

DAB肝癌の増殖機構に関する形態学的研究

岡山大学医学部病理学教室（指導：妹尾左知丸教授）

副 手 赤 木 制 二

（昭和33年11月27日受稿）

内 容 目 次

I 緒 言

II 実験材料並に実験方法

III 実験成績

- 1 DAB肝癌実質の毛細血管形態
- 2 血管内墨汁注入時のDAB肝癌の肉眼的所見
- 3 DAB肝癌実質と血管との相互関係
- 4 DAB肝癌分裂細胞と血管との関係

5 DAB肝癌壊死巣と血管

6 組織内に浸潤性発育をとげた腹水肝癌細胞と血管との相互関係

IV 総括並に考按

V 結 論

主要文献

論文附図及び説明

I. 緒 言

腫瘍の最も本質的な問題は細胞が無制限に増殖すると云う事であり、この様な状態には細胞それ自身の変化と共に細胞の無制限な増殖を可能にする栄養の補給機構の存在が考えられる。この様な意味に於て腫瘍の成立にはその実質と共に間質の構造に充分な注意が払われねばならない。形態学者の立場からすれば癌腫から基質を切り離しては到底癌腫の成立、増殖は考えられない。一般に我々は癌腫の栄養血管を包蔵する結合組織、その他の基礎物質の集りを癌腫の基質或は間質と呼ぶならわしであるが吉田²⁴⁾は癌間質を「偶然間質」と「固有間質」に区別して考えることを提称している。「偶然間質」とは癌実質細胞が浸潤性に増殖を行うに当つて、その部に既存していた血管結合組織を癌組織中にたまたま封入したもので、「固有間質」とは癌実質細胞の増殖に伴って特別に増殖成長し或は新生した血管結合組織を指している。この概念に従えば癌腫発育の場合に問題になるのは「固有間質」であるとい得る。而も腫瘍細胞の栄養摂取と云う点から考えると癌腫の固有間質の中に発展する固有血管の構造とその機能が問題の中心として取上げられねばならない。

癌腫にしても肉腫にしてもその発育には血管の導入を必要とするかに見え夫々に特徴的な固有血管の分布乃至は形態学的構築が認められる。之等は形態学的に正常な毛細管と本質的な相違がある様には思われぬが、その形態の不規則性に於て又屢々赤血球を含めぬ

体液に依つて（その最も典型的な場合は腹水腫瘍に之を見る）間質の栄養補給路が形成される事は癌細胞の性格と相俟つて腫瘍形成への間質の関与に関する問題に一つの大きい示唆を与えるものである。かつてWarburgは癌細胞に於て解糖代謝の亢進を認め更に先年腫瘍の発現とその発展について無気呼吸代謝の面からこれを一元的に解決しようと試みた²⁴⁾。その当否に關しては多くの異論もあるであろうが癌細胞が旺盛な無気呼吸を行う事は既に幾多の実験に依つて示されているところであり、その増殖が組織内酸素分圧と密接な関係を有するであろうことは容易に推定される。この事は形態学的には癌腫組織内の毛細血管の発展と関連している事は論を俟たない。著者は之等の関係を形態学的に明かにする目的で常に毛細血管に接して存在する肝実質細胞と之から発展した肝実質細胞癌の細胞と毛細管の関係を追及し、一定の決論に到達したのでここに報告する。

II. 実験材料及び実験方法

100乃至150グラムの雑系白鼠を0.06%DAB*白米食を以て130日乃至150日飼育し（方法は原田・水田等の法に依る）、その間白米及び水の他は一切栄養を与えず上記日数を経て生存し得たものは小麦、野菜を主とする平常食に切換え飼育した。その間斃死した白鼠を開腹し肝癌発生の認められたものでは肝を取出し20%フ

* P-Dimethylaminoazobenzene

オルマリンに固定、肝癌組織をパラヒン包埋し5 μ 連続切片となしヘマトキシリン・エオジン染色(以下HE染色と略記す) Bielschowsky 鍍銀法, Tibor-Pap 鍍銀法, van-Gieson 染色をなし病理組織学的に検索した。又上述のDAB飼育期間を過ぎ鼠の一般状態、腹部触診所見等から肝癌発生を思わしたものをエーテル麻酔のもとに開腹開胸し腎動脈分岐部の心側で大動脈を結紮し、胸部大動脈及び門脈より5%墨汁を夫々5~10cc注入し肝の黒変に次ぎ両肺、心筋次いで頸部臓器の黒変を確かめ直ちに注入を停止し注入部位に於て大動脈ではやや末梢側を、門脈では肝門側を結紮し更に上空静脈を胸腔内で結紮し肝を損傷することなく肝附近の臓器及び周囲組織を一括として取出し20%フオルマリンに固定し組織学的に肝細胞癌を選択的に切出し5 μ の連続切片となし、HE染色を施し主として強拡大視野に於て組織学的に観察しアッペ描画装置を用いたり或は写真撮影を連続的にを行い、これを引伸機にかけ実物大の420倍に統一拡大し硫酸紙に投影、実質内毛細血管及び実質細胞を描画し復構し立体的に血管と実質との相互関係を観察した。注入に使用した墨汁は自ら墨をすつて作つた5%墨汁を綿花を挟んだガーゼで先ず濾過し、これを毎分2000回転で30分遠心沈澱し、遠沈管底部の泥状沈澱を混入せぬ様上部の墨汁を更に他の遠沈管にとり更に上記同様に遠心沈澱し底部沈澱を除いた部分を使用した。注入には10cc注射器及び $\frac{1}{4}$ 注射針を用いた。

更に教室の同僚が夫々の実験に使用した腹水肝癌AH7974系の214代215代、AH130系の241代白鼠の死体から腹腔漿膜下に浸潤した病巣を切出し20%フオルマリンに固定、パラヒン包埋をなし5 μ 連続切片としHE染色、Tibor-Pap鍍銀法を施し上記同様に復構を試み立体的に肝癌実質と血管の相互関係を観察した。夫々の肝癌ブロックを100乃至450枚の連続切片とした。

Ⅱ. 実験成績

1. 肝細胞癌実質の毛細血管形態

本研究は肝細胞と血管との関係を正常肝細胞のそれに対比し考究するのが目的であるので、DAB肝癌と云われるものに含まれる胆管癌は一応研究の対象より除外し、小葉性、胞巣性乃至は瀰漫性充実性肝細胞癌組織について検索をすすめた。以下単に肝癌と記す場合は肝細胞癌を指している。

肝癌実質内血管は概して最も単純な形態で附属組織を従えない一層の内皮細胞列よりなっている。肝癌実質内を不規則に走り網眼状をなし癌組織に纏絡し、甚

だ細く狭窄したかと思うと突如拡張し或は直走し或は迂曲する。肝癌実質内の血管で最も目立つことは血洞様に著しく拡張した血管で長径が1000 μ 或はそれ以上を算するものも少ない事である。(図1, 2)。

それらの中には赤血球に乏しく殆んど空虚にみられるものもあるが多くは赤血球を充満し屢々停血状態にあると考えられるものに相遇する(図1, 2)。

この様に拡張した血管は肉眼的には血点として認められるものに外ならない。その腔の大きさは小動静脈のそれに匹敵するが、その血管壁構造は甚だ未熟で一層の内皮細胞列をもつて過ぎず血管附属組織を全く欠ぎ血管壁構造の上では毛細血管に相当する。この血洞様毛細血管は肝細胞の増殖に伴つて腫瘍組織内に新しく形成された血管であつて、決して非癌部組織には見られない所見である。肝癌実質内の毛細血管にも正常組織のそれと同様に内皮細胞列が明瞭に窺い得て嗜銀線維は内皮細胞列に従つて整然と血管腔を囲繞するものももとより認められるが(図3, 4)屢々HE染色では内皮細胞列を明らかにし得ないものが少ない。即ち赤血球が多数実質細胞群の間の血管様間隙に存し乍ら、その間隙の全周を内皮細胞が囲繞せず、部分的に連繫したり、又はとぎれとぎれに認められる。この様な部分を墨汁注入標本で見ると墨汁は決して癌細胞間に侵入せず、このことから仮令不完全な内皮細胞の繋りしかもたない如くみられる之等の血管に於ても内皮細胞々体の延長による膜の形成があるものと云わねばならない。同様な血管を鍍銀標本で観察すれば内皮細胞列に沿つて嗜銀線維の断続的出現を示すものが少ない(図6, 7, 8)。

HE染色標本で内皮細胞が欠如し赤血球が直接肝細胞に接して流れる如く見られる血流路を連続切片で追求して行くと相次いで内皮細胞が血流路壁に出現して来る。この様な基礎物質の何者をも持たない未熟な毛細血管構造は癌腫に本質的なもので肝癌実質細胞の側から云えば肝細胞自身にとつて代謝の面で好都合に出来ているものかも知れない。

以上の様に肝癌実質の毛細血管分布は形そのものが極めて不規則であると同時に内皮細胞そのものが極めて不備であり、この様な血管を立体的に追求するにはHE染色を始めとし膠原線維染色、各種鍍銀法ではその目的を達するためには屢々困難を感じるが膠質状態にした色素液、或は墨汁を以つて実質内血管を充填し観察すれば可成容易に追及出来る。

次に上記方法で墨汁を注入した場合の所見に就て述べる。

2. 血管内墨汁注入時のDAB肝癌の肉眼的所見

さきに実験方法の項で述べた如く担肝癌白鼠の大動脈及び門脈より墨汁を注入すれば非癌部は容易に黒変し得るが肝表面に存在する癌塊は非癌部に比して明らかに黒変し難い。その際癌塊表面を被う被膜の血管は順次に墨汁により塞がれて行くが一見して癌塊内には墨汁が侵入して行かない様に見える。墨汁注入肝を固定し割を入れて見ると割面に於ける非癌部は全部黒変しているが癌塊割面は僅かに薄く黒変するもの、線状乃至は点状或は斑状に黒変するもの等色々であつて中には墨汁侵入のないが如く見られるもの等種々である(図9)。

概して肝癌塊内の墨汁による着色が非癌部に比して遙かに劣るこの事実は取りも直さず肝癌部は非癌部に比して血管の占める絶体的容積の乏しいことを示唆するか或は血管があつても容易に墨汁が入りにくい状態にあるか何れかであつて肝癌実質は Oligemia の状態に置かれていていると云い得る。

3. DAB 肝癌の実質細胞と血管との相互関係

墨汁注入肝の肝癌実質を顕微鏡下に観察すると墨汁が全く理想的に毛細血管腔を充填している肝癌例は意外に少い。これは注入後固定の完了するまでの時間に癌実質内で墨汁が沈降移動する事も考えられるが肉眼的所見からしてやはり入りにくいものであると考えた方が妥当であろう。本観察には墨汁が充分毛細血管を充たしている肝癌病巣を選び行つた。この様な肝癌部では組織標本製作の過程に生じた肝癌実質内の人工的に出来た不規則な裂隙と毛細血管腔は容易に区別し得る。人の定型的ヘパトームの像に近い小葉性肝細胞癌では図10, 11の如く血管は恰も実質細胞に纏絡するが如くに走っているがその太さは決して一様でなく甚しく狹隘となつたかと思うと突如拡張した血管となり周囲から肝細胞巢に圧せられたが如くに横断面は丸味を帯びず不規則、複雑に分岐し豊富な血管網を作る。(図10, 11)。

小葉性肝細胞癌は多くは大細胞性で12乃至15 μ の直径を有する細胞よりなり、血管は之等細胞索に接して走るが正常肝細胞の場合と異り総ての肝細胞が血管壁に接してはいない。立体的に観察してみるとこの相互関係をよく窺い得る。更に胞巣性充実性肝細胞癌或は広く肝組織が肝癌組織により瀰漫性に置換された恰好の瀰漫性充実性肝癌の実質に於ける血管分布は小葉性肝細胞癌のそれと異り血管分布密度は甚だしく疎となる。不規則な走行或は断面を示し充実性実質の中に血管網を作っている(図12, 13, 14)。

この様な部分の肝細胞は小葉性肝細胞に比し僅かに小型となり直径10乃至12 μ 前後で胞体は一段と合胞性を増して来ている。図13の部分で復構したものが図14で図11に比して血管分布密度は明らかな相違を示し疎に分布している様がよく分る。即ち肝細胞の大多数が血管壁より遠く離れて生存している事実を知り得る。実際に充実性細胞群の略々中心部を求め附近の総ての血管壁との距離を立体的に計測してみると90, 120, 160或は200 μ を算し、これだけの距離を最寄りの血管壁との間に保ち乍ら充分生存し増殖を総てしていることが分る。これ等の事からも肝細胞癌細胞は正常肝細胞に比して著しい低酸素分圧状態のもとに代謝を営んでいる事が想像される。

4. DAB 肝癌の分裂細胞と血管との関係

小葉性、胞巣性充実性肝癌実質に於て一体血管よりどの程度の距離にある部分が肝細胞の増殖に好適であらうかの問題を追求する目的で実質内に見られる細胞分裂像を探し求め、その細胞より最も近いところに走る血管壁までの距離を立体的に計測し、充実性胞巣を次の三帯に分類し夫々の帯に位置するものを次表の如く纏めてみた。血管壁より30 μ 隔つた処までの一帯を接近帯と名付け30 μ 以上60 μ までの一帯を中間帯、それ以上遠隔の部を遠隔帯とした。細胞分裂の末期に該当し細胞質の殆んど二等分しかかつたものはこれを一個に数えた。次表夫々の数字は単位容積160 $\times$ 160 $\times$ 160 μ 内に於ける分裂細胞数である。

動物番号	分裂期細胞と最寄り血管との距離	接近帯 0~30 μ	中間帯 30~60 μ	遠隔帯 60 μ 以上
No. 18		14	6	5
No. 36		27	19	10
No. 37		18	6	2
No. 58 (1)		20	11	0
(2)		14	7	4
(3)		10	6	2
(4)		3	9	8
No. 72 (1)		22	10	0
(2)		28	8	1
平均		17.3	9.1	3.6

註：() 内は肝癌ブロック番号

即ち表の如く小葉性、胞巣性充実性肝細胞の分裂像は接近帯に頻りに認められる傾向を示しているが中間帯遠隔帯にあつても分裂像は決して少くないことを知つた。この事は癌細胞が殆んど O₂ の補給がないと考えられる所でもよく生存し増殖し得る事を示している。

5. DAB肝癌壊死巣と血管との相互関係

肝癌が小葉性のものであろうと胞巣性のものであろうと余りにも充実性増殖を続けて行くと胞巣の略々中央部に癌細胞の退行変性像が認められる様になり、次いで可成り広く Nekrobiose の像が出現し次に壊死像を呈してくる。充実性胞巣の壊死巣をみると周囲に残存する癌細胞群と明瞭な一線を劃し、小葉性乃至は胞巣性肝癌ではドーナツ状に癌組織が残存する。即ち胞巣の周囲の血管網に隣接した実質帯が壊死を免かれているのである。(図15)。

これら残存する実質と壊死巣との境界は血管壁と一定の距離を保って平行して現われ、この残存した実質の巾を血管壁より胞巣の略々中心に向つて計測すると夫々の視野について60, 65, 72, 80, 100 μ 等を算した。

瀰蔓性に充実性発育を遂げた肝癌にはしばしば壊死巣を認めるが、この様な例では、血管に隣接した実質が丁度血管と同心円状に残存し、この場合も壊死巣との境界は線状に明瞭に現れる。この様な残存実質の巾は夫々60, 70, 90, 100 μ を算した。(図16)。

6. 組織内に浸潤性発育を遂げた腹水肝癌細胞と血管との相互関係.

DAB 肝癌の血管分布と実質との相互関係は上に述べた如くであり所見は肝癌細胞増殖の場が可成り低酸素分圧状態であろう事を示していると同時にそこには一定の限界があり癌細胞と云えども全くの無酸素状態での生存は不可能である事を示した。この様な型式の組織表現に於ける最も極端なものは腹腔に遊離し生存する肝癌島であろう。腹水肝癌島には1本の毛細管すら認められないことは云うをまたない。腹水肝癌はアゾ色素によつて作られた白鼠肝癌を腹水型に転換したものに他ならずその起源は白鼠の肝細胞である点はDAB 肝癌と本質的には異つていない。腹水肝癌を雑系白鼠に移植し7日乃至10日経つたものの腹腔漿膜下組織の浸潤巣の増殖像と腹膜既存の血管との関係を観察した結果では、漿膜下の鬆疎な組織に浸潤した肝癌細胞は恰も体液通路に浮遊するが如くに増殖し図17, 19の如く数個、十数個の肝癌細胞が不規則大小の島状集塊を作る。未だこの時期には新生血管の増殖は見られない様で既存の毛細血管は高度に充盈している。立体的に観察すれば血管壁より200乃至250 μ 或はそれ以上も遠く離れて肝癌細胞は生存し増殖を続けている(図18, 20)。

IV. 総括並びに考按

DAB を長期間投与して作り得た雑系白鼠の原発性

肝細胞癌組織及び雑系白鼠に移植した腹水肝癌の腹腔漿膜下組織に浸潤した肝癌胞巣と血管とを立体的に検索し肝癌実質とその固有血管との相互関係を追求した結果は以上の如く肝細胞癌増殖の場は正常肝細胞のそれと比較し可成りの低酸素分圧状態にあることは明らかである。

組織学的には可成りの血管を保有する如くに見える癌巣に於ても之等の血管内の血液の流通は極めて悪いものであつて Story, Wish 及び Furth²²⁾ 等はFe⁵⁰を使用し二十日鼠の可移植性腫瘍組織に Oligemia のある事実を認めているが著者の墨汁注入実験に於てもこの事は充分明かである。之等の血管は屢々多量の赤血球を含んではいるが、この様な状態では既に酸素の補給者としての赤血球の役目は殆んど失われているものと断ぜざるを得ない。一方酸素を失つた赤血球が極めて崩壊しやすくなる事も知られて居り、之等は早晚大量に破壊されるべき運命にあるであろう事も想像される。癌患者に屢々見られる高度の貧血の原因の一部は或はこの様な溶血機構に依つているかも知れない。

只血管壁の細胞が殆んど貪喰能を有しない毛細管内に於ては之等が細胞の hemosiderosis として形態学的に把握出来ないと云う事かも知れない。従つて腫瘍組織に於ては血管壁に接して存在する細胞といえども決して正常血管に接する正常細胞と同等に酸素の補給を受けていると考える事は妥当ではない。而もこの血管に接する部分に於て最も旺盛な細胞分裂の像が見られると云う事は間質の血管がその酸素分圧に於て又その他の栄養の補給に於て腫瘍細胞の発育に最も好都合な場を提供している事を示すものでなければならない。然しこの様な腫瘍組織に於ても血流が全く停止しているのではない事は毛細管内の赤血球がその形態をよく保つて存在している事から明かである。又腫瘍細胞と云えども完全に無気解糖系のみからその代謝のエネルギーを得ているわけではなく、有気呼吸をも可成り営んでいる事は一般に認められている所であり、恐らく大部分のエネルギーを無気解糖系から得、最少限に必要な(Warburg の云う形態維持に必要な)エネルギーを有気呼吸から得て生活を続けているものであろう。完全な無酸素状態では細胞は生き得られないことはその生活限界が血管との距離に於て厳密に限定されている事から明かである。この現象は酸素以外の栄養の補給乃至は代謝産物の排除と云う事にも関係しているかも知れない。然し爾他の栄養物は殆んど水溶性、脂溶性のものであり組織間隙乃至は細胞を通じて十分に体液内に拡散され得るものである。代謝産物に於て

も炭酸ガスを始めこの範疇から出るものではない。然し酸素の場合はその拡散恒数が極めて小さい点に於て他の栄養物とは同等に取扱われるべきではない。系統発生学的に見ても生物がある程度の分化を起して多細胞性になる場合酸素のみに対して特殊な運搬物質、ヘモグロビン、ヘモチヤニンの如きものを保有する事によつて始めてその生存が可能である点を見れば何よりもこの関係は明かである。

このような特殊の運搬者を持たない癌細胞巢の中へ体液に溶解している少量の酸素が拡散に依つて細胞に与えられる時、血管から一定の距離以上に距つた場合最早体液中には殆んど酸素がないと云う状態は容易に想定出来、この限界は始めに体液に含まれる酸素の量と之から酸素の補給を受ける細胞の酸素需要量に依つて決定されるであろう。即ち今血管内の体液に含まれる酸素の量を a 、その拡散恒数を K 、1コの癌細胞の O_2 消費量を b とするとこの酸素量に依つて血管壁から直角に連続的に配列し得る細胞の数 n は $n = K \frac{a}{b}$ で表現される筈であり、もし b が Ka に近い値をとればその細胞を通じて次の細胞に送られる酸素の量は次の細胞を養う事は出来ず、細胞は血管壁に沿つて一列に配列する形をとらねばならぬ。この形は即ち正常肝細胞の場合に相当している。著者の計測では癌組織によつて必ずしも一定ではないが小型の直径 12μ 程度の細胞では血管から直角に $8 \sim 18$ コの細胞、平均 15 々が観察される。この事は即ち癌細胞の呼吸が正常肝細胞の $\frac{1}{15} \sim \frac{1}{18}$ に低下している事を示すものに外ならない。他の栄養物は上述の拡散恒数からみて如何なる物質も之以上の距離にある細胞に栄養を与える事が出来ると考えられる。癌細胞の生存域が中心の壊死に依つて示される場合も又血管中心性に同心円状に増殖する場合にもこの関係は同様である。この事は之等癌細胞の形態学的研究からも明瞭である。Green⁵¹⁾ に依れば有気呼吸を営む場は細胞のミトコンドリアのクリスタ及び二重膜にあると云うが、この事は小田^{17) 18)} の実験に依つても組織化学的に証明せられ、又著者²⁰⁾ 等が第2回岡山癌交見会に於て発表した如く肝癌細胞のミトコンドリアのクリスタは極めて不完全なものであり、その多くは不明瞭なクリスタしか有していない。

今血漿中に溶解している酸素量を常温 ($30^\circ C$) 常圧に於て水に溶ける酸素量と等しい物と仮定すれば、 $100cc$ 中には $0.0032218g$ 溶ける事になる。今細胞の直径を 11μ とすると1コの細胞が占める容積は

$$\frac{4 \times 5.5^{-4} \times 5.5^{-4} \times 5.5^{-4} \times 3.14}{3} = 696.55 \times 10^{-12} cc$$

で、その容積中に溶ける酸素量は

$$\frac{0.00322 \times 696.55 \times 10^{-12}}{100} = 2.24 \times 10^{-15} g \text{ となる。次に}$$

血管より組織内に拡散する酸素量は液体が移動していないと云う前提下では Fick の定律より

$$dm = -Dq \frac{dc}{dx} \quad (-D = 1.98 \times 10^{-5} / \text{sec}) *$$

dm —— 拡散して行く O_2 の量

g —— 拡散する面積

dx —— 距離

dc —— 濃度 $\left\{ \begin{array}{l} b \quad c \\ d \quad x \end{array} \right.$ 濃度勾配

dt —— 時間

故に1秒間に1ケの細胞当りに拡散する酸素量

$$dm = 1.98 \times 10^{-5} \times 94.99 \times 10^{-8} \times \frac{2.24 \times 10^{-15}}{11 \times 10^{-4}} \times 1 = 38.299 \times 10^{-24}$$

正常肝細胞は毛細血管に沿つて一列に並んでおり、この事は二重配列構造では生存し得ないものと考えられる。従つて正常肝細胞は少なくとも拡散して来る O_2 量の半分以上を消費しているものと考えられる。従つて正常細胞では、 $19.149 \times 10^{-24} < O_2 \text{ 消費量} < 38.299 \times 10^{-24} g/sec$ の間にその生存圏がある事になる。

この考えを肝癌細胞にあてはめてみれば、肝癌組織では平均 15 層並んでいるので 15 ケの細胞迄は生存出来ても 16 ヶ並ぶ時には生存出来なくなる事を示し従つて正常細胞の $\frac{1}{15} \sim \frac{1}{16}$ の O_2 消費量の間に生存している。従つて

$$\frac{38.299}{16} \times 10^{-24} g/sec < \text{肝癌細胞の } O_2 \text{ 消費量} < \frac{38.299}{15} \times 10^{-24} g/sec$$

の間に生活している事になる。Warburg²⁴⁾ がエーリツヒ腹水癌で測定した結果は $Q_{O_2} = -7$ であり、正常マウスの肝細胞では $Q_{O_2} = -15$ の値を示している。 $Q_{O_2} = -7$ が肝癌細胞に於て略々同程度のものとし又正常肝細胞に於て $Q_{O_2} = -15$ と仮定すると上記の計算方法に基けば

$$\frac{-15}{16} < \text{肝癌細胞の } Q_{O_2} < \frac{-15}{15}$$

となり、よつてこの中の $\frac{-0.97}{-7} = 0.138$, 13.8% のエネルギー代謝は解糖に依るエネルギーで置き換え得ないものであると考えられる。

以上の事実を考えると癌細胞にも最少限必要な O_2 量と云うものがあり、之に依つてその発育は必然的に抑制され一定の間質の構造と癌巢の形成に関係がある

* International Clitical Tables より

様に思われる。中心部に壊死を生ずる事は血管腔の方に向つての細胞の増殖を意味する事、之が或程度に達すると元からあつた部分は壊死に陥るであろう事も容易に理解出来、又血管腔が狭められる時には血管壁の周囲に於ける同心円的腫瘍発育層の形成される事も理解されよう。

次に腹水腫瘍と云う特別な形に就て考えて見るに之は体液によつて囲まれているのであるから総ての細胞は同じ条件下にあり、その増殖が腹水の量、酸素分圧とその中に存在する細胞数に依つて規制される事は明かである。腹壁に腫瘍を形成する場合にもその形は肝癌細胞の様に密でなく、どこまでも体液中に浮遊している形をとつており、この様な形のものに於てはDAB肝癌そのものに見られた如き理論は当嵌らない。

今茲で従来の文献に就て考察するに、肝癌の血管分布に関しては最近 **Breedis** 及び **Young**¹⁾、**森田**、**山内**¹⁶⁾ 等の業績がある。前者は肝癌栄養血管が主として主管血管の何れに属するかを検索し、後者は肝癌分布血管走行の形態学的変化を検索したもので著者の如き実質内毛細血管と実質細胞との相互関係を考究した研究ではないが、之等の実験は腫瘍細胞への酸素の補給と密接に関連しているので之に就ていささか理論的考察をとけてみたい。

肝腫瘍がその原発或は続発の如何を問わず主として肝動脈血の供給をうけると云う事実は **Wright**²⁶⁾ 或は **Markowitz** 及び **Rappaport**¹⁵⁾ が既に述べているところであるが **Breedis** 及び **Young**¹⁾ は家兎の **Vx₂** 癌、マウスの **T-241** 肉腫、人体の肝転移癌、ラツテの **DAB** 肝癌等について門脈よりゲラチン溶液に混和した **Carmin** 溶液を、肝動脈より **Prussian blue** 溶液を注入し肝腫瘍及び非腫瘍部の着色状態、顕微鏡下に夫々色素液を容れた血管断面を数えて動脈性分枝、門脈性分枝の量的な相違を見出している。それによると肝腫瘍は肝動脈より注入された **Prussian blue** の色に着色し、**Carmin** による着色はないと云い、これに反し非腫瘍部は門脈より注入された **Carmin** 溶液により赤く着色すると云う。即ち彼等の実験に依れば肝腫瘍はその原発と転移を問わず 80~100%が肝動脈より血液供給をうけており後の 0~20%が門脈より血液の供給を受けている。彼等の見解に依ればこの様な事実は門脈細枝が屢々肝癌細胞の侵襲をうけ一般に癌細胞浸潤による影響を蒙り難い肝動脈枝が栄養血管として門脈枝にとつて代るためであると云う。然し血管の発育が極めて貧弱な肝癌組織が酸素分圧の著しく低い門脈からの血液供給に依つては後に述べる諸家の

血管結紮実験からも明かな如く癌巢の發展は著しく抑制される事が考えられる。従つて肝癌細胞は肝動脈枝に向つて増殖し、ここに之を取囲んで固有血管を發展させると考えた方が妥当であろう。序で乍ら **Wright**²⁷⁾、**Cudkowicz**²⁸⁾ 或は **Wood**²⁵⁾ 等は彼等の観察から肺癌が肺動脈の灌流をうけず専ら気管支動脈から栄養される事を明かにしているが、この事実は肝癌が肝動脈に依つて栄養される事が血管壁の腫瘍に依る侵襲の度合に依つて決定されると云う **Breedis** 等の考えが全く根拠のないものである事を示している。即ち同じ様な壁をもつ動脈でも癌細胞はその中に動脈血の流れているものの流域に向つてその癌巢を發展させて行く事がわかる。

森田、**山内**等のラツテの **DAB** 肝癌に於ける合成樹脂注入法による血管鋳型標本の観察も、**Breedis** 及び **Young** と同様の成績を得ている。更に森田等は組織学的には充実性小葉性、胞巣性肝癌では内部に血管を殆んど認め得ないが、癌組織周辺には拡張した肝動脈細枝を認め、門脈細枝の拡張をも認め、索状腺様混合型癌では動脈細枝の拡張、多数の新生血管を認め、門脈系でも又癌組織周辺に拡張した血管を認めている。又胆管癌では肝動脈細枝は増生拡張し且つ胆管周囲叢の増加、拡張があり門脈枝の拡張をも伴う所見を得ている。肝癌組織に於ける動脈の分布形態はバスケット型と蔓状匍行型に二大別され前者は小葉性、胞巣性充実癌に特有で拡張した動脈が癌巢を籠状に取り巻き、若干の細枝がバスケット内に迂曲して入り込むものもあると。後者は索状腺様混合型癌、胆肝癌にみられ肝動脈細枝が拡張増生して蔓状に伸長すると云う。之等は主としてその癌細胞が如何なる形の癌巢を形成するかと云う事に依つて決定され、血管構造そのものの發展はむしろ受動的と考えるべきであろう。

腫瘍と血管との関係は腫瘍学上の重要問題の一つとして取上げられて来ている。血管が腫瘍組織に対して如何なる意義を有するものであるかを明らかにするため、腫瘍に分布する動静脈の結紮或は切断を以て腫瘍組織に充血或は鬱血を来さしめて腫瘍組織の発育増殖に及ぼす影響を検索した業績の多くは本邦学者によつてなされている。即ち藤縄⁴⁾ は鼠に鼠肉腫を移植するに当つて、移植前、移植時、移植後に総腸骨動脈或は股動脈或は股静脈を結紮し、結紮側の上記血管灌流域に移植された肉腫と、対側の肉腫とに就き発育増殖の様子を比較観察している。血管を結紮しても移植成功率には余り影響は認められないが、結紮側の肉腫の発育は可成り障害され、腫瘍発育期に於ける結紮が最

も大きい影響を及ぼし肉腫の発育は緩徐となり、発育を停止したり更には縮小を来すこともあると云う。この実験は細胞の栄養障碍と云う事よりも O_2 の張力に著しく関係していると考えられ上記の様な構造から考えて O_2 張力の低下が大きい原因であると考えられる。大島¹⁰⁾ は家雞肉腫を家雞 翼部に移植するに当つて動脈を結紮すれば肉腫の発育増殖を阻碍し、静脈を結紮した際は促進的に作用する事実を認め、前者は貧血のため、後者は鬱血のため以上の結果を招くものであろうと考えているが動脈の結紮は酸素張力の低下を示し、静脈結紮は普通では通りにくい腫瘍血管への血液の流入量を高める事が考えられる。若し之が栄養障碍に依るものであれば両者は同一の結果をもたらして然るべきである。

大島以後額¹¹⁾、堀内⁷⁾等は夫々家雞肉腫について同様の実験を行い、額¹¹⁾は前記と略々同様の結果を報告しているが、堀内は主幹血管結紮の時期的関係を重視し、結紮の時期によつて肉腫発育の程度に種々の相違が認められることを述べているが、この事は腫瘍発育の過程と形態形成に関する著者の考えからすれば当然の事とも云える。

河内¹²⁾は舌動脈切断が移植舌腫瘍の発育に及ぼす影響をみるために可移植性家兎肉腫を舌に移植し一侧の舌動脈切断を行えば概して腫瘍の発育増殖を阻碍するが停止又は萎縮更には之を消退せしめる事はなかつたと述べている。この事は腫瘍細胞が可成の低酸素環境で発育が可能であると同時に癌巢形成が酸素圧の關係で充分進展しない事を物語る様に思われる。

以上の如く従来の実験結果は動脈の結紮乃至切断は移植腫瘍の発育増殖に著明な抑制効果を与え静脈結紮の場合には増殖促進的に作用する事実が認められると云うことであり之等は何れも著者の観察から導かれた理論に依つて充分よく理解される現象である。

次に種々の腫瘍に就てそれらの組織内血管分布の態度に就て考究する。之等の問題も本邦学者の多くによつても既に開拓されている所である。腫瘍血管の態度は腫瘍の種類により又部位により種々様々の性格を示し、蛇行し、拡張し、不規則な分枝、吻合を営み又血管壁構造の点でも正常組織内に於ける血管とは著しく趣を異にしていることは Goldmann⁹⁾ の強調したところであり、又古くより病理学教科書の教えるところでもある。本邦の田中²³⁾は人体悪性腫瘍の血管構造に就いて検索し肉腫の血管壁は内皮細胞の他に多少の弾力線維、結合線維を有し弾力性及び収縮性を有していると考えられるが、其の分枝配列の状態は乱雑を極

め吻合交通することが甚だ不充分であると云い、それに反して癌腫血管は概して毛細管性構造を呈し、弾力線維及び結合織を欠き癌組織内に動静脈の構造を具えているものは癌組織内に取込まれた既存の血管に外ならないとしている。河西¹²⁾は手術的に摘出した子宮癌を使用し、造影剤を主幹血管に注入しレ線撮影により子宮癌血管分布像の観察を行つてゐるが彼の云うところによれば子宮癌組織型により夫々特徴的血管網を証明し得て、その血管網の形態より逆に組織診断が可能であると云つてゐる。即ち角化扁平上皮癌に於ては癌胞巢外壁に密接して血管叢を作り、胞巢の形に一致して嚢子状、或は籠状の密な網工を形成し、基底細胞癌では前者よりやや粗大な網工を形成し単純癌では前二者の如き網工も形成しないで極めて乱雑な分枝を示し間質を不規則に走り、腺癌では腺様構造を呈した胞巢を包囲し間質内で不規則な分枝吻合を営み粗大且つ不整な網工をなして上皮細胞列に密接して走行すると云う。之等の各腫瘍の発育形態の異なるに従つて異つた血管構造が認められることは著者の見解に依れば、扁平上皮癌、基底細胞癌の如きは血管の発育している周辺に向つて増殖が考えられ、之等は好適な酸素分圧を得られる方向に向つて固有組織の毛細管を圧迫乃至は密集させつつ又組織間隙の体液の流れに従つて固有毛細管を発展させつつ増殖し、その増殖が毛細管を強く圧迫して血流を著しく阻害する様なになれば増殖は停止し新しい好適な分野に向つたものがタコの足の様に増殖を続けて行く結果であると考えられる。之等の基本形態は全ての場合に同様であると考えられるが、細胞が互に接着性を失つた様な単純癌の様な場合には細胞は別々に組織内液流に従つて自由に発育を遂げると云う事かも知れない。Lewis¹⁴⁾も又鼠腫瘍を用い紡錘形肉腫、円形細胞肉腫、線維腺腫、腺癌腫、線維肉腫等の各種腫瘍の血管を墨汁注入標本で復構し立体的に観察し、血管分布は其等夫々の腫瘍に特異であつたと述べている。

Hueck¹⁰⁾は間葉性腫瘍に関する研究の中で肉腫の実質と間質の問題にふれ、これらの区別が甚だ困難なことを述べている。我々は日常血管性肉腫にあらざる種々の肉腫殊に単純肉腫、線維肉腫等を検鏡し実質内血管に注意すると血管成分殊に内皮細胞に相当する細胞が恰も腫瘍性増殖像を示し腫瘍実質細胞との区別困難な場合に少なからず遭遇する。この様な構造は中胚葉性組織の胎生期的な像であり、この様なものが肉腫内に存在する事は異とするに足りないが中胚葉性腫瘍である肉腫に於ても著者の概念は充分当嵌まるもので

り、この場合は只腫瘍細胞巢内へ血管の侵入を許可する点に於て異つた形態の発展を示すものと思われる。

V. 結 語

1. ラツテ DAB 肝癌をそのまま或は血管内墨汁注入後連続切片とし復構法により肝細胞癌実質と毛細血管との相互関係を形態学的に検索した。

2. 肝細胞癌組織内血管分布は正常肝実質のそれに比し貧弱で、その走行形態も又極めて不規則であり大動脈及び門脈より墨汁を注入しても癌組織を充分黒色化するに至らず、切片に於ても血管内への墨汁の侵入は充分でない。

3. 癌巣発展と血管との相関々係を追及し血管壁より最も遠ざかつて存在するものは $80\sim 200\mu$ の距離を示し、細胞層にして $12\sim 22$ 、平均15個の細胞が最遠隔細胞と血管壁との間に介在する。然し之以上隔ると細胞は壊死する。肝癌細胞の分裂像は血管周囲に最も頻繁に認められる。

酸素以外の栄養物乃至炭酸ガスを始めとする代謝産物等の体液内拡散は酸素のそれに比し遙かに優つてゐるので肝癌組織の壊死は酸素欠乏に依るものと考えられる。

4. 以上の形態学的観察と酸素分圧に関する理論的考察から癌細胞は極めて少量の酸素しか必要としないが、全く酸素のない状態では發育しないだろうと云う結論に達した。

5. 以上の観察から腹水肝癌に関する著者の実験結果又諸家の腫瘍組織内血管の形態学的研究の結果を批評し癌巣の發育形態と間質との関係に就て論じた。

稿を終るに当り、終始御懇切な御指導と御校閲を賜つた恩師妹尾左知丸教授に謝意を表すると共に、標本製作に当り絶大な御協力を賜つた本教室久山豊技官に厚く御礼申上げる。

本論文の要旨は昭和33年9月第2回岡山地方癌研究会癌交見会に於て報告した。

主 要 文 献

- 1) Breedis, C. & Young, G.: Blood supply of neoplasmas in Liver, Am. J. Path. 30: 969, 1954.
- 2) Cudkovicz, L., & Armstrong, J. B.: The blood supply of malignant pulmonary neoplasms, Thorax. 8: 153, 1953.
- 3) Elias, H. & Popper, H.: venous distribution in livers: comparison in man and experimental animals and application to morphogenesis of cirrhosis, A.M.A. Arch. Path. 59: 332, 1955.
- 4) 藤縄喜代蔵: 血管結紮の鼠肉腫移植に及ぼす影響について, 日病会誌, 10, 141, 428 (大正9年).
- 5) Green, D.E.: Structural principles of electron transport and oxidative phosphorylation. Seikagaku, 29: 65, 1957.
- 6) Green, D.E.: Mitochondrial Electron Transport System, 細胞化学シンポジウム, 第8集, 145, 1958.
- 7) 堀内正重: 血管結紮が家鶏肉腫の移植及び増殖に及ぼす影響に就いて, 日病会誌, 15, 709 (大正14)
- 8) 同人: 血管及神経の切断が腫瘍組織並に再生組織の増殖に及ぼす影響, 日病会誌, 16, 744 (大正15)
- 9) Goldmann, E. E.: Die Beziehung des Gefäßsystems zu dem Malignen Neubildungen, Z. Krebsforsch, 5: 39, 1907.
- 10) Hueck, W.: Ueber das Mesenchym, III Teil, Mesenchymale Tumoren, Beitr. path. Anat., 103: 308, 1939.
- 11) 額綱綱兵: 血管結紮の腫瘍發育に及ぼす影響に就いて, 日病会誌, 15, 707, (大正14)
- 12) 河西源吉: 子宮腫瘍の血管に就いて, 近畿婦人科学会雑誌, 17, 1250, 1582, 1909 (昭和9)
- 13) 河内専二: 移植性舌腫瘍發育の部位的關係並に舌動脈切断が移植腫瘍發育に及ぼす影響に就いて, 京都府立医科大学雑誌, 6, 31 (昭和7)
- 14) Lewis, W. H.: The vascular patterns of tumors, Bull. Johns Hopkins Hosp., 41: No.3, 151, 1927.
- 15) Markowitz, J., & Rappaport, A. M.: The hepatic artery, Physiol. Rev., 31: 188, 1951.
- 16) 森田健規知, 山内礼一他: 肝血管系の形態学的研究III, 肝癌の血管分布, 日病会誌, 45, No.3, 321, (昭31)
- 17) Oda, T., Sakai, A., & Okazaki, H.: Cytocchemical demonstration of the sites of activity of the terminal electron transport system with the electron microscope. Acta Med. Okayama, 12: 205, 1958.
- 18) 小田琢三: 終末電子伝達酵素に関する細胞化学的並に生化学的研究. II. ミトコンドリアに於けるコハク酸脱水素酵素系並にチトクローム酸化酵素

- の細胞化学的電子顕微鏡的研究, 細胞化学シンポジウム第8集, 173, 1958.
- 19) 大島福造: 可移植性雞腫瘍に関する実験, 日病会誌, 10, 158 (大正9)
- 20) Popper, H. & Elias, H.: Histogenesis of hepatic cirrhosis studied by the three-dimensional approach, *Am. J. Path.*, 31: 405, 1955.
- 21) 篠原修: 復構法による癌塊内血管の観察, 癌, 46, 316, 1955.
- 22) Storey, R. H., Wish, L., & Furth, J.: Organ erythrocyte and plasma volumes of tumor-bearing mice. The Oligemia of neoplasms. *Cancer Research.*, 11: 943, 1951.
- 23) 田中祐吉: 悪性腫瘍の血管に就て, 癌, 1: 16, (明治40)
- 24) Warburg, O.: On the Origin of cancer cells. *Science.*, 123: 309, 1956.
- 25) Wood, D. A., & Miller, M.: The rôle of the dual pulmonary circulation in various pathologic conditions of the lungs. *J. Thoracic Surg.*, 7: 649, 1937~38.
- 26) Wright, R. D.: The blood supply of newly developed epithelial tissue in the liver, *J. Path. & Bact.*, 45: 405, 1937.
- 27) Wright, R. D.: The blood supply of abnormal tissue in the Lungs. *J. Path. & Bact.*, 47: 489, 1938.
- 28) 吉田富三: 肉腫の間質について, 病理学雑誌, 3: 122, 1949.
- 29) 小林淳一他: 岡山地方癌研究会々報, 第二集未刊.
- 30) 原田三樹男・水田太郎・丸谷八郎: 白鼠に *Buttergelb* を投与して肝臓癌の実験的発生, 阪医会誌 36: 783, 1937.

附 図 説 明

図1及び2, 充実性肝癌実質には屢々図の如き洞状血管腔が出現す。停血がみられる。腔の大きさからすれば正常組織の小動静脈に匹敵するが血管壁の構造は毛細血管に外ならない。動物番号44, H E 染色, X107.

図3及び4, 小葉性肝細胞癌実質の血管で喀銀線維の形成が立派に窺い得る。動物番号36, *Tibor-Pap* 鍍銀法, X295.

図5及び6, 充実性肝細胞癌実質に不規則な断面をみせて大小の血管がみられるが, 図6の様に腔に明かに赤血球を容れ乍ら内皮細胞列, 喀銀線維の出現定型的でなく, ばらばらと内皮下に喀銀線維の形成がみられる。図6は図5括弧内の鍍銀像。動物番号44, 図5はH E 染色, X107. 図6は *Bielschowsky* 鍍銀法.

図7及び8, 図6のものと略々同様所見を示す肝癌内血管, 動物番号44, *Tibor-Pap* 鍍銀法, X295.

図9, 墨汁注入肝癌の剖面。概して肝癌は墨汁侵入は非癌部に比して軽度で黒変しきらない。約 $\frac{1}{4}$ 大.

図10, 小葉性肝細胞癌実質の毛細管に墨汁が充填されている。複雑な血管走行及び分布を示している。動物番号72, H E 染色, X295.

図11, 図10の部分の復構したもの。Cpv は毛細血管.

図12及び13, 墨汁注入例。胞巣性乃至彌蔓性肝細胞癌実質の血管は分布は疎となり大多数の癌細胞群が血管壁より隔つて増殖生存する像が明らかである。動物番号58, H E 染色, X295.

図14, 13図の部の復構による模型。Cpv は実質内毛細血管.

図15, 小葉性肝細胞癌が充実性に発育すると胞巣の中央部に壊死を生じ, その壊死巣縁は規則正しく, 一線をなして血管壁と平行して走る。胞巣間は血管。動物番号72, H E 染色, X130.

図16, 比較的腔の広い肝癌実質内血管がみられるが写真上方にみられる壊死巣縁は血管壁と同心円上にある。動物番号44, H E 染色, X107.

図17, 腹水肝癌 A H7974系214代の腸間膜浸潤巣で, 漿膜下の緊疎組織に細胞集塊を作り乍ら増殖している。H E 染色, X295.

図18, 図17の部分の復構した模型。Cpv は毛細血管, Ps は腹腔漿膜面, X140.

図19, 腹水肝癌 A H7974系215代の腸間膜浸潤巣写真の左上に小静脈壁がみられる。H E 染色, X295.

図20, 図19の部分の復構法によつた模型。Cpv は毛細血管, X140.

図21, 肝癌胞巣周囲に形成された血管叢。墨汁注入例。写真の左下の実質は硬変肝小葉。動物番号36, H E 染色, X107.

図22, 図21と同じく肝癌胞巣周囲の血管叢形成。右上の実質は肝癌。動物番号37, H E 染色, X107.

Morphological Studies on the Growth Mechanism of DAB-Hepatoma

Seiji AKAGI

Department of Pathology, Okayama University Medical School

(Director : Prof. S. SENO)

With the purpose to elucidate the growth mechanism of cancer cells the structural arrangement of cancer cells and the newly developed vessels in cancer tissues have been studied morphologically on the reconstruction models obtained from the serial sections of the hepatoma induced experimentally in albino rats by feeding DAB, either in the original form or after irrigating it with India ink.

The distribution of blood vessels in the hepatoma tissue is found to be poor and yet extremely irregular in pattern. India ink introduced through the artery or portal vein proved to be hard to reach the vessels of tumor tissues. This can be recognized both macroscopically and histologically as well.

In pursuit of the mutual relationship between the development of cancer lobules and the blood vessels it has been revealed that in furthest the cancer cells are proliferating at the distance of 80 to 200 μ away from the nearest vessel wall and as for the cell layer there are about 12 to 22 cancer cells, 15 cells on average, existing in between the furthest cell group and the vessel wall. However, in the area futher away from this distance the necrosis of the cells are found suggesting the cancer cells can not live there.

The necrosis of the cell will be caused by the oxygen deficiency as it is supposed that any other anabolic or catabolic material is easier to be transferred by their higher diffusion constants than that of oxygen.

From these morphologic observations and in view of theoretical consideraion on the oxygen tension in the cancer tissues it is deduced that the cancer cells require only an extremely small amount of oxygen but cannot live in complete absence of oxygen.

Mitosis is seen frequently in the region surrounding the vessels and become rare in the parts apart from the vessels.

On the basis of these observations the author discussed about the developing modes of cancer cells in the relation with the vessels, comparing his own experimental results with those presented by other investigators on the morphologic structure of blood vessels in various tumor tissues.

赤木論文附图

図 1

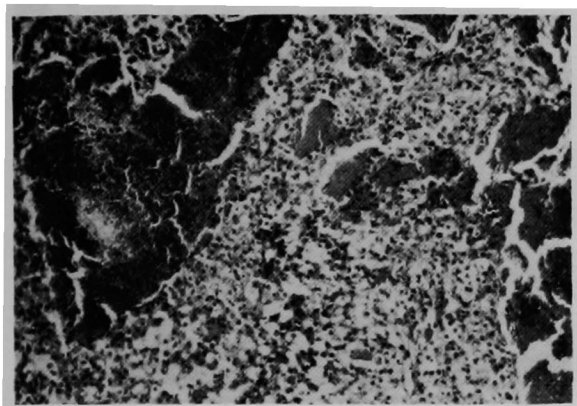


図 5

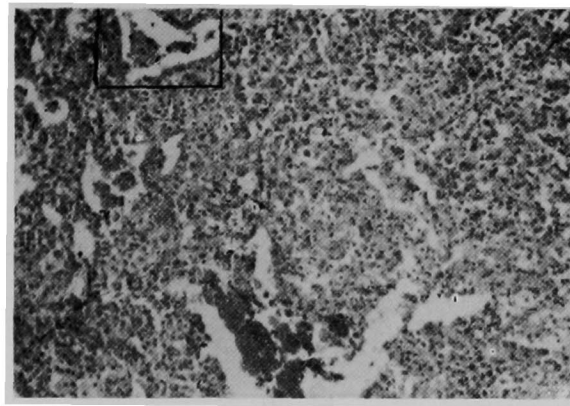


図 2

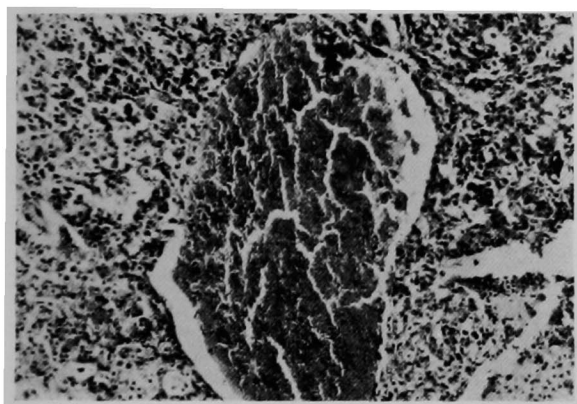


図 6

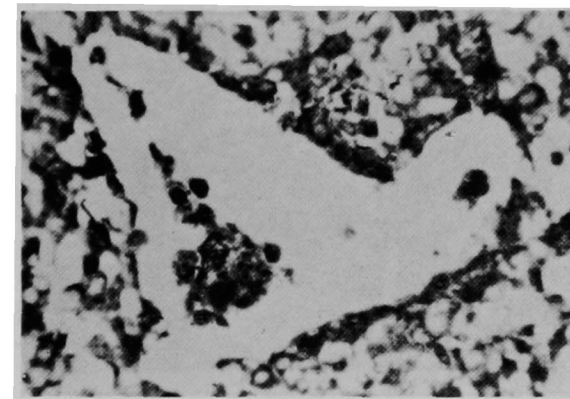


図 3

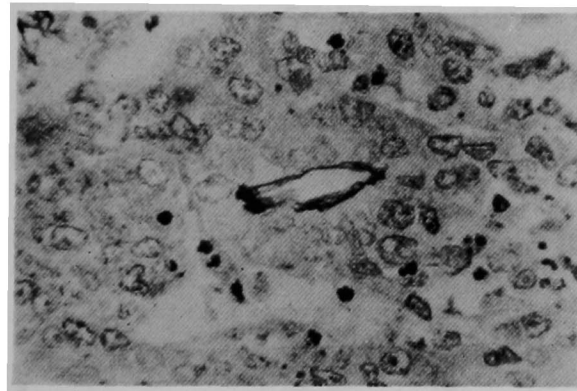


図 7

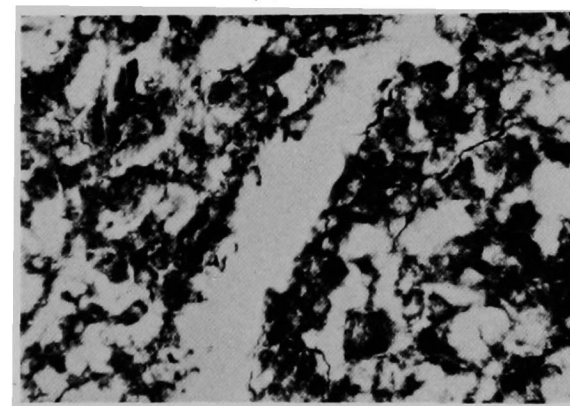


図 4

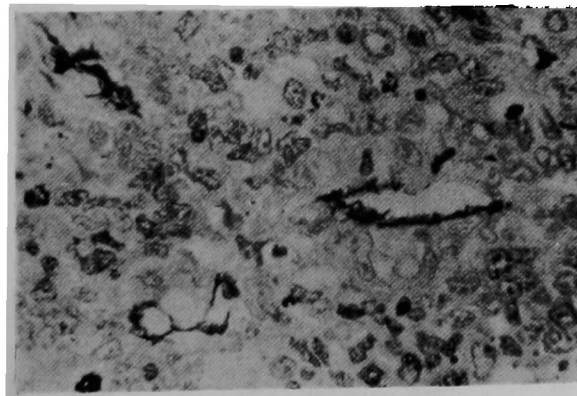


図 8

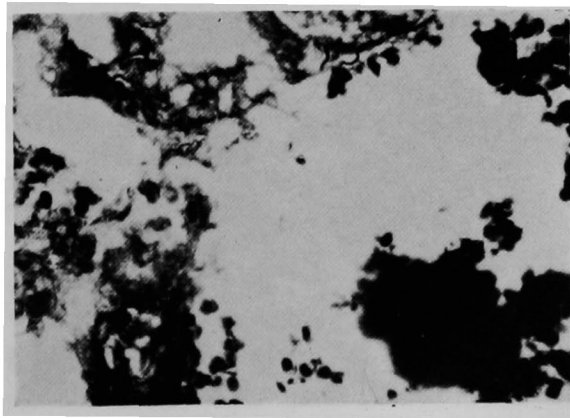


図 9

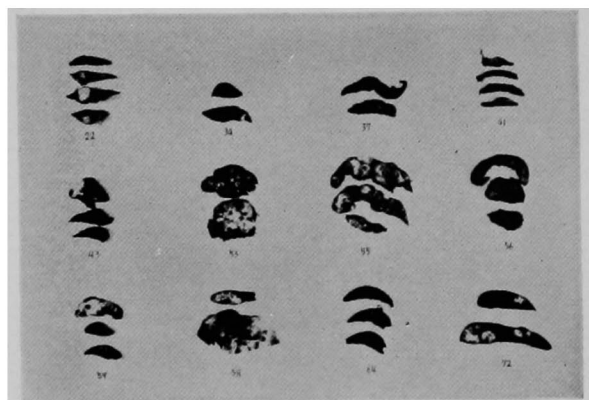


図 10

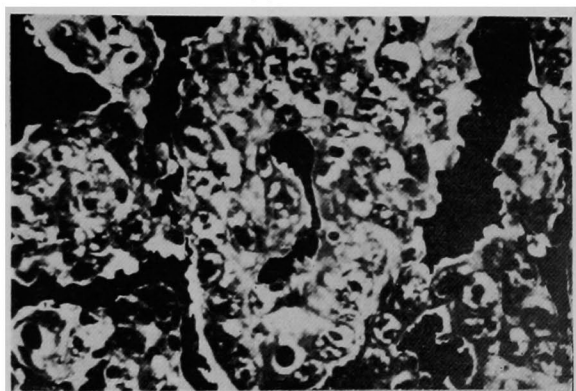


図 11

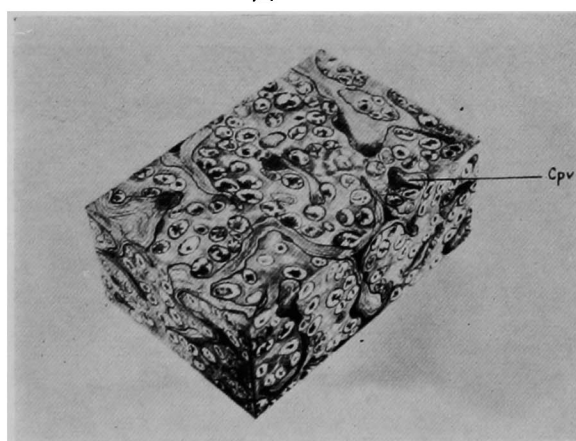


図 12

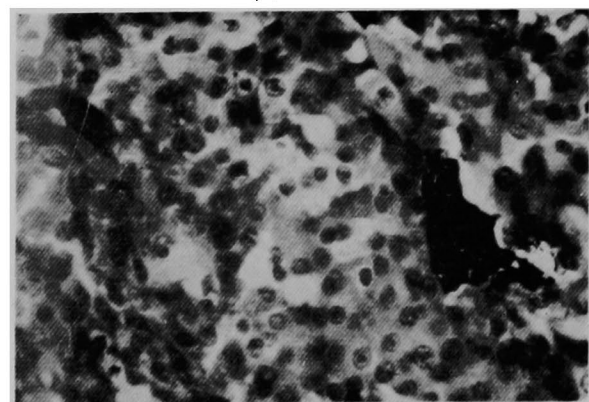


図 13

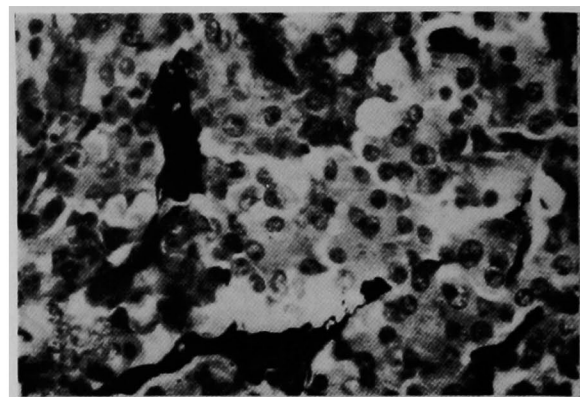


図 14

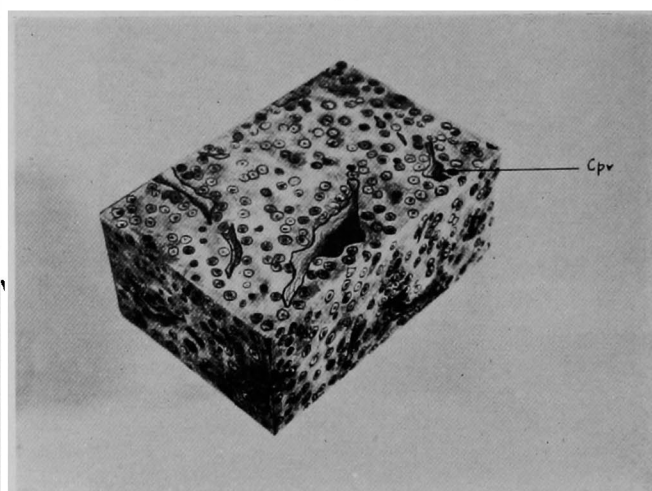
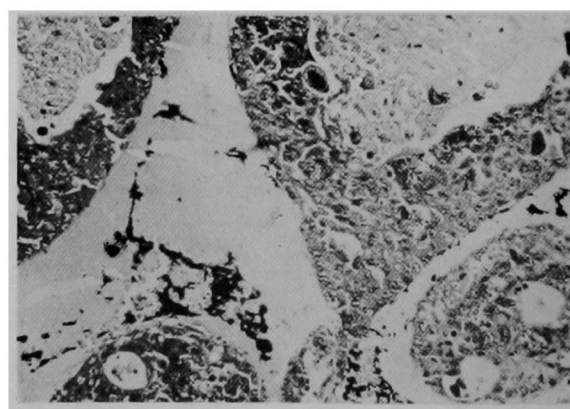


図 15



赤木論文附図

図 16

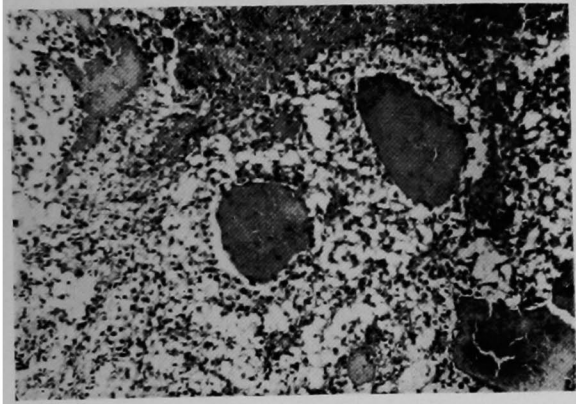


図 17

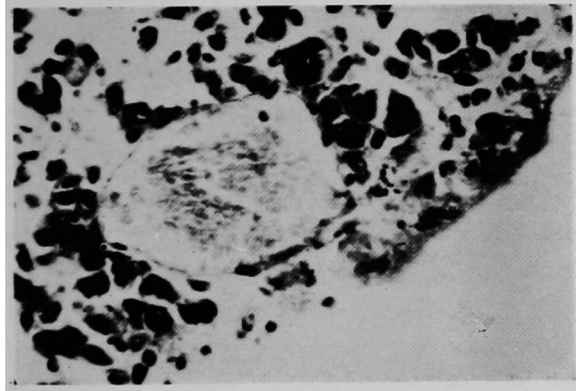


図 18

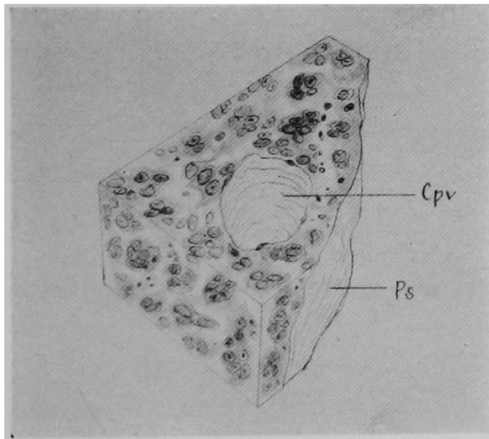


図 19

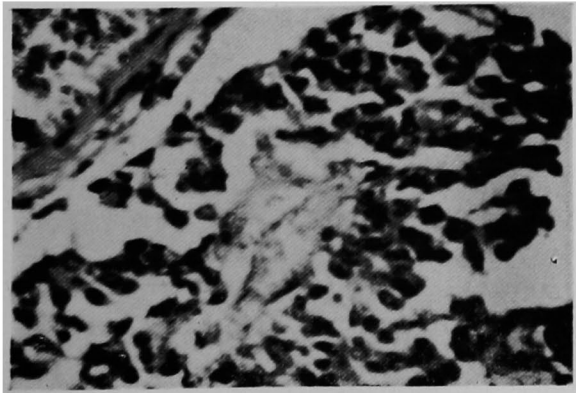


図 20

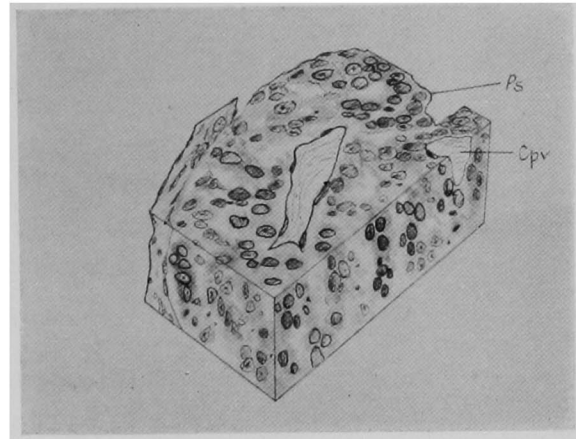


図 21

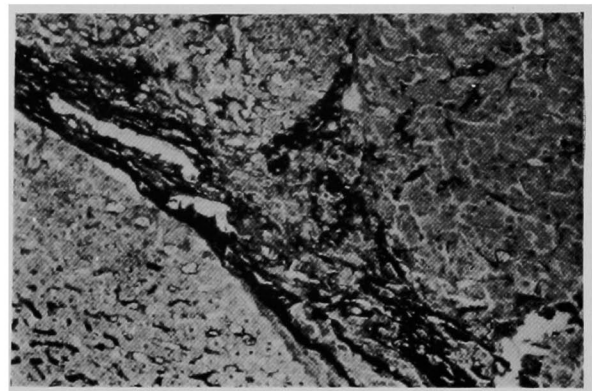


図 22

