織化学的検査法として著者は Nachlas 氏法⁴⁾に従って L-leucyl-B-naphthylamide を基質としたアゾ色素法を用いたが、本法は Patterson³⁴⁾³⁵⁾等によれば厳密な意味での leucine aminopeptidase とはいえないことが指摘されている。しかしながら本酵素は蛋白質のペプチド結合の加水分解に関与する蛋白分解酵素であることには異論のない事実であるので本研究に应用した。

まず甲状腺濾胞上皮細胞における leucine aminopeptidase の出現状況は正常の甲状腺濾胞上皮細胞では全く陰性であり、少数の甲状腺機能亢進症、慢性甲状腺炎の上皮細胞にのみ軽度陽性であった。しかるに教室の小池等³⁶⁾は本法を乳腺組織に应用し、正常乳腺の腺房並びに腺管上皮には強陽性であるが、癌化すると弱陽性乃至は陰性化すると述べている。以上述べた如く甲状腺濾胞上皮細胞と乳腺の上皮細胞とでは leucine aminopeptidase の出現に著しい差異が認められた。

著者が本酵素を甲状腺組織に应用した目的は間質、就中甲状腺癌の間質における本酵素の出現状況を観察

することにあった。すなわち本酵素は Burstone³⁷⁾³⁸⁾によれば悪性腫瘍の浸潤に伴って間質の組織融解によって出現するものと解釈されているが、一方岡本³⁹⁾によれば本酵素は腫瘍浸潤の先端部に反応性に現われる一種の生体防禦機構であると解釈している。しかるに著者の成績によれば、leucine aminopeptidase は甲状腺癌のみならず、対照、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺機能亢進症、慢性甲状腺炎のいずれの間質においても陽性に認められた。さらにこの酵素は間質結合織の中でも線維芽細胞に富む比較的幼弱な結合織に陽性に認められ、硝子様結合織には多くは陰性であった。以上の事実から leucine aminopeptidase は癌の間質に特異的に現われるものではなく、Monis⁴⁰⁾も述べている如く結合織の新生の旺盛な部分に現われるものと考えられる。

著者はさらに alcian blue-PAS 重染色を用いて甲状腺腫における結合織の検討を行なった。すなわち結合織構成々分である多糖類は酸性多糖類と中性多糖類⁴¹⁾とに分けられるが、前者は alcian blue に染まり、後者は PAS に染まる性質を利用したものである。その成績は甲状腺癌の間質結合織は一般に alcian blue に好染するが、とくに癌浸潤先端部と接触する結合織及び癌結節内の梁状間質は alcian blue に強染することが判明した。また単純性結節性甲状腺腫の被膜は alcian blue に淡染し、その程度は甲状腺癌の間質結合織に比較してきわめて軽度である。これに対して対照、甲状腺機能亢進症、慢性甲状腺炎等の間質は

主として PAS 弱陽性の結合織からなり、時として alcian blue に淡染する結合織が少量認められるに過ぎない。すなわち癌の増殖に伴って出現する間質結合織は主として酸性多糖類からなり、他の甲状腺疾患の際に現われる間質結合織とは性格を異にするものである。

結 論

九田外科において取り扱った各種甲状腺腫について酵素ならびに多糖類の組織化学的研究を行ない次の結論を得た。

1. Phosphorylase は正常甲状腺組織及び慢性甲状腺炎では陰性であるが、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺機能亢進症では陰性から強陽性に至る種々の程度に認められ、甲状腺癌では強陽性に認められることが多い。

2. Phosphorylase は単純性結節性甲状腺腫の分化の程度の低い腺腫程強く認められ、また甲状腺癌の浸潤先端部、甲状腺機能亢進症の乳頭状増殖部及び小濾胞の部分に強く認められる。

3. Lactic dehydrogenase は正常甲状腺組織及び単純性結節性甲状腺腫では一般に弱陽性であり、甲状腺癌、甲状腺機能亢進症、慢性甲状腺炎では中等度陽性あるいはそれ以上である。

4. Lactic dehydrogenase は甲状腺癌の浸潤先端部及び甲状腺機能亢進症の乳頭状増殖部に強く出現する傾向が認められる。

5. Lactic dehydrogenase の細胞内分布は正常甲状腺組織及び甲状腺機能亢進症では、基底膜に接する部分に強く現われるが、単純性結節性甲状腺腫及び甲状腺癌では細胞内に一様に認められる。

6. Cytochrome oxidase は正常甲状腺組織では弱陽性であるが、単純性結節性甲状腺腫及び甲状腺癌では陰性から強陽性に至るまで種々の程度に認められ、甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎では全例中等度陽性以上である。

7. Cytochrome oxidase は単純性結節性甲状腺腫の分化の程度の低い腺腫程強く認められ、甲状腺機能亢進症の乳頭状増殖部、甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎の好酸性変化の強い部分にともに強い活性が認められる。

8. Cytochrome oxidase の細胞内分布に関しては、単純性結節性甲状腺腫、甲状腺機能亢進症においては上皮細胞のコロイド側に強く現われるが、正常甲状腺組織、甲状腺癌においては細胞内に一様に認められる。

9. Phosphorylase, lactic dehydrogenase, cytochrome oxidase の相互関係を検討すると、lactic dehydrogenase と cytochrome oxidase との間には、甲状腺癌を除外すれば、ほぼ正の相関関係が認められるが、他の酵素間には明らかな関係は認められない。

10. 甲状腺濾胞上皮細胞における leucine aminopeptidase は、2, 3 の軽度陽性例を除いて他はすべて陰性である。

11. 間質結合織の leucine aminopeptidase は、甲状腺疾患の種類とは関係なく、結合織の増生が盛んな部位に出現する。

12. 間質多糖類の組織化学では甲状腺癌の間質は alcian blue 強陽性の結合織からなるが他の甲状腺腫の間質は一般に PAS 弱陽性の間質結合織からなる。

13. すなわち phosphorylase 及び lactic dehydrogenase 等の解糖系酵素は甲状腺癌、甲状腺機能亢進症及び一部の単純性結節性甲状腺腫等の増殖傾向の強い組織の上皮細胞に強く出現し、cytochrome oxidase は甲状腺機能亢進症及び慢性甲状腺炎等の上皮細胞にともに強く出現し、また間質においては、leucine aminopeptidase は甲状腺疾患の種類とは関係なく結合織の増生の盛んな部分に出現し、間質多糖類の構成は甲状腺癌と他の甲状腺腫との間に著しい差異があることを明らかにした。

文 献

- 1) 佐野悦司：信州医誌，8：1263，1959.
- 2) 武内忠男：東京医事新誌，71：519，1954.
- 3) 武内忠男：熊本医会誌，29：補冊4，565，1955.
- 4) Nachlas, M. M.: J. biophys. biochem. Cytol., 4: 29, 1958.
- 5) Burstone, M. S.: J. Histochem. Cytochem., 9: 59, 1961.
- 6) Nachlas, M. M.: J. Histochem. Cytochem., 5: 264, 1957.
- 7) Vialli Lison: 臨床検査，7: 214, 1963 より引用.
- 8) 武内忠男：東京医事新誌，72: 191, 1955.
- 9) 武内忠男：東京医事新誌，73: 137, 1956.
- 10) 武内忠男：東京医事新誌，73: 282, 1956.
- 11) 武内忠男：細胞化学シンポジウム，14: 137, 1964.
- 12) 武内忠男：日本病理会誌，55: 35, 1966.
- 13) 木下謙治：医学研究，27: 1689, 1957.
- 14) 武内忠男：東京医事新誌，73: 279, 1956.
- 15) 武内忠男：酵素組織化学，p. 200, 1968, 朝倉書

- 店.
- 16) 宮川 信: 第8回日本核医学会総会にて発表
- 17) 武内忠男: 熊本医会誌, 33: 189, 1959.
- 18) Swanson, M. A.: J. biol. Chem., 172: 825, 1948.
- 19) Monis, B.: Cancer, 12: 1238, 1959.
- 20) 高野晃寧: 癌の臨床, 13: 151, 1967.
- 21) 延藤栄男: 岡山医会誌, 77: 251, 1965.
- 22) 森 昌彦: 腫瘍酵素組織化学, p. 349, 1966, 医学書院.
- 23) 野邑道夫: 信州医誌, 12: 448, 1963.
- 24) Keilin, D.: 臨床科学, 2: 1531, 1966 より引用.
- 25) Lison, L.: Bull. Soc. Chem. biol., 18: 185, 1936.
- 26) Gräff, S.: Zbl. allg. Path. path. Anat., 35: 481, 1925.
- 27) Hannibal, M. J.: Cancer, 13: 1008, 1960.
- 28) Burstone, M. S.: J. Histochem. Cytochem., 8: 63, 1960.
- 29) Burstone, M. S.: Enzyme Histochemistry, p. 444, 1962, Academic press, New York.
- 30) 前沢 潭: 信州医誌, 7: 714, 1958.
- 31) 小田琢三: 細胞生物学, p. 167, 1967, 朝倉書店.
- 32) 丹羽康平: 信州医誌, 12: 207, 1963.
- 33) 広瀬義明: 信州医誌, 17: 377, 1968.
- 34) Patterson, E. K.: J. Histochem. Cytochem., 9: 609, 1961.
- 35) Patterson, E. K.: J. biol. Chem., 238: 3611, 1963.
- 36) 小池綏男: 第9回日本組織細胞化学会総会にて発表
- 37) Burstone, M. S.: J. nat. Cancer Inst., 16: 1149, 1956.
- 38) Glenner, G. G.: J. nat. Cancer Inst., 23: 857, 1959.
- 39) 岡本吉弘: 癌の臨床, 7: 649, 1961.
- 40) Monis, B.: Cancer, 12: 601, 1959.
- 41) Lison, L.: 組織化学および細胞化学, p. 361, 1962, 白水社.
- 42) Tremblay, G.: J. Path. Bact., 80: 353, 1960.
- 43) Lindsay, S.: Arch. Path., 75: 627, 1967.
- 44) Pakdman, P.: Surg. Gynec. Obstet., 113: 542, 1961.
- 45) Harcourt-Webster, J. N.: J. Path. Bact., 92: 291, 1966.

(昭和44年3月20日 受付)