

顕微分光測光法による各種甲状腺疾患の細胞核内 DNA 量に関する研究

昭和42年1月17日 受付

信州大学丸田外科教室

折井孝雄

Microspectrophotometric Studies on Deoxyribonucleic Acid (DNA) Content in Nuclei of Various Thyroid Diseases

Takao Orii

Prof. Maruta's Surgical Clinic, Shinshu University

緒言

核酸は生体内で蛋白と結合して核蛋白を形成し、細胞の増殖、蛋白質合成など生命現象の基本的活動を支配する物質で、その分子中に含まれる糖質により2種類に分けられている。すなわち、デオキシリボ核酸 (DNA) は細胞核の染色体に局在し、遺伝的因子と密接な関係を有し、リボ核酸 (RNA) は細胞核にも、細胞質にも広く分布して、蛋白質合成に関与している^①。

従来 DNA 量の測定については生化学的方法により組織の単位重量に対する DNA 量が測定されていたが、近年 Caspersson ら^②の考案による顕微分光測光法 (Microspectrophotometry) が急速に発達し、細胞核1コあたりの DNA 量の測定が可能となつた^{③④⑤⑥}。この顕微分光測光法によつて測定された細胞核の DNA 量は同種の動物では一定値を示し、さらに生殖細胞の DNA 量は体細胞の2分の1量であるという事実が一般に承認されるようになった^{⑦⑧⑨⑩⑪⑫}。また核の DNA 量と染色体数とは平行関係にあることも知られている^{⑬⑭⑮⑯}。従つて染色体の場合と同様に DNA 量がある基本量 (性細胞核の DNA 量) の整数倍にある核を2倍体、4倍体、8倍体といい、とくに4倍体、8倍体以上を多倍体というが、ヒストグラムでこれらが占める量域を2倍体域、4倍体域等といい、その左右の量域を低4倍体域、ないしは高4倍体域等と呼んでいる^⑰。顕微分光測光法による腫瘍細胞核の DNA 量に関する研究も漸次報告されるようになったが^{⑱⑲⑳㉑㉒㉓}、その多くは実験的腫瘍に関する研究であつて、人体腫瘍における DNA 量の研究はまだ極めて少ない^{⑳㉑㉒㉓}。

著者は丸田外科教室で取り扱つた甲状腺の腺腫並びに癌を研究材料として腫瘍細胞の核内 DNA 量を顕微分光測光法により測定し、これら細胞核の DNA 量

とそのヒストグラム上の分散の程度とを病理組織学的所見と比較検討し、さらにバセドウ氏病、亜急性甲状腺炎、橋本氏甲状腺腫等の濾胞上皮細胞核の DNA 量を測定して同様に比較検討を行ない、各種甲状腺疾患の細胞核内 DNA 量に関する研究を行なつた。

研究材料並びに研究方法

A. 研究材料

研究材料は単純性結節性甲状腺腫17例 (コロイド腺腫5例、乳頭状腺腫5例、管状腺腫5例、索状腺腫2例)、甲状腺癌18例 (乳頭状腺癌11例、濾胞状腺癌4例、単純癌3例)、バセドウ氏病20例 (Struma diffusa parenchymatosa basedowiana 5例、Struma diffusa colloides basedowificata 5例、Struma diffusa colloides macrofollicularis proliferans 5例、Struma diffusa colloides macrofollicularis nonproliferans 5例)、亜急性甲状腺炎5例、橋本氏甲状腺腫5例であつて、別に10例の単純性結節性甲状腺腫患者の結節の反対側腺葉より採取した正常甲状腺組織を用い、さらに対照として正常リンパ腺組織内のリンパ球を用いた。

B. 研究方法

著者が用いた顕微分光測光法は Pollister^④、直良ら^{⑤⑥}によつて紹介された間接法であつて、Feulgen 反応により染色された核内の DNA について、顕微分光光度計を用い、その透過率を測定して間接的に核内 DNA 量を測定した。すなわち、手術により採取した組織片を10%フォルマリン液で固定した後、パラフィンで包埋し、核の重複、切断を最小限にさけるために、厚さ12 μ の薄切々片を作製した。DNA 染色法は Feulgen 原法^④に従つた。スライドガラス、カバーガラスは共に厚さ0.16~0.17mm (偏差0.01mm以内) のガラス板を用い、封入にはツエーデル油を用いた。

細胞核内 DNA 相対量 (以下単に DNA 量) の測定はオリンパス光学製の MSP-A IV 型を使用し、波長はタンダステン光源の 557m μ の波長を用いた。ついで薄切々片より顕微鏡下で核相互の重複、切断等のない細胞核を任意に 100 コ選び出し、組織片外に盲検を行なった後、核の中央に一定の大きさのスポット (直径 1.6 μ) をあて、その核の吸光度 E を求めた。ついで接眼マイクロメーターで核の長径 (a), 短径 (b) を測定し、細胞核 1 コあたりの DNA 量を直良の方法 ($E \cdot r^2$) に準じて^{①②}、著者は Eab で表わした。

各症例の測定値は度数分類表にまとめ、横軸に DNA 量 (Eab), 縦軸に細胞核数 (%) をとりヒストグラムにて表現した。

研究成績

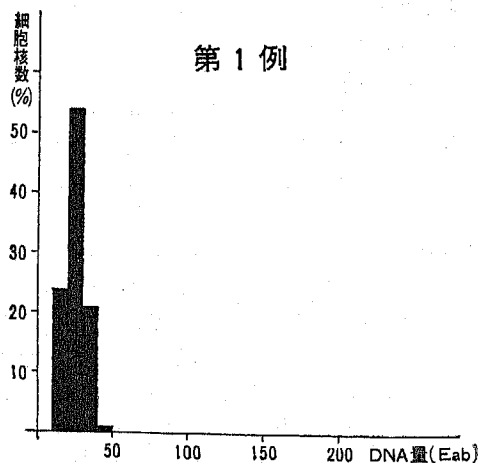
A. 正常リンパ球

対照として測定した正常リンパ腺組織内リンパ球の核内 DNA 量は表 1 のごとき度数分布を示し、その代表例として第 1 例のヒストグラムを図 1 に示すと、細胞核の DNA 量はほぼ 10~50Eab の間にまとまって分布し、その最頻値は 20~30Eab にある。ヒストグ

表 1 対 照 (正常リンパ球)

DNA 量 (Eab)		- 10 - 20 - 30 - 40 - 50 - 60 -					
細胞核数	第 1 例	24	54	21	1		
	2	19	56	22	3		
	3	28	58	13	1		
	4	5	62	32	1		
	5	25	42	24	8	1	

図 1 正 常 リ ン パ 球



ラムでは 20~30Eab を頂点とした左右対称性釣鐘型を示している。従つて著者は本研究においては 20~30 Eab の量域を 2 倍体域とみなし、以下の成績を判定することとした。

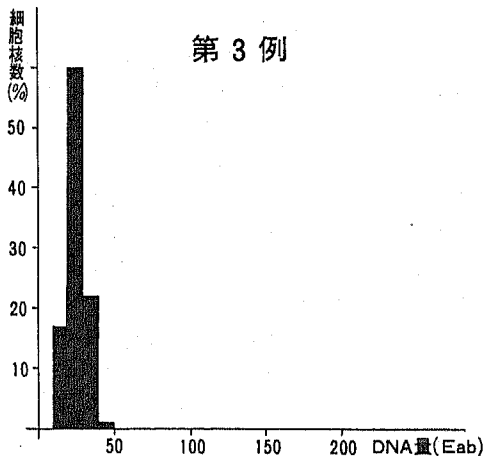
B. 正常甲状腺

正常甲状腺 10 例の濾胞上皮細胞核の DNA 量を度数分布で示すと表 2 のごとくで、細胞核の DNA 量は正常リンパ球と同様にはほぼ 10~50Eab の間にまとまって分布し、その最頻値は多くは 20~30Eab にある。その代表例として第 3 例のヒストグラムをみると図 2 のごとくで、20~30Eab, すなわち 2 倍体域を頂点とし左右対称性釣鐘型を示している。従つて正常甲状腺の濾胞上皮細胞 1 コあたりの核内 DNA 量はリンパ球のそれと同一であると推測される。

表 2 正 常 甲 状 腺

DNA 量 (E a b)		0 - 10 - 20 - 30 - 40 - 50 - 60 -					
細胞核数	第 1 例	2	46	52			
	2		36	40	24		
	3		17	60	22	1	
	4		23	51	24	2	
	5		8	43	45	4	
	6		26	39	32	3	
	7		11	43	32	14	
	8		22	45	31	1	1
	9		9	45	34	10	2
	10		12	51	27	6	4

図 2 正 常 甲 状 腺



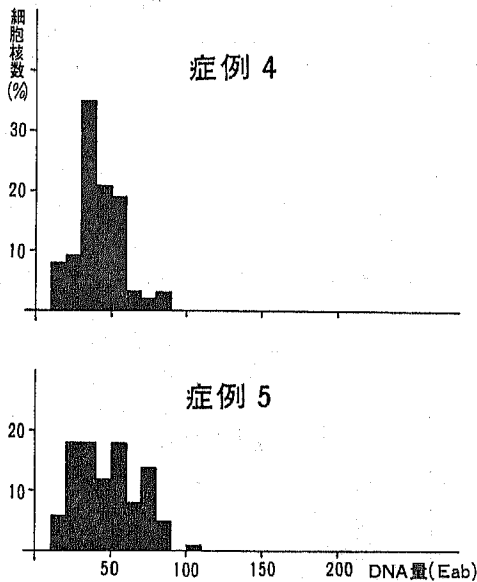
C. 単純性結節性甲状腺腫

I. コロイド腺腫

表3 単純性結節性甲状腺腫
——コロイド腺腫——

DNA量 (Eab)		-10-	20-	30-	40-	50-	60-	70-	80-	90-	100-	110-
細胞核数	症例 1	11	59	21	5	4						
	2	12	23	27	21	11	6					
	3	6	21	39	21	6	3	3	1			
	4	8	9	35	21	19	3	2	3			
	5	6	18	18	12	18	8	14	5			1

図3 単純性結節性甲状腺腫
——コロイド腺腫——



コロイド腺腫5例の腺腫細胞核のDNA量は表3のごとき度数分布を示し、その代表例2例のヒストグラムを図3に示した。腺腫細胞核のDNA量は大部分10~90Eabの間に分布し、最頻値は1例が20~30Eab、3例が30~40Eabにあり、5例中4例は単峰性分布を示すが、症例5では最頻値は20~40Eabと50~60

Eabにあるが、70~80Eabにも峰がみられる。

II. 乳頭状腺腫

乳頭状腺腫5例の腺腫細胞核のDNA量は表4のごとき度数分布を示し、その代表例2例のヒストグラムを4図に示した。腺腫細胞核のDNA量は10~100Eabの間に分布し、最頻値は4例が20~30Eabにあるが、症例5では最頻値が40~50Eabに移動している。

図4 単純性結節性甲状腺腫
——乳頭状腺腫——

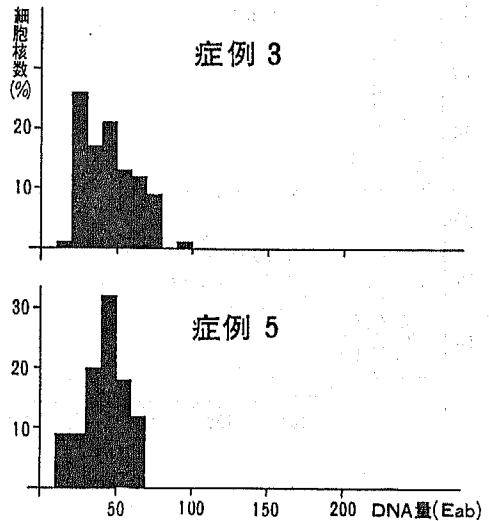


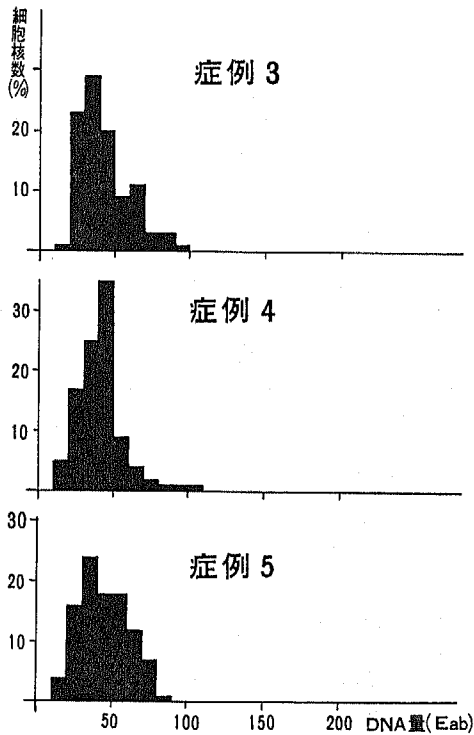
表4 単純性結節性甲状腺腫
——乳頭状腺腫——

DNA量 (Eab)		-10-	20-	30-	40-	50-	60-	70-	80-	90-	100-
細胞核数	症例 1	4	39	37	10	6	4				
	2	8	29	23	14	19	4	2	1		
	3	1	26	17	21	13	12	9		1	
	4	6	32	21	17	7	7	8	1	1	
	5	9	9	20	32	18	12				

表 5 単 純 性 結 節 性 甲 状 腺 腫
— 管 状 腺 腫 —

DNA 量 (E a b)		- 10	- 20	- 30	- 40	- 50	- 60	- 70	- 80	- 90	- 100	- 110	-
細胞核数	症 例 1	15	35	26	14	5	1	2	2				
	2	5	44	14	11	14	11			1			
	3	1	23	29	20	9	11	3	3	1			
	4	5	17	25	35	9	4	2	1	1	1		
	5	4	16	24	18	18	12	7	1				

図 5 単 純 性 結 節 性 甲 状 腺 腫
— 管 状 腺 腫 —

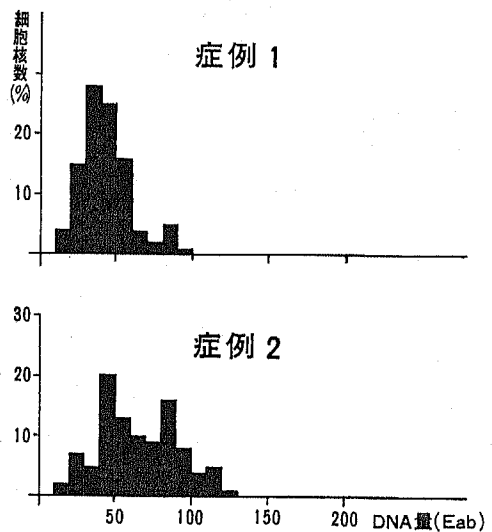


の間に分布し、最頻値は 20~30Eab に 2 例、30~40 Eab に 2 例、40~50Eab に 1 例あり、とくに症例 4 では最頻値の峰は軽度で右方に移動し、また症例 5 では最頻値の巾が拡がり、明らかな峰を示していない。

Ⅳ. 索状腺腫

索状腺腫 2 例の腺腫細胞核の DNA 量は表 6 のごとき度数分布を示し、そのヒストグラムを図 6 に示した。腺腫細胞核の DNA 量は症例 1 では 10~100Eab の間に分布し、最頻値は 30~40Eab にあり、DNA 量はコロイド腺腫、乳頭状腺腫、管状腺腫等と同程度で

図 6 単 純 性 結 節 性 甲 状 腺 腫
— 索 状 腺 腫 —



Ⅲ. 管状腺腫

管状腺腫 5 例の腺腫細胞核の DNA 量は表 5 のごとき度数分布を示し、その代表例 3 例のヒストグラムを図 5 に示した。腺腫細胞核の DNA 量は 10~110Eab

表 6 単 純 性 結 節 性 甲 状 腺 腫
— 索 状 腺 腫 —

DNA 量 (E a b)		- 10	- 20	- 30	- 40	- 50	- 60	- 70	- 80	- 90	- 100	- 110	- 120	- 130	-
細胞核数	症 例 1	4	15	28	25	16	4	2	5	1					
	2	2	7	5	20	13	10	9	16	8	4	5	1		

あるが、症例2においては腺腫細胞核のDNA量は10~130Eabの間に分布し、そのヒストグラムが示すごとく分布の中は拡がり、大半が50Eab以上の量域にあつて100Eabを越える細胞核も見られ、最頻値は40~50Eabにあるが、80~90Eabにも峰があり、明白な2峰性分布を示している。

V. 小 括

以上の成績を綜括すれば、コロイド腺腫、乳頭状腺腫、管状腺腫、索状腺腫等の各腺腫細胞核のDNA量は一般に正常甲状腺より増量しており、その細胞核はヒストグラムでは多倍体域にわたる広範な分布を示し、最頻値は多くは2倍体域ないし高2倍体域にある。なかでも索状腺腫では最頻値は高2倍体域ないし4倍体域にあつて、4倍体以上の細胞核が増加し、明白な2峰性分布を示して、以下述べる甲状腺癌、とくに乳頭状腺癌と区別しがたいものもある。

D. 甲状腺癌

1. 乳頭状腺癌

乳頭状腺癌11例における癌細胞核のDNA量は表7のごとき度数分布を示し、その代表例4例のヒストグラムを図7に示した。癌細胞核のDNA量は大部分10~150Eabの間に分布するが、1例では180Eabに及んでいる。このうち症例1~4では、図7の症例3のヒストグラムで代表されるごとく、最頻値は40~60Eabにあつて単峰性分布を示す。症例5~9では30~50Eabに最頻値があるが、50Eab以上の量域にも第2の峰があつて、症例5のヒストグラムで代表されるごとく2峰性分布を示している。また症例10も2峰性分布を示すが、60~70Eabにある第2の峰が30~40Eabにある第1の峰より高い。症例11は最も巾広い

分布を示し、最頻値は100~110Eabにある。

II. 濾胞状腺癌

濾胞状腺癌4例における癌細胞核のDNA量は表8のごとき度数分布を示し、その代表例3例のヒストグ

図7 甲 状 腺 癌
——乳頭状腺癌——

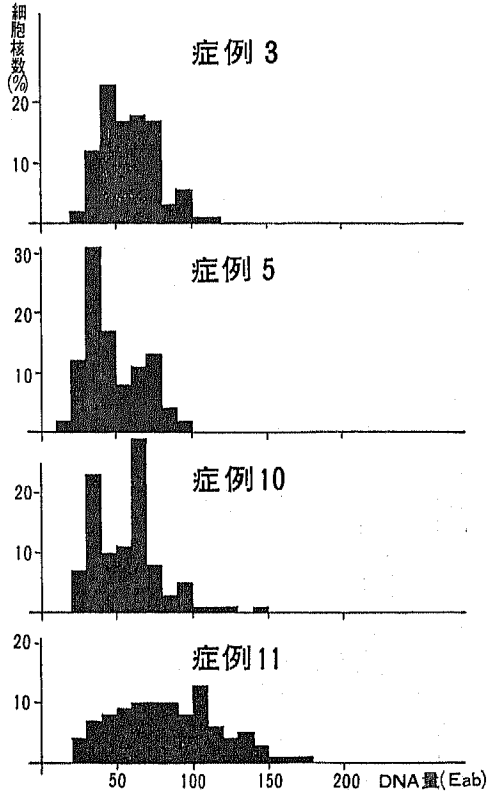


表7 甲 状 腺 癌
——乳頭状腺癌——

DNA 量 (E a b)		-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-90	-100	-110	-120	-130	-140	-150	-160	-170	-180-	
細 胞 核 数	症 例 1	1	7	17	18	12	11	14	12	8										
	2	2	19	16	15	24	10		9	2	3									
	3		2	12	23	17	18	17	3	6	1	1								
	4			2	4	8	25	19	22	9	2	1	8							
	5		2	12	31	17	8	11	13	4	2									
	6			6	11	29	16	9	13	9	3	4								
	7		4	22	24	12	12	18	3	3		2								
	8		2	13	30	22	7	10	10	2					3	1				
	9			2	9	26	19	6	24	8		1	2		1	2				
	10			7	23	10	11	29	8	3	5	1	1	1		1				
	11			4	7	8	9	10	10	10	8	13	6	4	5	3	1	1	1	

表 8 甲 状 腺 癌
— 濾 胞 状 腺 癌 —

DNA 量 (E a b)		-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-90	-100	-110	-120	-130	-140	-150	-160
細胞核数	症例 1			2	23	22	28	14	4	1	4		2				
	2			3	21	18	24	4	10	10	2	3	3	2			
	3			8	22	17	5	15	16	8	2	2	1	3	1		
	4			4	23	8	15	12	6	9	8	6	5		1	1	1

表 9 甲 状 腺 癌
— 単 純 癌 —

DNA 量 (E b a)		-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-90	-100	-110	-120	-130	-140	-150	-160	-170	-180	-190
細胞核数	症例 1		15	12	17	10	14	2	11	3	3	2	2	4	3	1	1			
	2		8	13	15	16	12	5	4	7	4	6	4	2	2	1	1			
	3		7	4	15	10	8	8	12	4	8	5	1	7	4	1	1	2	3	

図 8 甲 状 腺 癌
— 濾 胞 状 腺 癌 —

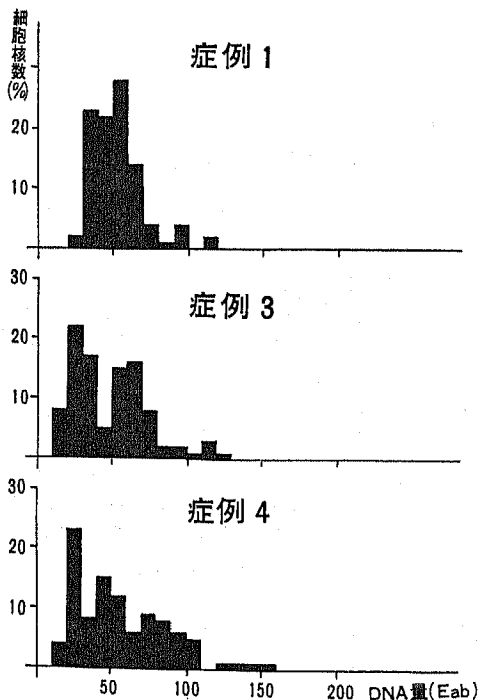
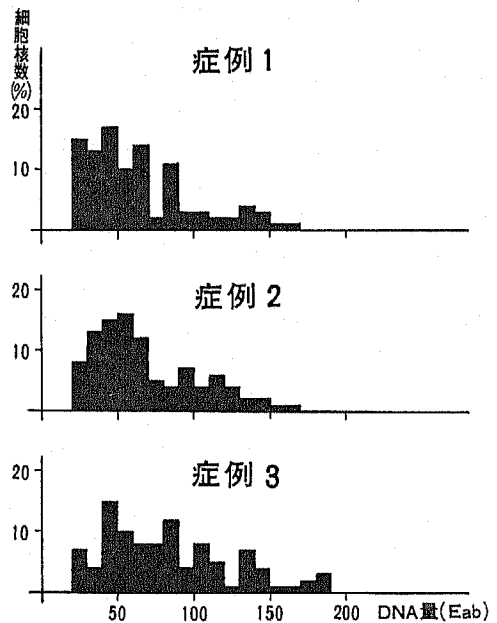


図 9 甲 状 腺 癌
— 単 純 癌 —



ラムを図 8 に示した。癌細胞核の DNA 量は 3 例では 130Eab 以内に分布し、1 例では 160Eab に及んでいる。症例 1 及び症例 2 では 50~60Eab に最頻値があり、症例 3 では最頻値は 20~30Eab と 60~70Eab とにあつて 2 峰性分布を示し (図 8)、症例 4 では最頻

値は 20~30Eab にあるが、40~50Eab 及び 70~80Eab にも第 2、第 3 の峰を有する多峰性分布を示している (図 8)。

Ⅲ. 単 純 癌

単純癌 3 例における癌細胞核の DNA 量は表 9 のごとき度数分布を示し、そのヒストグラムを図 9 に示した。癌細胞核の DNA 量は乳頭状腺癌、濾胞状腺癌等

に比較して分布の中が著しく拡がり、そのヒストグラム(図9)が示すごとく、最頻値は凡そ 50Eab 附近にあるが明白でなく、症例3のごとく多峰性分布を示すものもある。

IV. 小 括

甲状腺癌の癌細胞核の DNA 量は一般に著明に増量し、その細胞核はヒストグラムでは多倍体域に及ぶ広範な分布を示し、単純性結節性甲状腺腫に比較して4倍体以上の細胞核の出現が多くなっている。癌の組織像にもとづいて考察すれば、乳頭状腺癌並びに濾胞状腺癌においては最頻値は2倍体域から高4倍体域にあつて、単峰性ないし2峰性分布を示し、両者の間には DNA 量に有意差を認めない。一方単純癌においては

前2者に比較してヒストグラム上の分布の中はさらに拡がり、多倍体細胞が一層多くなり、最頻値の峰は判然とせず、多峰性分布を示すものもあつて、腺癌と単純癌との DNA 量には明白な差異がみられる。

E. バセドウ氏病

バセドウ氏病の濾胞上皮細胞核の DNA 量を組織像別にみると表10~13のごとき度数分布を示し、各組織像の代表例のヒストグラムを図10~13に示した。Struma diffusa parenchymatosa basedowiana における濾胞上皮細胞核の DNA 量は0~70Eab の間に分布し、その最頻値は10~40Eab にある。Struma diffusa colloides basedowificata においては10~70Eab の間に分布し、20~40Eab に最頻値があり、

表10 バセドウ氏病

— Struma diffusa parenchymatosa basedowiana —

DNA 量 (E a b)		0 - 10 - 20 - 30 - 40 - 50 - 60 - 70 -	術 前 投 薬
細胞核数	症例 1	2 46 40 10 2	メルカゾール44日間
	2	11 49 26 6 7 1	メルカゾール28日間
	3	6 29 39 18 7 1	メチオシル38日間
	4	8 45 29 9 5 4	{メルカゾール34日間 レセルビン11日間
	5	18 48 17 10 5 2	メルカゾール32日間

表11 バセドウ氏病

— Struma diffusa colloides basedowificata —

DNA 量 (E a b)		0 - 10 - 20 - 30 - 40 - 50 - 60 - 70 -	術 前 投 薬
細胞核数	症例 1	29 59 11 1	メルカゾール35日間
	2	17 39 23 16 5	メルカゾール40日間
	3	32 47 15 4 2	メルカゾール32日間
	4	10 62 20 6 2	メチオシル50日間
	5	4 33 35 11 13 4	メルカゾール37日間

表12 バセドウ氏病

— Struma diffusa colloides macrofollicularis proliferans —

DNA 量 (E a b)		0 - 10 - 20 - 30 - 40 - 50 - 60 - 70 -	術 前 投 薬
細胞核数	症例 1	46 49 5	メルカゾール29日間
	2	12 42 22 11 13	{メルカゾール52日間 レセルビン5日間
	3	1 23 45 23 8	{メルカゾール42日間 ルゴール26日間
	4	6 60 20 9 4 1	メルカゾール29日間
	5	9 48 18 18 5 2	{メルカゾール22日間 ルゴール14日間

表13 バセドウ氏病

— Struma diffusa colloidis macrofollicularis nonproliferans —

DNA量 (E a b)		0	10	20	30	40	50	60	70	80	術前投薬
細胞核数	症例 1			28	47	23	2				メルカゾール72日間
	2			40	47	11	2				{メルカゾール47日間 レセルピン15日間
	3			23	51	22	3	1			メルカゾール39日間
	4			20	39	28	8	5			{メチオシール45日間 ルゴール21日間
	5	1	17	44	27	3	4	3	1		{メルカゾール45日間 ルゴール20日間

図10 バセドウ氏病

— Struma diffusa parenchymatosa basedowiana —

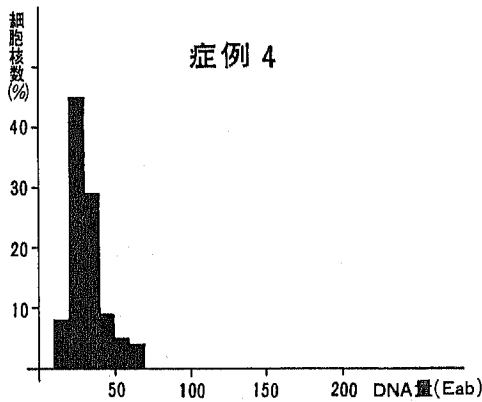


図12 バセドウ氏病

— Struma diffusa colloidis macrofollicularis proliferans —

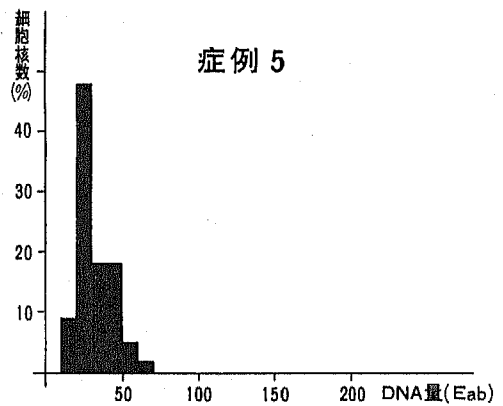


図11 バセドウ氏病

— Struma diffusa colloidis basedowificata —

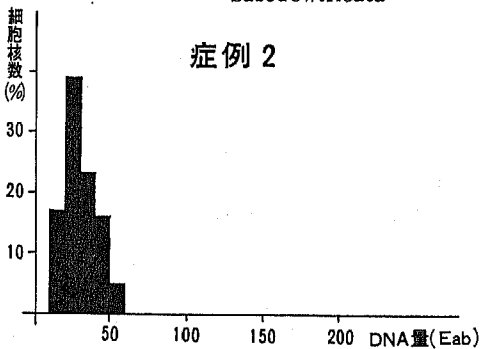
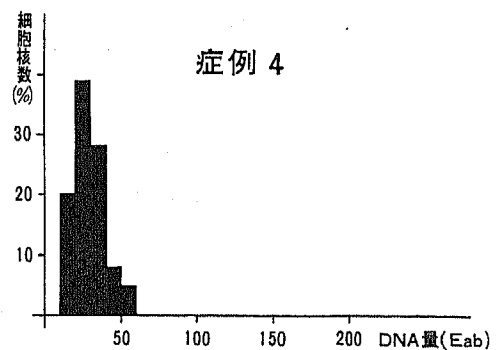


図13 バセドウ氏病

— Struma diffusa colloidis macrofollicularis nonproliferans —



Struma diffusa colloidis macrofollicularis proliferans においては10~70Eabの間に分布し、20~40Eabに最頻値があり、また Struma diffusa colloidis macrofollicularis nonproliferans においては0~80Eabの間に分布し、20~30Eabに最頻値が

あるが、いずれの組織においても大部分は50Eab以下に分布し、また最頻値も正常甲状腺と同様にはほぼ20~30Eab、すなわち2倍体域にあつて各組織の間に有意差を認めない。従つてバセドウ氏病甲状腺腫の細胞

核の DNA 量は正常甲状腺のそれと殆んど同程度であると推測されるが、正常甲状腺の DNA 量分布が 50 Eab 以下にまとまっているのに対し、バセドウ氏病においては 70Eab まで分散し、DNA 量のやや多い細胞核が少数認められる。ヒストグラムは正常甲状腺のそれに類似するが、正常甲状腺にみられる左右対称性釣鐘型と異なり、右裾が長い傾向が認められる。なおこれらバセドウ氏病は全例において術前処置として抗甲状腺剤が投与され、また症例によってはヨード剤等が併用されているので、DNA 分布を前処置別に検討してみたが差異は認められなかった。

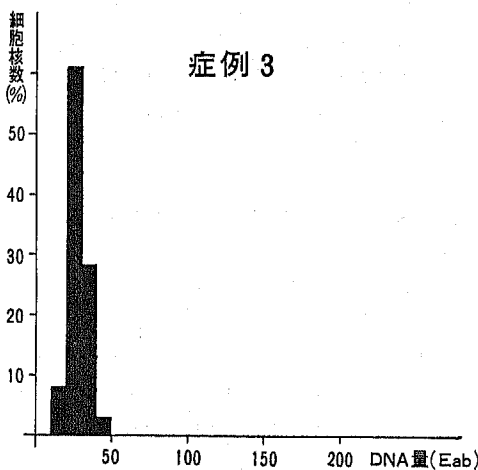
F. 亜急性甲状腺炎

亜急性甲状腺炎における濾胞上皮細胞核の DNA 量は表14のごとき度数分布を示し、その代表例(症例3)のヒストグラムを図14に示した。細胞核の DNA 量は 0~60Eab の間に分布し、最頻値は 10~30Eab にある。ヒストグラムは正常甲状腺とはほぼ同型でバセドウ氏病のそれより偏差が少なく、最頻値は2倍体域にあつて DNA 量は正常甲状腺のそれと同程度である。

表14 亜急性甲状腺炎

DNA量 (E a b)		0	10	20	30	40	50	60	—
細胞核数	症例 1	5	67	24	4				
	2	1	27	44	24	4			
	3		8	61	28	3			
	4		30	50	17	3			
	5		43	52	3	1	1		

図14 亜急性甲状腺炎



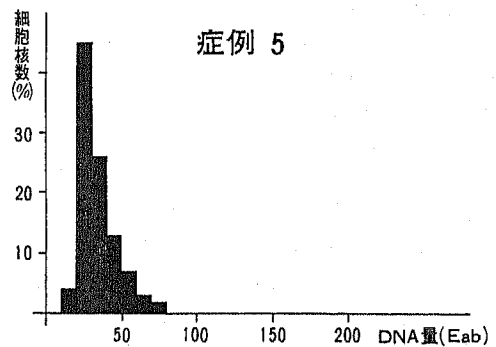
G. 橋本氏甲状腺腫

橋本氏甲状腺腫における濾胞上皮細胞核の DNA 量は表15のごとき度数分布を示し、その代表例(症例5)のヒストグラムを図15に示した。細胞核の DNA 量は 80Eab 以下で、大部分が 50Eab 以内にあつて、最頻値は 20~30Eab にある。ヒストグラムはバセドウ氏病のそれと類似してやや偏差が大きく右に歪んだ型を示すが、その最頻値は 20~30Eab、すなわち2倍体域にあつて、DNA 量は大半が正常甲状腺のそれと同程度であると推測されるが、DNA 量は 80Eab まで分散し、DNA 量のやや多い細胞核がみられる。

表15 橋本氏甲状腺腫

DNA量 (E a b)		-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-
細胞核数	症例 1	15	43	26	14	2				
	2	23	35	24	14	4				
	3	25	45	12	14	3	1			
	4	39	39	10	7	2	2	1		
	5	4	45	26	13	7	3	2		

図15 橋本氏甲状腺腫



考 按

顕微分光測光法による細胞核の DNA 量の測定値は化学的定量法と異なつて絶対値を示すものではないが、本法によれば組織の生体内構成を崩すことなく目的とする細胞核の DNA 量を測定することが可能で、従つて個々の細胞核の DNA 量を比較検討することが出来る。ところが従来の化学的定量法によると、組織の細胞密度、水分含有量、目的以外の細胞群の混入などによる影響が大きいため、本来の目的とする細胞核の DNA 量を比較検討することは困難である。

一般に正常細胞における DNA 量は細胞の代謝過程における影響を受けにくく、その量的変化は少ない。DNA 量はむしろ核内の染色体数と密接な関係があつ

て、染色体数と DNA 量との間には平行関係がみられるという¹³¹⁴¹⁶²⁷。この事実は染色体を構成する主要物質は DNA であることを裏がきするものと云えよう。

さて顕微分光測光法によつて正常細胞の個々の核について測定された DNA 量をヒストグラムに現わしてみると一つの峰を中心としてその左右にある程度の中をもつた型を形成する。これは正常の体細胞では有糸分裂に際して DNA の合成が行なわれるので、そのヒストグラムは 2 倍体細胞を中心として多少の中をもつた拡がりを示すからである。現在細胞分裂のどの時期に DNA が合成されるかは諸説があつて確定的ではないが²⁸²⁹³⁰、人の正常組織では有糸分裂は少なく各細胞は比較的小さい変異をもつた DNA 量を持ち、これらの拡がりは 4 倍体域以下にとどまるものと考えられる。

著者の研究成績では正常リンパ球の DNA 量並びに正常甲状腺における濾胞上皮細胞核の DNA 量は 20~30Eab に最頻値を有するので、この量域を 2 倍体域とすれば、すべての細胞核の DNA 量は 60Eab 以内、すなわち 4 倍体域以内に存在しており、正常リンパ球と正常甲状腺の濾胞上皮細胞との間には量的差異が認められず、Boivin ら³¹の云う DNA 量の一定性説を裏づける成績が得られた。またこれらのヒストグラムは 2 倍体域を中心とする左右対称性釣鐘型であり、従つて分裂期の細胞は殆んどないか、あつてもごく少数であると考えられる。

腫瘍細胞と核酸との関係についての研究は枚挙にいとまがないが、腫瘍細胞ことに癌細胞における核酸量については、核体積の増加、染色反応の増強、細胞分裂の増加等がしばしば観察されることから核酸が増加しているものと推測されていたにすぎない。ところが顕微分光測光法を用いた研究により、腫瘍細胞における DNA 量は次第に明らかとなつて来た。中でも Leuchtenberger ら³²はハツカネズミの Ehrlich 腹水癌における癌細胞核の DNA 量は正常細胞の 2 倍であつて、4 倍体細胞より成つていることを観察した。その後妹尾ら³³も rat AT-130 腫瘍においては 4 倍体細胞、8 倍体細胞が多く、ときにはそれ以上の多倍体細胞が存在することを認め、また Ehrlich 腹水癌でも 4 倍体細胞、8 倍体細胞が主体をなすことを観察し、これらの成績から腫瘍細胞の基本的な DNA 量は 4 倍体であると主張している。人体の悪性腫瘍においても腫瘍細胞の DNA 量は正常細胞にくらべて一般に増量し、ヒストグラム上の分布の中も広くなつている¹³¹⁵¹⁶²²²³²⁴。Atkin ら³⁴は子宮癌の癌細胞におい

ては DNA 量の最頻値が高 2 倍体域から高 4 倍体域にあるものが多いことから人の癌細胞はこの附近の DNA 量をもつものが多いと推測している。小島³⁵は子宮癌と胃癌について DNA 量を測定し、癌細胞の DNA 量は 2 倍体域から高 4 倍体域のものが多いことを明らかにした。そのほか良性腫瘍については Leuchtenberger³⁶は直腸ポリープの DNA 量は正常細胞より増加していることを報告し、Stich ら³⁷も直腸ポリープの DNA 量は 2 倍体よりやや増加しているが、大腸癌の DNA 量は高 2 倍体域から 4 倍体域に存在すると述べている。以上のごとく顕微分光測光法によつて測定された癌細胞の DNA 量は正常細胞に比較して明らかに増量していることは諸家の一致した見解である。ところで甲状腺腫瘍については DNA 量を系統的に測定した研究報告は少ないが、教室の山口³⁸が単純性結節性甲状腺腫と甲状腺癌との核酸分画におけるリン代謝を研究し、癌組織においては単純性結節性甲状腺腫のそれに比較して核酸分画のリン代謝が明らかに亢進している事実を認めているから、甲状腺癌は良性腺腫に比較して DNA 量が多いであろうことが推察される。また Garneau³⁹⁴⁰は顕微分光測光法で測定した甲状腺腫細胞の DNA 量はかなり一定した値を示し、foetal adenoma 以外の良性腺腫の DNA 量は 2 倍体域にあり、また中毒性甲状腺腫、慢性甲状腺炎の DNA 量も 2 倍体域にあるが、foetal adenoma と甲状腺癌とは異数性の核を有する細胞が出現することを観察している。

著者の研究成績では先づ単純性結節性甲状腺腫において、その腺腫細胞核の DNA 量は大多数が多倍体域にわたる広範な分布を示して正常甲状腺より DNA 量分布の拡がりが大きくなり、且つ 2 倍体細胞が減少し、最頻値も多くは高 2 倍体域に移動し、DNA 量は正常甲状腺に比較して明らかに増加している。また腺腫別にみると、コロイド腺腫、乳頭状腺腫、管状腺腫等の間には DNA 量の差が殆んどみられないが、索状腺腫の DNA 量は他の腺腫に比較して増加の傾向を示し、最頻値は高 2 倍体域ないし 4 倍体域にあつて 2 峰性分布を示し、乳頭状腺腫と区別しがたいものもある。単純性結節性甲状腺腫の悪性化という問題は臨床重要な問題であるが³⁷³⁸⁴⁰、教室の沢田⁴¹は単純性結節性甲状腺腫の研究において被膜侵襲、血管侵襲及び異型的増殖は分化の程度の比較的低い管状腺腫並びに索状腺腫に最も多く、これらは放置すれば転移性甲状腺腫、あるいは甲状腺癌に発展する可能性があるとして述べている。ところで著者の成績によれば索状腺腫においては DNA 量が著しく増加し、且つヒストグラ

ム上の分布が乳頭状腺癌のそれと類似した症例がみられたが、このような症例は DNA 量の点からみても、沢田の研究と併せ考え、悪性化の可能性が考慮される。

甲状腺癌においては単純性結節性甲状腺腫よりもさらに DNA 量の多い細胞核が増加するが、組織像によつて DNA 量に相違がある。すなわち乳頭状腺癌並びに濾胞状腺癌においては DNA 量分布の拡がりはともに広範囲にわたり多倍体域に及んでいるが、大部分の細胞は8倍体以下に集まり、その最頻値は2倍体域から高4倍体域にあつて、乳頭状腺癌と濾胞状腺癌との間には差はみられない。しかも乳頭状腺癌の症例11 (図7)を除いた他の腺癌では単峰性分布を示す症例の最頻値は高4倍体域にあり、また2峰性分布を示す症例では第1の峰は2倍体域ないし高2倍体域にあるが、第2の峰は高4倍体域にあるので、ヒストグラム上の分布からみれば腺癌においては高4倍体細胞が重要な意義を有するものと推測される。一方単純癌では腺癌に比してヒストグラム上の分散が一層著明となり、多倍体細胞が著しく増加し、最頻値の位置が判然とせず多峰性分布を示し、異数性の DNA 量をもつ細胞核が多数出現する。細胞核の DNA 量は細胞分裂に際して増加するものであるから、これら DNA 量分布から細胞分裂の様相を推察すると、甲状腺癌では細胞分裂のいろいろの過程が混在し、細胞分裂の旺盛なることを物語るが、さらに組織像別にみると、単純癌は腺癌に比べて一層分裂が旺盛で、且つ発育の急速なことが想像される。しかしこのように異数性の DNA 量をもつ細胞核が多倍体域に多く出現することは細胞分裂過程の異常に基づくものと推測される。

以上のごとく甲状腺の良性腺腫並びに癌組織について測定した DNA 量の成績によれば、腫瘍細胞においては正常細胞に比較して DNA 量が増加し、とくに甲状腺癌の癌細胞核の DNA 量は著明に増量しており、しかも DNA 量増加の程度は組織像とかなり密接な関係を有している。教室の飯田²⁴⁾は胃癌における癌細胞核の DNA 量を顕微分光測光法で測定し、癌細胞核の DNA 量は明らかに増加しているが、腺癌と単純癌との間には明白な差が認められず、また細胞異型度と DNA 量との間にも特殊な関係は認められないと述べている。しかし著者の甲状腺癌における成績では DNA 量は組織像と密接な関係を有し、腺癌と単純癌との間には明白な差異を認めた。他方甲状腺癌の予後はその組織像によつて明白な差異を示し、未分化型の単純癌は悪性度が高く、予後極めて不良であるのに対して、腺癌ことに乳頭状腺癌は悪性度が低く、予後は

比較的良好であることが一般に認められている²²⁾²³⁾²⁴⁾。従つて上述の癌細胞核の DNA 量増加の程度は癌の予後ないし悪性度と密接な関係を有していることが窺われる。このように甲状腺癌の予後並びに癌細胞核の DNA 量が組織像によつて明白な差異を示すことは甲状腺癌の生物学的特異性の一つであると考えられる。

次にバセドウ氏病における濾胞上皮細胞核は組織像の如何を問わず多くは2倍体であるが、そのヒストグラムは正常甲状腺に比較して右裾が長い傾向がみられる。バセドウ氏病は臨床的には大きな甲状腺腫を形成し、Struma diffusa parenchymatosa basedowiana あるいは Struma diffusa colloides basedowificata のごとく組織学的にもかなり著明な細胞増生を示すものがみられるにもかかわらず、その細胞核の DNA 量は Struma diffusa colloides macrofollicularis nonproliferans のように増生のすくない型と同様に、正常甲状腺に近い DNA 量分布を示すことは興味ある事実である。すなわちバセドウ氏病甲状腺腫では細胞増生がさかんであつても細胞分裂に際して、正常細胞と同様の過程で DNA 合成が行なわれるものと推測される。しかしバセドウ氏病甲状腺腫の示すヒストグラムが右に歪んで右肩がなだらかな勾配を示し、右裾が4倍体域迄のびていることは細胞分裂がやや活発に行なわれていることを暗示するものである。また手術前処置に用いた抗甲状腺剤、ヨード剤等による影響は認められなかつた。

次に亜急性甲状腺炎、橋本氏甲状腺腫についてみると、亜急性甲状腺炎における濾胞上皮細胞核の DNA 量は2倍体域にあつて、その分布も対照との間に差がみられない。橋本氏甲状腺腫においても濾胞上皮細胞核の DNA 量の最頻値は2倍体域にあるが、その分布は対照に比較してやや偏差が大きい傾向がみられ、そのヒストグラムは右に歪んでバセドウ氏病のそれに類似した型を示している。

以上のごとくバセドウ氏病甲状腺腫あるいは亜急性甲状腺炎、橋本氏甲状腺腫等における細胞核の DNA 量は正常甲状腺のそれと大差なく、濾胞上皮細胞に増生がみられても、腫瘍とは明らかに差異のあることが判明した。

結 論

各種甲状腺疾患の甲状腺腫細胞核内 DNA 量を顕微分光測光法により測定して次の結論を得た。

1. 対照として測定した正常リンパ球の細胞核内 DNA 量はヒストグラムで 20~30Eab を最頻値とす

る左右対称性釣鐘型の単峰性分布を示し、著者はこの量域を2倍体域とみなした。

2. 正常甲状腺の濾胞上皮細胞核のDNA量は正常リンパ球と全く同様に2倍体域を中心とする左右対称性釣鐘型の単峰性分布を示している。

3. 単純性結節性甲状腺腫の腺腫細胞核のDNA量は一般に正常甲状腺の濾胞上皮細胞に比して増加し、多倍体域にわたる広範な分布を示し、最頻値は多くは2倍体域ないし高2倍体域にある。また腺腫別にみると、コロイド腺腫、乳頭状腺腫、管状腺腫等の間には殆んど差を認めないが、索状腺腫ではDNA量が増加の傾向を示し、その最頻値は高2倍体域ないし4倍体域にあつて、明白な2峰性分布を示して乳頭状腺腫と区別しがたいものもある。

4. 甲状腺癌の癌細胞核のDNA量は単純性結節性甲状腺腫に比較してさらに増加し、4倍以上の細胞核が多くなつている。ただし乳頭状腺癌並びに濾胞状腺癌においては最頻値は2倍体域から高4倍体域にあつて、単峰性ないし2峰性分布を示し、両者間に差異を認めない。一方単純癌では前2者に比してヒストグラム上の分布の巾はさらに拡がり、多倍体細胞が著しく増加し、最頻値の峰も判然とせず、多峰性分布を示すものもあつて、腺癌と単純癌とのDNA量には明白な差異がみられる。

5. バセドウ氏病甲状腺腫の濾胞上皮細胞核のDNA量はいずれの組織像においても正常甲状腺の濾胞上皮細胞のそれと殆んど差異がなく、大部分の細胞核は2倍体域にある。ただしヒストグラムは正常甲状腺における左右対称性釣鐘型と異なり、右裾が長い傾向が認められる。また手術前処置に用いた抗甲状腺剤、ヨード剤等による影響も認められない。

6. 亜急性甲状腺炎の濾胞上皮細胞核のDNA量並びにその分布は正常甲状腺のそれとほぼ同様である。

7. 橋本氏甲状腺腫の濾胞上皮細胞核のDNA量並びにその分布はバセドウ氏病のそれとほぼ同様である。

8. 以上のごとく各種甲状腺疾患における細胞核のDNA量は疾患によつて差異があることが明らかにされたが、腫瘍以外の疾患、すなわちバセドウ氏病、亜急性甲状腺炎、橋本氏甲状腺腫等における細胞核のDNA量は正常甲状腺のそれに比較して著しい差異はない。しかしながら腺腫では細胞核のDNA量は一般に増加し、とくに索状腺腫において著しく、癌ではこの傾向はさらに明白となり、単純癌において最も顕著である。すなわち細胞核内DNA量は細胞分裂の旺盛な組織においてのみ増加し、甲状腺癌の予後ないし悪

性度との密接な関係を想わせるものがある。

本研究にあたり有益なる御助言をいただいた丸山雄造講師に深甚なる謝意を表する。

文 献

- ①妹尾左知丸・他：新細胞学，216，321，1965，東京
- ②Caspersson, T. O.: Cell Growth and Cell Function, 1950, N. Y.
- ③Pollister, A. W.: Lab. Invest., 1: 106, 1952
- ④Pollister, A. W.: Lab. Invest., 1: 231, 1952
- ⑤Naora, H.: Science, 115: 248, 1952
- ⑥Naora, H.: Exper. Cell Res., 8: 259, 1955
- ⑦Pollister, A. W.: J. Cell & Comp. Physiol., 38: 101, 1951
- ⑧Swift, H.: Nucleic Acids, 2: 51, 1955
- ⑨Utsumi, K.: Acta Med. Okayama, 14: 1, 1959
- ⑩直良博人：蛋白質核酸酵素，2: 39, 1957
- ⑪Vendrely, R. et al.: Int. Rev. Cytol., 5: 171, 1956
- ⑫Leuchtenberger, C. et al.: Chromosoma, 6: 61, 1953
- ⑬Leuchtenberger, C. et al.: Am. J. Pathol., 30: 65, 1954
- ⑭Leuchtenberger, C. et al.: Exper. Cell Res., 3: 240, 1952
- ⑮小島吉雄：日臨，19: 2295, 1961
- ⑯Ojima, Y. et al.: Gann, 53: 123, 1962
- ⑰Ogawa, K. et al.: Cancer Res., 19: 592, 1959
- ⑱Barder, S.: Proc. Exper. Biol. et Med., 82: 312, 1953
- ⑲徳岡潤三：癌の臨床，11: 133, 1965
- ⑳Inui, N.: Gann, 54: 331, 1963
- ㉑Leuchtenberger, C.: Lab Invest., 3: 123, 1954
- ㉒乾直道：四国医誌，17: 302, 1961
- ㉓Stich, H. F. et al.: Nature, 184: 290, 1959
- ㉔飯田昭平：信州医誌，15: 59, 1966
- ㉕市川 収：細胞化学，288, 1953, 東京
- ㉖直良博人：科学，26: 17, 1956
- ㉗Rudkin, G. T. et al.: Exper. Cell Res., 9: 193, 1955
- ㉘妹尾左知丸・他：新細胞学，279, 1965, 東京
- ㉙Leuchtenberger, C. et al.: Exper. Cell Res., 3: 240, 1952
- ㉚Swift, H.: Physiol. Zool., 23: 169, 1950
- ㉛Boivin, A. et al.: Acad. Sci. Paris, 22: 1062, 1948
- ㉜妹尾左知丸・他：岡山医誌，70: 112, 1958
- ㉝Atkin, N. B. et al.: Brit. J. Cancer, 13: 773, 1959
- ㉞山口友安：信州医誌，14: 38, 1965
- ㉟Garneau, R.: Laval me'd., 35: 188, 1964
- ㊱Garneau, R.: Rev. Can. Biol., 24: 123, 1965
- ㊲Speese, J. et al.: Ann. Surg., 74: 684, 1921

- ③Frederick, T. C. : J. A. M. A., 92 : 457, 1929
 ④Postmann, U. V. : Am. J. Roentgenol., 46 : 454, 1941 ⑤Lange, H. J. : Surg., 26 : 862, 1949
 ⑥沢田久雄 : 信州医誌, 13 : 456, 1964
 ⑦丸田公雄・他 : 日内分泌会誌, 39 : 831, 1963
 ⑧降旗力男・他 : 臨床外科, 16 : 1011, 1961
 ⑨丸田公雄 : 信州医誌, 13 : 481, 1964

ABSTRACT

The amount of DNA in individual nuclei of various human thyroid lesions was measured with a microspectrophotometer.

The results obtained was as follows :

1) The DNA content in the nuclei of the normal lymphocyte, which was measured to serve as a control, had a monomodal, bell-shaped, bisymmetric distribution on the histogram, where the mode lay between 20 and 30 Eab (in arbitrary units). Therefore the range from 20 to 30 Eab was classified as diploid in the present investigation.

2) In the follicular epithel of the normal thyroid, the DNA content in the nuclei had a monomodal, bell-shaped, bisymmetric distribution, centering around the diploid value on the histogram. This distribution is just the same as that of the normal lymphocyte.

3) The nuclei of adenoma cell were found to contain generally much more DNA than those of the normal thyroid. The DNA content in adenoma had a wide distribution on the histogram, extending to the polyploid, and the mode, for the most part, lay within from diploid to hyperdiploid. As regards the types of adenoma, little difference was observed among colloid adenoma, papillary adenoma and tubular adenoma. The DNA content in the trabecular adenoma, however, showed a tendency to increase as compared with that in other adenomas and some of trabecular adenoma showed a obviously bimodal distribution on the histogram, where the mode appeared in the hyperdiploid or tetraploid, so that it was sometimes difficult to distinguish trabecular adenoma from papillary adenocarcinoma.

4) In thyroid carcinoma, the DNA content

in the nuclei was increased much more than that in adenoma, and majority of the nuclei were found to contain a larger amount of DNA than the tetraploid value. However, in both papillary and follicular adenocarcinomas, the modes appeared in the range from diploid to hypertetraploid, showing a monomodal or bimodal distribution, and no difference was observed between them. In carcinoma simplex, the amount of DNA was more remarkably increased than that of DNA in papillary and follicular adenocarcinoma, and polyploid cell was so remarkably increased in number that the histogram showed no distinct mode or a polymodal distribution. Therefore, it is assumed that there is a obvious difference in the DNA content between adenocarcinoma and carcinoma simplex.

5) The DNA content in the nuclei of the thyroid follicular epithel of Graves' disease, in any histological type, was as much as that in the normal thyroid, and most of the nuclei were distributed within the diploid on the histogram. But unlike the histogram of the normal thyroid tissue, which marked a bell-shaped, bisymmetric pattern, that of the thyroid follicular epithel of Graves' disease showed a tendency to have a somewhat asymmetric pattern, the right side of which had a gentler slope than the left one. Besides the DNA content of Graves' disease seemed not to be affected by preoperative medication with antithyroid drugs or iodine.

6) In subacute thyroiditis, the nuclei of the follicular epithel were very similar to those of normal thyroid tissue in both the content of DNA and its distribution on the histogram.

7) In Hashimoto's disease, the DNA content in the nuclei of the follicular epithel, as well as its distribution on the histogram, was almost similar to that in the nuclei of Graves' disease.

8) As can be seen from the above-mentioned, it is obvious that the DNA content in the nuclei of various thyroid lesions varies

with the kind of diseases, though the DNA content of thyroid lesions except for thyroid tumor, that is, Graves' disease, subacute thyroiditis and Hashimoto's disease, is not appreciably different from that of the normal thyroid tissue. In adenoma, however, the DNA content in the nuclei is increased in general, especially remarkably in trabecular adenoma.

Carcinoma has a more marked tendency

to increase in the DNA content and the DNA content in carcinoma simplex is most conspicuously increased among thyroid carcinomas. In other words, the DNA content in the nuclei seems to be increased only in the tissue with active cell division and to have a close relation to the degree of clinical malignancy and the prognosis of carcinoma.