



Title	固定組織からの細胞分離法を応用した一新核NDA量顕微分光測光法ならびにその胃疾患への応用について
Author(s)	岩佐, 善二
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30511
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	岩 ^{いわ} 佐 ^さ 善 ^{ぜん} 二 ^じ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 2 4 2 3 号
学位授与の日付	昭 和 46 年 12 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	固定組織からの細胞分離法を応用した一新核DNA量 顕微分光測光法ならびにその胃疾患への応用について
論文審査委員	(主査) 教 授 陣内 傳之助 (副査) 教 授 清水 信夫 教 授 芝 茂

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

顕微分光測光法による核DNA量の測定において新鮮組織 touch 標本では細胞の分離は比較的容易であるが、組織学的構造との比較検討は困難であり、一方固定組織切片では組織学的構造との比較検討は容易であるが隣接する細胞核が重なり合うため核DNA量の測定はきわめて困難である。これらの欠点を解決するため従来困難とされていた固定組織より細胞を分離する方法を開発した。この方法を実際に癌を中心とした胃組織に応用し、組織学的所見と核DNA量との関連性について検討した。

〔実験方法および実験成績〕

I. 固定組織からの細胞分離方法の研究

A. 実験に使用した各種試薬の検討

手術摘出胃を10%ホルマリン液にて固定し、パラフィン切片とし、各種酵素剤(crude stem bromelain, trypsin, papain, pancreatin, collagenase および hyaluronidase)、脱Ca剤(2 Na - EDTA およびクエン酸)および表面活性剤(aerosol O T)を一定時間作用せしめた後、分離針で組織中の細胞を分離し、上皮の分離状態を観察したが、2 Na - EDTA と crude stem bromelain と組合せた場合がもっともよく細胞を分離できた。

B. 2 Na - EDTA, stem bromelain および超音波による分離条件の検討

正常犬の肝組織を30 μ のパラフィン切片とし種々の条件の試薬溶液中に浸漬した後、超音波によって細胞を分離し、単位体積中の分離した全細胞を裸核、単一に分離された細胞、2個結合した細胞、以下3、4、5個結合した細胞および6個以上結合した細胞群に分類、集計して分離条件を検討したが、2.0% 2 Na - EDTA, pH 7.3, 0.2M phosphate buffer 溶液中に2時間浸漬、振盪し、つぎに10mg/100ml crude stem bromelain, 0.01M cystein, pH 7.5, 0.2M phosphate

buffer 生理食塩水溶液中に20分浸漬、振盪し、最後に超音波(500W, 26Kc)を6分間作用せしめたとき単細胞はもっとも多く分離できた。

C. 分離した細胞における核DNA量の消長についての検討

正常細胞として正常人末梢血中リンパ球、癌細胞として Ehrlich 腹水癌細胞を選び、分離操作と同様の処置をした後、Feulgen 反応を施して Carl-Zeiss 製(UMSP-1型)で核DNA量を測定し、その減少率とその核DNA量ヒストグラムの推移を検討したが、小リンパ球、Ehrlich 腹水癌細胞の減少率はそれぞれ6.3%、5.9%であった。また核DNA量ヒストグラムは処置前、後で同一のパターンを示した。

II. 癌およびその他の諸胃疾患における核DNA量の研究

切除胃を10%ホルマリン液で固定した後、6 μ および30 μ のパラフィン切片とした。6 μ 切整は組織学的検索に用い、30 μ の切片は脱パラフィンし、hematoxylin 液で核染色した後、6 μ の組織標本を参照しつつ目的とする部位を顕微鏡下で切除、採取し、上述の操作で細胞を分離し、塗抹、乾燥した後、Feulgen 反応を施し、完全な形の細胞のみを選んで、その核DNA量を測定した。

この方法を正常胃、正常十二指腸、正常空腸、化生小腸上皮、境界領域症例、早期胃癌、重複胃癌および進行胃癌の原発巣とリンパ節転移巣など34症例、測定部位数61について検討し、つぎの結果をえた。

- (1) 正常胃上皮のモード値は2.0nで分散の巾は4.0n以内であった。
- (2) 正常空腸上皮を絨毛部と腺部、化生小腸上皮を表層部と腺部に区分すると腺部は絨毛部、表層部よりも hyper-2.0n の細胞核が多く出現した。
- (3) ヒストグラムのパターンは必ずしも癌の深達度と相関関係がなかった。
- (4) 腺癌と巣純癌よりなる混合組織型のI型早期胃癌の2例では単純癌は腺癌よりも分散の巾の拡大が認められたが stem line はともに同じ値を示した。
- (5) クロマチンの染色性と核DNA量とは必ずしも相関関係がなかった。
- (6) リンパ節転移巣の癌細胞核DNA量の stem line は原発巣のものと同じ値のこともあり、低倍性あるいは高倍性にずれる場合があった。
- (7) 良性病変と癌とのもっとも大きな鑑別点は4.0n以上の細胞核の占める割合の増大であり、典型的な癌はすべて4.0n以上の細胞核の出現頻度5.0%以上であった。一方非癌例はすべて5.0%以内であった。

〔総括〕

- (1) 従来困難とされていた固定組織よりの細胞の分離を 2Na-EDTA, crude stem bromelain および超音波を用いて可能ならしめる、すぐれた方法を開発した。
- (2) この方法によって分離された細胞の核DNA量の減少率はきわめて小さく、質的变化を示さないことが証明され、本法は核DNA量の顕微分光測光法に十分に利用できることがわかった。
- (3) 一般に単純癌は腺癌、印環細胞癌よりも4.0n以上の細胞核の占める割合が大である。
- (4) 原発巣とリンパ節転移巣において stem line は一定不変でなく、リンパ節転移によって変りう

ることがわかった。

(5) 4.0n 以上の細胞核の占める割合が5.0%以上であることを癌の診断基準とした。

(6) 境界領域症例の大部分は核DNA量の点から良性あるいは癌と診断できたが、核DNA量の点からもなお境界領域といわざるをえない症例があった。

(7) 以上の核DNA量測定方法は早期癌の診断にきわめて役立つものであると考えられる。

論文の審査結果の要旨

顕微分光測光法による核DNA量の測定のために、従来困難とされていた固定組織よりEDTA、bromelain および超音波を用いて、完全な形の細胞を分離するすぐれた方法を開発し、この方法を癌を中心とした胃疾患に応用し、組織学的所見と核DNA量との関連について検討した。ことに早期胃癌および良性、悪性との境界領域症例について検討した点はこの分野の進歩に寄与するところが大きいと思われる。