実験的膀胱腫瘍におけるデゾキシリボ核酸 (DNA) 含量

大阪大学医学部泌尿器科教室 大江 昭 三
(主任: 楠隆光教授)

DESOXYRIBONUCLEIC ACID (DNA) CONTENT IN THE EXPERIMENTALLY INDUCED TUMOR OF THE URINARY BLADDER

Shozo Ohe

From the Department of Urology, Osaka University Medical School
(Director: Dr. T. Kusunoki)

1) A 0.6 g. paraffin pellet containing 100 mg. 20-methylcholanthrene which was left in urinary bladder for ten months in 15 rabbits gave rise to bladder papillomas in ten (66.7%).

2) Relative amount of desoxyribonucleic acid (DNA) of the nucleus of epithelial cells was measured in the normal bladders of rabbits by means of microspectrophotometer with Feulgen staining.

The results are as follows:

a) DNA content of the nucleus of epithelial cells at the site of papillary growth was twice to four times as high as normal.

b) DNA content of the nucleus of epithelial cells was normal in the normal-appearing distant area and downgrowth area of the tumor-bearing bladder.

膀胱の乳頭状腫瘍は、良性のものから癌腫まで種々の段階のものがあつて、また肉眼的には全く正常の粘膜部に多発的に、同時に、或は相次で発生する特殊の傾向を帯びている。その病因に関しては、種々の假説もあるが、不明の域を脱していない。しかし、組織学的に検査すると、腫瘍膀胱の一見正常と見られる粘膜には、正常膀胱粘膜に於けるよりも高率に、増殖性及び化生性変化が認められる事実は、既に Melicow ; 市川・辻・石井 ; Masina ; 長谷川などが一様に証明している処である。即ち、癌前驅症と云うのは過言であるが、腫瘍膀胱の粘膜全体は、既に正常粘膜よりも増殖性傾向に於て一步踏み出した状態にあることは想像される。

私はこの膀胱の乳頭状腫瘍と粘膜上皮細胞との関係を、組織化学的方面から追求する事を思いつた。そしてその第1歩として、実験的に乳頭腫を発生せしめた家兎の膀胱に就て、腫瘍細胞及び正常上皮細胞の核中の Desoxyribonucleic acid (DNA) 含有量を測定し、比較検討した。かかる方面の膀胱腫瘍に就ての研究の報告は見られない。茲にその実験成績を述べる次第である。

I. 文献的考察

(1) 実験的膀胱腫瘍

実験的に動物の膀胱に乳頭状腫瘍を作ることは、1930年に Schär が Naphthylamin 蒸気を家兎に吸入せしめる実験ではじめて成功されたことで、今日では非常に多くの報告がある。その実験方法の詳細は諸家により千差万別であるが、動物としては犬、ラッテ、マウス及びモルモットなどが使用され、発癌剤としては主として芳香性アミンが使用され、その投與方法としては吸入或は注射による間接使用法、或は膀胱内への注入またはペレット挿入による直接使用法が施行されている。

発癌剤として私の使用した 20-Methylcholanthrene (20-MC) は比較的新しく使用され出したもので、Hughes (1949) : Jull (1951) : Rudali, Chalvet et Winternitz (1955) 及び Brosig (1957) などがマウス、ラッテ及び家兎で乳頭腫或は乳頭状癌を発生せしめるのに成功している。

投與法としては、1951年に Jull が発表し、又最近ではこの方面の先驅をなしている Allen et al. 及び Clayson et al. などが採用しているところのパラフィン・ワックスまたはコレステロールに発癌剤を混入したペレットを直接に膀胱内に挿入する方法が主として用いられている。私もこの方法に従つた。

(2) DNA

細胞分裂の烈しい組織及び腫瘍が正常組織に比して多量の DNA を含有することは、既に10数年以前から化学的に証明されている。即ち富永(1943)は子宮癌組織の DNA 含有量は正常子宮組織のその約3倍であることを知った。また、横山・中埜(1942)、富永(1943)及び柳沢・富永(1943)は、ラツテで Dimethylaminoazobenzene を投與して肝癌の発生する経過中の肝組織の DNA 含量を測定し、16~39日目の所謂前癌状態の時期に、既にその含量の増加を認めた。Schneider (1945) 及び Schneider and Klug (1946) は、DNA 含量がラツテの肝癌では正常肝組織の2~3倍に、マウスの肺癌では約2倍に増量していると報告した。20-MC 塗擦によるマウスの皮膚癌については、Carruthers and Sunzef (1946) が DNA 含量を測定している。

又その組織化学的検索も行われた。即ち、Stowell (1942) は、20-MC 塗擦によるマウスの皮膚癌について DNA 相対量を調べた。また Stowell and Cooper (1945) 及び Stowell (1946) も、組織化学的に人体各臓器の悪性腫瘍組織の DNA 相対量が周囲の正常組織よりも増加していることを確めた。

続いて組織化学的に個々の細胞核についての DNA 相対量の測定が始められ、最近に至り、Leuchtenberger et al. (1954) 及び Atkin and Richards (1956) は、人類に於ける腫瘍細胞の DNA 値は各組織の正常細胞のそれよりも増加していることを確信した。泌尿器科領域の研究としては、Persky and Leuchtenberger (1957) の前立腺に就ての報告がある。彼等の前立腺上皮細胞に就ての DNA 値の測定によれば、肥大症ではその含量が正常と変らないのに反して、悪性腫瘍の場合には正常の2~3倍に増量しており、臨床診断の補助となり得ると主張している。

II. 実験方法

(1) 腫瘍形成

(a) 実験動物：生後10カ月の健康白色雄性家兎を用いた。

(b) 発癌物質：L. Light and Co., Ltd (England) 製20-MC の100mgを融点56°Cのパラフィン0.5gにとかしたものを(従って発癌物質の濃度は約17%となる)を1箇のペレットとして使用した。

(c) 発癌物質の挿入方法：クロロフォルム麻酔のもとに下腹部正中切開により膀胱壁に達し、膀胱頂部に小切開を加えてペレットを挿入した。次で膀胱壁は000カ

ットガットで一層に縫合した。なお感染予防のために、膀胱腔内及び手術創内に抗生物質を散布した。

(d) 実験動物群：家兎25匹を次の3群に分けた。

第1群：対照として無処置の5匹を使用した。

第2群：5匹の家兎を用い、20-MC を含まぬパラフィン・ペレット(重量0.6g)を上記の方法により膀胱腔内に留置した。

第3群：15匹の家兎を用い、上記の方法により作製した20-MC 100mgを含むパラフィン・ペレットを、上記の方法により膀胱腔内に留置した。

之等3群を同一条件にて、1日当たり、おから300gと野菜300gを用いて飼育した。

(2) DNA 測定

(a) Feulgen 反應

この反應に関しては1924年に Feulgen and Rossenbeck が発表以来種々な改良法が多くの人々により推奨されているが、私は本学第1病理学教室で施行中の、次の方法に従った。

ホルマリン固定、通常の如くパラフィンに包埋し、厚さ15 μ 前後の切片を作製し、脱パラフィン後に、次の様に処理する。

i) 切片を99, 90, 80, 70, 50及び30%アルコール液に順次入れて、最後に水を入れる。

ii) N HCl 液で60°C, 12分間加水分解。

iii) 蒸留水にて水洗。

iv) Schiff's solution (後述) に、暗室中で2時間処理する。

v) 数回蒸留水にて水洗。

vi) Bleaching solution (後述) に10分間宛3回入れる。

vii) 水道水にて5分水洗する。

viii) 蒸留水に入れる。

ix) 脱水：30, 50, 70, 80, 95%及び3純アルコールに順次入れて行く。

x) キシロールに3回通してからバルサム封入。

Schiff's solution (Leucofuchsin)

1gの Basic fuchsin (Merck) を200ccの沸騰溜水に溶解させてから、更に5分間煮沸する。50°Cに冷却後、濾過し、N HCl, 20ccを加えてから25°Cに冷却し、無水 Na metabisulfite, 2gを加え、よく振る。密封して1夜暗所におく。すると色調が淡黄色又はオレンジ色となる。これに中性活性炭0.5gを加え、正確に1分間振盪してから、速やかに濾過する。次でガラス栓を施し氷室に貯える。この液は、水様透明である間は使用にた

える(3~4週間)。

Bleaching solution

N HCl 20cc及び10% Na metabisulfite 溶液20ccに蒸留水 360ccを加え、よく混和する。

(b) 測定

OLYMPAS 社製の Microspectrophotometer を使用し、波長 546m μ をもって吸光度を測定する。なお私の使用した光度計は Naora 等(1951)の改良型のものである。

(c) 計算

先ず細胞核の長径及び短径を測定(何れも μ)する。多くの細胞核のうちから形の完全なものを選び測定に使用する。

Leuchtenberger et al. は核を大体球と考え、表面の滑らかなを測定し、楕円であれば、長径と短径との平均を球の直径として大差はないとしている。そして、arbitrary unit を次の式で求めている。

$$\frac{E C^2}{F} = \text{arbitrary unit}$$

E=吸光率

C=測定核を通過する平行光線の光束の半径

F= $\frac{\text{測定核を通過する光来円筒体積}}{\text{測定核の体積}}$

しかし、この方法は計算が複雑なので、Naora et al. は測定核の半径の2乗に吸光率を掛けたものを Arbitrary unit としている。私は本学第1病理学教室で施行されている方法に従って、次の如く、Arbitrary unit を求めた。

細胞核の長径×細胞核の短径×吸光率= Arbitrary unit

III. 実験成績

(1) 肉眼的及び組織学的所見

前記の3群の家兎を10カ月後に殺し、その各々の膀胱につき、先づ肉眼的検査及びヘマトキシリン・エオジン染色による顕微鏡的検査を行い、次の成績を得た。

(a) 対照群

第1例から第5例までの対照群の膀胱壁には肉眼的に全く異常はない。その組織学的所見は5例共同様である。その第1例を代表として選び説明すれば、第1圖の如く略々類円形の核と明るい原形質よりなる上皮細胞が2層乃至3層の移行上皮型をとって排列している。その排列状態は規則正しく、また核及び原形質の染色性は略々均等である。その基底には明らかな基底膜が認められ、又細胞浸潤を認めない。

(b) 第2群(パラフィン・ペレット群)

第2群の5匹の家兎のうち第6例及び第7例では、肉

第1図 正常家兎膀胱粘膜(第1例)
ヘマトキシリン・エオジン染色

第2図 肥厚せる家兎膀胱粘膜(第5例)
ヘマトキシリン・エオジン染色×80

眼的に膀胱壁の軽度の部分的肥厚が認められた。組織学的には、第2圖に示す如く、殆んど正常と思われる上皮層に続き部分的に上皮細胞の増殖が見られる。この部分では細胞層が数層に肥厚しているが、細胞には異型性を認めず、その排列も可なり規則正しい。また上皮下結合組織のやゝ肥厚した部分も見られるが、乳頭腫の様な乳頭状の増殖は認められない。

(c) 第3群(20-MC ペレット群)

第3群の家兎のうちで、変化のない第23、24及び25例並びに第2群の第6例及び第7例と同様の所見を示した第21例と第22例を除く10例では、肉眼的に膀胱壁の部分的乳頭状肥厚を認めた。第3圖から第6圖迄はこの中の4例の膀胱を示したものである。組織学的には、第7圖の如く、表面の乳頭状凸凹が著明で、上皮細胞層の著明な増殖が見られる。上皮細胞は正常のものに比し、核及び原形質の染色性が不均等で、原形質が明るく、膨化したような細胞も見られ、細胞排列が部分的に可なり不

第3図 乳頭腫形成家兔膀胱 (第11例)

第4図 乳頭腫形成家兔膀胱 (第12例)

第5図 乳頭腫形成家兔膀胱 (第13例)

第6図 乳頭腫形成家兔膀胱 (第14例)

第7図 乳頭腫形成家兔膀胱粘膜 (第11例)
エマトキシリン・エオジン染色×80

規則になっている。しかし、異型性或は核分裂像は認め難い。上皮下の結合織は粗で、やはり増殖を示している。その1部は、上皮細胞間隙に細い線維をのびし、多くの毛細血管増生を伴い、深部に向つては筋層内に侵入している。一般に粘膜下結合織が可なり肥厚している。又少数の淋巴球浸潤を伴っている部分も見られる。

乳頭腫形成を見た第3群の家兔の中で、第11例、第12例及び第13例では、乳頭腫形成の他に、著明な深部への発育も認められた。即ち、第8図及び第9図に示す如く、表面の上皮細胞層は2乃至3層で、著変はみられないが、著明な深部への侵入性増殖が見られる部分がある。その増殖する細胞には異型性はみられないが、やゝ排列が不規則で、樹枝状或は分芽状の増殖を示し、結合織内に侵入している。1部では上皮層と離れた細胞集団が上皮下の粗な結合織中に散在性に見られ、浸潤性増殖に似た像をとる部分も見られるが、これらの細胞には異型性はなく、周囲には基底膜が見られる。

要するに20-MC パラフィン・ペレットの膀胱内挿入により、10カ月後に15例中10例、即ち66.7%に乳頭腫の発生を見たが、癌腫の発生は見なかつた。

(2) DNA 測定成績

第8図 家兎膀胱粘膜の深部発育像
ヘマトキシリン・エオジン染色×50

第9図 家兎膀胱粘膜の深部発育像
ヘマトキシリン・エオジン染色×50

以上3群の実験家兎の膀胱粘膜上皮の個々に就て DNA 含量を測定した。各例に就ての測定細胞数は30乃至100個である。上皮細胞のうち核の明瞭なものを選別したのは勿論である。腫瘍部に就ては、出来るだけ中心部の細胞を選んだ。一般に膀胱粘膜上皮細胞核はほぼ楕円形で、その大いさは長径6〜9μ、短径は6〜7.5μ、厚さは7μ前後であつた。

(a) 第1群の成績

第1群の正常家兎5例は全身状態が全く健康で、膀胱

第1表. 正常及び腰痛形成部膀胱
粘膜上皮細胞核のDNA含量

	家兎 No.	組織学的診断	DNA測定細胞核 数	DNA含量 (arbitrary unit)
第 一 (対 照) 群	1	正常	100	1.06±0.25
	2	正常	100	1.13±0.30
	3	正常	100	1.06±0.26
	4	正常	60	1.02±0.25
	5	正常	40	1.08±0.22
第 二 (ペ レ ッ ト 留 置) 群	6	粘膜肥厚	60	2.24±0.57
	7	粘膜肥厚	60	2.50±0.65
	8	正常	60	1.07±0.29
	9	正常	60	1.05±0.26
	10	正常	60	1.10±0.20
第 三 (メ ラ フ ィ ン コ レ ッ ト 留 置) 群	11	乳頭腫及び深部発育	60	3.28±0.46
	12	乳頭腫及び深部発育	60	3.48±0.52
	13	乳頭腫及び深部発育	60	4.20±0.47
	14	乳頭腫	60	4.13±0.51
	15	乳頭腫	60	4.23±0.96
	16	乳頭腫	60	4.15±1.04
	17	乳頭腫	60	4.23±0.77
	18	乳頭腫	60	3.89±0.53
	19	乳頭腫	60	3.65±0.64
	20	乳頭腫	60	4.01±0.59
	21	粘膜肥厚	60	2.46±0.62
	22	粘膜肥厚	60	2.22±0.57
	23	正常	60	1.20±0.22
	24	正常	60	1.06±0.28
	25	正常	60	1.08±0.33

内に炎症その他病的所見が全く見られなかつた。之等の膀胱粘膜上皮の DNA 含量は、第1表に見られる如く、平均1.06, 1.13, 1.06, 1.02及び1.08 Arbitrary unit (以下省略)であり、又夫々の Arbitrary unit による細胞核数の Histogram に於ける分布状態は、第10圖から第14圖に示す如く、全細胞核の DNA 含量の Arbitrary unit が 0.5から 1.6迄の間に集中しており、またその中央部に最高の頻度が示されている。

(b) 第2群の成績

パラフィン・ペレットを留置した第2群に於ける成績は、次の如くであつた。粘膜上皮の肥厚を示した第6例及び第7例では、夫々平均2.24及び2.50であり、Histogram に於けるその分布状態は第15圖及び第16圖に示す如く、1.1から 4.2迄の範囲を占め、かなりの散亂を示している。肉眼的及び顕微鏡的に変化のなかつた第8例、第9例及び第10例では、夫々平均1.07, 1.05及び

第10図 対照第1例のHistogram 第11図 対照第2例のHistogram 第12図 対照第3例のHistogram

第13図 対照第4例の Histogram

第15図 パラフィン・ペレット挿入膀胱 (第6例) の Histogram

第16図 パラフィン・ペレット挿入膀胱 (第7例) の Histogram

第14図 対照第5例の Histogram

1.10であつて、夫々の Histogram に於ける分布状態も、第17圖から第19圖に示す如く、全く対照と異ならなかつ

第17図 パラフィン・ペレット
挿入膀胱（第8例）のHistogram

第18図 パラフィン・ペレット
挿入膀胱（第9例）のHistogram

第19図 パラフィン・ペレット
挿入膀胱（第10例）のHistogram

た。

(c) 第3群の成績

第11例から第22例迄の乳頭腫及び粘膜上皮の肥厚を示した12例の DNA 含量は、第1表に示す如く、夫々平均3.28, 3.48, 4.20, 4.13, 4.23, 4.15, 4.23, 3.89, 3.65, 4.01, 2.46及び2.22で、正常に比して2乃至4倍の Arbitrary unit の増加を認めた。又夫々の Histogram-

第20図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第11例）の Histogram

第21図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第12例）の Histogram

第22図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第13例）の Histogram

第23図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第14例）の Histogram

第24図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第15例）の Histogram

第25図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第16例）の Histogram

第26図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第17例）の Histogram

第27図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第18例）の Histogram

第28図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第19例）の Histogram

第29図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第20例）の Histogram

第30図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第21例）の Histogram

第31図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第22例）の Histogram

第32図 20—MC・パラフィン・ペレット挿入
膀胱（第23例）の Histogram

ram に於ける分布状態は、第20圖から第31圖に示す如くである。殊に乳頭腫の第11例から第20例迄の10例では、

第33図 20—MC・パラフィン・ベレット挿入膀胱（第24例）の Histogram

第34図 20—MC・パラフィン・ベレット挿入膀胱（第25例）の Histogram

1.9から 6.8迄の広い範囲に散在し、高度の散亂を示した。第 3 群中腫瘍形成の認められなかった第23例、第24例及び第25例では、第 1 表及び第32圖、第33圖及び第34圖に示す如く、その DNA 含量は正常と異ならなかった。

(d) 腫瘍形成膀胱の腫瘍外遠隔部の DNA 含量
私は続いて第11例から第22例に至る膀胱腫瘍の形成を見た膀胱に於て、腫瘍より離れた、一見正常と見られる膀胱粘膜上皮細胞核の DNA 含量を測定して、その異常の有無を檢べた。その成績は第 2 表及び第35圖から第46圖に示す如く、すべての値が正常範囲を出ないか或は

第 2 表. 腫瘍形成膀胱の腫瘍部より遠隔部上皮細胞核の DNA 含量

家兔 No.	組織学的診断	DNA 測定細胞核数	DNA 含量 (arbitrary unit)
11	乳頭腫及び深部発育	30	1.14±0.27
12	乳頭腫及び深部発育	30	1.09±0.20
13	乳頭腫及び深部発育	30	1.10±0.21
14	乳頭腫	40	1.43±0.19
15	乳頭腫	30	1.12±0.17
16	乳頭腫	30	1.07±0.21
17	乳頭腫	30	1.17±0.20
18	乳頭腫	30	1.23±0.20
19	乳頭腫	30	1.09±0.21
20	乳頭腫	30	1.02±0.26
21	粘膜肥厚	30	1.06±0.19
22	粘膜肥厚	30	1.09±0.21

第35図 20—MC・パラフィン・ベレット挿入膀胱（第11例）の腫瘍より遠隔部のHistogram

第36図 20—MC・パラフィン・ベレット挿入膀胱（第12例）の腫瘍遠隔部の Histogram

極く僅かの高値を示したに止つた。

(e) 深部発育腫瘍部細胞核の DNA 含量

乳頭腫を発生したものの中で深部への発育を示した第11、12及び13例の 3 例に於ては、更に深部発育部の細胞核について、その DNA 含量を測定した。その成績は第 3 表に見られる如く、夫々平均1.12、1.23及び1.10

第37図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第13例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第38図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第14例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第39図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第15例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第40図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第16例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第41図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第17例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第42図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第18例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第43図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第19例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第44図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第20例)の腫瘍より遠隔部の Histogram

第3表. 深層への発育を示す部位の
上皮細胞核のDNA含量

家兎 No.	組織学的診断	DNA測定 細胞核数	DNA含量 (arbitrary unit)
11	乳頭腫及び深部発育	30	1.12 ± 0.21
12	乳頭腫及び深部発育	30	1.23 ± 0.21
13	乳頭腫及び深部発育	30	1.10 ± 0.20

第45図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第21例)の腫瘍より遠隔部のHistogram

第46図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第22例)の腫瘍より遠隔部のHistogram

第47図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第11例)の深部発育部のHistogram

第48図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第12例)の深部発育部のHistogram

第49図 20-MC・パラフィン・ペレット挿入膀胱
(第13例)の深部発育部のHistogram

であり、そのHistogramに於ける分布は第47、48及び49圖に示す如く、正常細胞核のそれとの間に認むべき差異はなかつた。

IV. 考 按

以上の私の実験を省みて、2, 3の点から考按を加えて見る。

(1) 20-MC パラフィン・ペレットによる膀胱乳頭腫の発生率: 私は20-MC パラフィン・ペレットの家兎膀胱内挿入により、15匹中10匹、即ち66.7%に、10ヵ月後に乳頭腫の発生を見た。私の方法と同様に家兎に20-MCを含むペレットを使用した実験は Brosig (1957) の報告があるばかりである。彼は80%の高率に乳頭腫の発生を認めているが、彼の実験では20-MCの密蠟・ペレットの挿入に加えて、更に10ccのシヤールラッハ・ロート飽和オリーブ油に0.1gの20-MCを溶かした液体の0.1ccを膀胱粘膜下に注射する操作を追加して、160日目の観察である。また Brosig も、私と同様に、癌腫を形成し得なかつた。しかし、Brosig も述べている如く、20-MCの濃度を高くし、また観察期間を延長すれ

ば、癌腫の発生をも望み得ると考えられる。

(2) 家兎膀胱の正常粘膜上皮細胞核の DNA 含量：私が採用した Arbitrary unit のとり方での家兎の正常膀胱粘膜上皮細胞核の DNA 含量は、対照の 5 例並びにパラフィン・ペレット挿入の 5 匹のうちで全く膀胱粘膜に異常を認めなかつた 3 例を対照とすれば、夫々の平均値は 1.06, 1.13, 1.06, 1.02, 1.08, 1.07, 1.05 及び 1.10 である。その最高値は 1.52 であり、その最低値は 0.60 であったので、私はこれらを以て上限界及び下限界とする。

(3) 膀胱粘膜の単純肥厚部細胞核の DNA 含量：第 6 例、第 7 例、第 21 例及び第 22 例に就て認められた単純な粘膜上皮の増殖部の細胞核の DNA 含量は、夫々平均 2.24, 2.50, 2.46 及び 2.22 で、正常上皮細胞核の含有量の約 2 倍に増量しているが、後に述べる腫瘍部細胞核のそれよりは遙かに低い。これら細胞の排列は整然とし、細胞の大きいさも揃い、核にも異常分裂像など腫瘍を思わせる像が全くないのである。

(4) 乳頭腫細胞核の DNA 含量：10 例の肉眼的に著明な乳頭状増殖を示し、組織学的にも異常の粘膜上皮の増殖、細胞排列の不規則化並びに核及び原形質の染色性の不均等など腫瘍の活性を充分に示した乳頭腫の細胞核の DNA 含量は正常のものゝ 2～4 倍に増加し、且つその Histogram に於ける配列も非常に散亂している。この所見は、Leuchtenberger et al. (1954), Atkin and Richards (1956) 及び Persky and Leuchtenberger (1957) などが人類各臓器の腫瘍細胞核で認められた事実と全く一致するもので、組織化学的所見からもこれら実験的乳頭状増殖部は腫瘍であり、正常粘膜上皮及び単純な増殖とは異なることを示している。

(5) 腫瘍膀胱の正常粘膜上皮細胞核の DNA 含量：既に述べた如く、乳頭腫を有する人類膀胱の一見正常と思われる粘膜部にも、組織学的には既に増殖性及び化生性変化が認められるものである。従つて実験的膀胱乳頭腫を有する家兎膀胱の腫瘍から離れた、一見正常の外観を呈する部位の粘膜上皮も、同様の傾向を有する可能性は充分に想像し得る。故に私は正常粘膜上皮細胞核に就ての DNA 含量を測定したのであるが、想像に反して、その値は全く正常値であつた。即ち組織化学的には実験的腫瘍膀胱の一般粘膜上皮は正常範囲を越えた潜在性活性を示すものではなかつた。

(6) 深部発育部細胞核の DNA 含量：乳頭腫様増殖ではなく、Brunn 細胞巢に相当する深部発育を組織

学的に証明し得た部位の細胞核の DNA 含量は、すべて正常値の領域にあつた。即ち、組織化学的には、かかる上皮細胞の発育は腫瘍性増殖でないことを証した。

(7) 総括：以上の実験成績を総括すると、次の如くである。家兎膀胱粘膜上皮細胞核の DNA 含量から見て、乳頭腫状腫瘍部は確かな腫瘍である。しかし、腫瘍部から離れた部位の外観上正常の粘膜上皮は、少しも増殖性傾向の変化を示していない。又組織学的には乳頭腫的増殖と同傾向の、異なつた型の 1 種の増殖性変化と考えられる Brunn 細胞巢の様な深部発育は、組織化学的には全く腫瘍の活性を帯びていない変化である。

V. 結 語

(1) 100mg の 20-MC を含む 0.6 g のパラフィン・ペレットを家兎膀胱内に 10 カ月間留置して、15 匹中 10 匹 (66.7%) に膀胱乳頭腫を発生せしめた。しかし癌腫の発生は認められなかつた。

(2) 家兎正常膀胱及び実験腫瘍膀胱の粘膜上皮細胞核の相対的 DNA 含量を、Feulgen 反応により染色し、Microspectrophotometer を用いて測定し、次の成績が得られた。

(a) 乳頭腫様変化部の膀胱粘膜上皮細胞核の DNA 含量は正常に比べて 2～4 倍の高値を示し、且核から核への DNA 値の散亂が高度で、腫瘍細胞として疑ふ余地のない性状を示した。

(b) 実験的腫瘍膀胱の腫瘍より遠隔部の組織学的に一見正常に見える部及び Brunn 細胞巢部の上皮細胞核の DNA 含量は殆んどすべて正常域にあつた。即ち、前者は腫瘍膀胱の粘膜は全体としては全く腫瘍性の活性を帯びていないことを示すものであり、後者は決して腫瘍性変化でないことを示唆している。

稿を終るに当り、終始御懇篤な御指導並びに御校閲を賜つた恩師楠隆光教授に衷心より感謝の意を表します。

又終始御懇篤な御助言を賜つた本学第一病理学教室宮地徹教授に衷心より感謝の意を捧げます。

尚本研究に御協力頂いた大久保達也博士に感謝致します。

文 献

- 1) Allen, M.J., Boyland, E., Dukes, C.E., Horing, E.S. and Watson, J.G.: Brit. J. Cancer, 11, 212, 1957.
- 2) Atkin, N.B. and Richards, B.M.: Brit. J. Cancer, 10, 769, 1956.
- 3) Brosig, W.: Bruns' Beitr., 194, 278, 1957.

- 4) Carruthers, C. and Suntzeff, V.: *Cancer Res.*, 6, 8, 1946.
 - 5) Clayson, D.B., Jull, J.W. and Bonser, G.M.: *Brit. J. Cancer*, 12, 222, 1958.
 - 6) Feulgen, R. und Rossenbeck, H.: *Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem.*, 135, 203, 1924.
 - 7) 長谷川泰: *日泌尿会誌*, 46, 296, 1955.
 - 8) Hughes, B.: *J. Urol.*, 62, 833, 1949.
 - 9) 市川篤二, 辻一郎, 石井澄子: *日泌尿会誌*, 43, 19, 1952.
 - 10) Jull, J.W.: *Brit. J. Cancer*, 5, 328, 1951.
 - 11) Leuchtenberger, C., Leuchtenberger, R. and Davis, A.M.: *Am. J. Path.*, 30, 65, 1954.
 - 12) Masina, F.: *Brit. J. Urol.*, 24, 344, 1952.
 - 13) Melicow, M.M.: *J. Urol.*, 68, 261, 1952.
 - 14) Naora, H., Matsuda, H., Fukuda, M. and Shibatani, A.: *J. Jap. Chem.*, 5, 729, 1951.
 - 15) Persky, L. and Leuchtenberger, C.: *J. Urol.*, 78, 788, 1957.
 - 16) Rudali, G., Chalvet, H. et Winternitz, F.: *C. r. Acad. Sci.*, 240, 1738, 1955.
 - 17) Schär, W.: *Dtsch. Z. Chir.*, 226, 81, 1930.
 - 18) Schneider, W.C.: *Cancer. Res.*, 5, 717, 1945.
 - 19) Schneider, W.C. and Klug, H.L.: *Cancer Res.*, 6, 691, 1946.
 - 20) Stowell, R.E.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 3, 111, 1942-*Cancer Res.*, 6, 426, 1946.
 - 21) Stowell, R.E. and Cooper, Z.K.: *Cancer Res.*, 5, 295, 1945.
 - 22) 富永渉: *大阪医会誌*, 42, 627, 767, 1943.
 - 23) 柳沢育夫, 富永渉: *大阪医会誌*, 42, 769, 1943.
 - 24) 横山恒子, 中埜就広: *大阪医会誌*, 41, 499, 1942.
-