

— 原 著 —

# 胃癌の術前照射

## — とくに電子顕微鏡的研究を中心として —

東京医科大学外科学教室 (主任 牧野惟義教授)

名 和 肇

### PREOPERATIVE IRRADIATION OF GASTRIC CANCER WITH PARTICULAR REFERENCE TO ELECTRON MICROSCOPIC STUDY

Hajime NAWA

Department of Surgery, Tokyo Medical College, Tokyo, Japan

(Director: Prof. Koreyoshi MAKINO)

胃癌患者に放射線療法を行い、胃癌細胞の超微構造上の変化を観察し、照射方法や、線量と癌細胞との微細変化を検討し、より有効的な照射方法を確立することを目的として検討を加えた結果、1) 単独照射群における電子顕微鏡的な障害像は、3,000rad 以上の照射例で著明であった。2) 5Fu 併用群では、同一線量の単独照射群に比較し、核内構造および糸粒体の変化が著明であった。3) これらの結果より、根治照射を目的としない胃癌術前照射における至適線量は、3,000~4,000rad と考えられ、その際5Fu の併用は細胞障害を著しく増強するため、5Fu 併用例の総線量は、2,000~3,000rad で充分であると考えられた。

### I 緒 言

進行胃癌に対する外科的な治療成績は、治癒切除例についてみても5年生存率はわずか30%内外の成績にとどまっているのが現状である。現時点でこれ以上の治療成績の向上を望むとすれば、手術療法とともに放射線療法および化学療法などの併用療法を用いることが最も望ましい治療法と考えられよう。

本邦において胃癌の術前照射が初めて行われたのは1956年、藤野<sup>1)</sup>らによるものであった。その後各施設で利用されたが、副作用、照射装置等の問題で見ると効果が上らず、術前照射法は低迷を続けていた。しかし、近年、超高圧X線および電子線の発達により、胃癌の術前照射による治療が再認識されるようになってきた。

教室においては、1967年以来、進行胃癌に対して Telecobalt <sup>60</sup>γ 線 (以下 <sup>60</sup>Co)、Betatron 電子線 (以下 Betatron)、超高圧X線である Linear accelerator (以下 Linac) 等による術前照射を試み<sup>2)3)</sup>、臨床的に問題となるような副作用もなく、レ線学的に腫瘍陰影の縮小が認められ、また内視鏡学的にも腫瘍の縮小、出血抑制が

見られ、約80%に劇的な改善を認めており<sup>4)5)6)</sup>、さらに病理組織学的にも腫瘍組織の縮小とともに、腫瘍細胞の細胞質内空胞形成、核濃縮などの退行性変化および、間質結合組織の増生などが観察されている<sup>7)8)</sup>。以上のように術前照射によって癌組織の破壊縮小、増殖の抑制があり、その結果進行胃癌の治癒切除率の向上、ひいては遠隔成績の向上に多大の期待がもたれるようになってきた。

著者はこのような放射線照射により、治療過程にある癌細胞の超微構造上の変化を観察して、照射方法や線量と、癌細胞の微細変化との相関性を検討することによって、より有効的な照射方法を確立することを意図として、多数の照射胃癌症例の中から、観察に適する症例を選び、電子顕微鏡 (以下電顕) 的に照射胃癌細胞の微細構造を検討した。

本研究においては、胃癌症例を非照射群、術前単独照射群 (以下単独照射群) および照射と化学療法の併用群 (以下化学療法併用照射群) におけ、個々の症例の光学顕微鏡 (以下光顕) 像を参照しつつ、構成癌細胞の微細構造を観察した。

## II 研究材料および方法

### 1. 研究材料

本研究に使用した材料は、昭和45年9月より昭和47年12月までに東京医科大学病院牧野外科に入院し、手術を受けた胃癌患者 224例の内82例から採取されたものであり、その内訳は非照射群14例、術前照射群68例の計82例である。

#### 1-1. 組織型分類

研究材料を組織型に分類してみると、非照射群では管状腺癌11例、乳頭腺癌1例、低分化腺癌2例となり、他の組織型は認められなかった。一方照射群においては管状腺癌59例、乳頭腺癌3例、低分化腺癌6例で、圧倒的に管状腺癌が多く認められた(表1)。

#### 1-2. 照射群

照射群をさらに線源別に見ると、Betatron 照射例は48例、<sup>60</sup>Co 照射例は12例、Linac 照射例は8例であり、線量は表2の如くである。

表1 症例数

組織型	群		
	非照射群	照射群	
Adenocarcinoma	Tub.	11例	59例
	pap.	1	3
poorly diff. adenocar.	2	6	
計	14	68	

表2 照射群の線源別分類

総線量	線源	Betatron	<sup>60</sup> CO	Linac	計
1,000rad			1例		1例
2,000 "		3例			3 "
3,000 "		2 "			2 "
4,000 "		27 "	4 "	1例	32 "
5,000 "		4 "	6 "	6 "	16 "
6,000 "		12 "	1 "	1 "	14 "
計		48 "	12 "	8 "	68 "

照射群における照射効果は、電頭的に組織型や線源の種類により多様化を示したが、本論文では主として管状腺癌で Betatron を用いた39例について所見をまとめ、他の組織型および他の線源を用いた症例の所見は、参考とするに留めた。なお Betatron 照射方法は、26MeV 電子線を用い、1回線量200~400rad、総線量は2,000から

表3 電頭対象症例(照射群)

線量	治療法	単独照射	5Fu併用照射	計
2,000rad		1例	2例	3例
3,000 "		1 "	1 "	2 "
4,000 "		7 "	14 "	21 "
5,000 "		1 "	2 "	3 "
6,000 "		8 "	2 "	10 "
計		18 "	21 "	39 "

6,000rad におよんでいる。

これら対照とした39例をさらに線量別に分類すると、2,000rad 照射例3例、3,000rad 照射例2例、4,000rad 照射例21例、5,000rad 照射例3例、6,000rad 照射例10例である(表3)。

### 2. 研究方法

観察に供した材料のうち、照射前および照射中のものは胃生検により採取した。また照射終了後の試料は、手術的に摘出した胃癌組織諸部位から採取したものであり、採取後、電頭用試料と光頭用試料とに2分した。

生検および切除胃より採取された胃癌組織は直ちに氷箱上の固定用 glutaraldehyde 液中で脱脂片刃カミソリにより、おのおの約1.0mm<sup>3</sup>に細切した。細切片はつぎに0.1M, pH 7.2, 2.5% glutaraldehyde にて4℃に保たれた固定液中に移し約2時間の前固定を行い、その後0.34M蔗糖を加えた cacodylate buffer で2時間洗滌した後に、pH 7.3, 1.0% osmic acid で4℃に保たれた液中に移し、2時間の後固定を行った。ついで漸高エタノール系脱水後、プロピレンオキサイドによる置換を経て、Epon 812にて包埋を行った。

Sorvall 社の Porter-Blum MT 2型の超マイクロトームで、厚さ約70~100μmの超薄切片を作製し、乾燥後 uranyl acetate および lead citrate 二重染色を行い、日立 HU-11-DS 型電頭を用いて、1,400から32,000倍迄の観察および撮影を行った。

電頭試料に隣接する光頭用組織片の観察には主として Hematoxylin and eosin 染色標本を用いたが、必要に応じて PAS, alcian blue, Mallory-azan, Van Gieson などの染色も行った。

## III 成績

### 1. 非照射群

胃の管状腺癌病巣部より採取された組織は症例により

差異があるが、観察症例を通じて比較的良好に認められた光顕所見は、つぎの通りである。

癌組織は癌実質部と間質部とから成り、実質部は管状の腺腔構造を示しているが、しかしこれら腺腔構造は、正常例に比較して極めて不規則かつ不完全である。癌細胞には種々の程度の異型性が認められたが、細胞質は一般に弱酸性に染まり、核は不整形で大きく、核基質は好塩基性に認められ、核の配列はほとんどの細胞では基底部に位置していたが不揃いである。核小体は大型で円形を呈し、通常1〜3個みられ、好酸性に染まっていた。

間質の量的割合は症例によつて異なるが、いずれの例も実質部が大部分を占め、間質成分は比較的乏しいといえる。

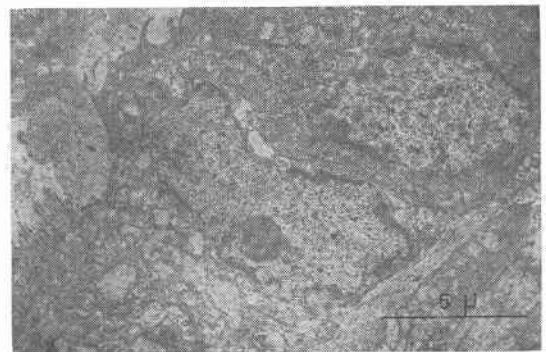
管状腺癌の電顕的所見では、非照射群の胃癌細胞の配列は比較的規則的であり、単層配列を示し、たがいに密に接している。癌細胞は高円柱状を呈し、細胞は肥大するものが多い。癌細胞の隣接細胞との結合は、腺腔側に近い所では junctional complex による接合が見られ、desmosome も多く認められた。また、腺腔面には Terminal bar を形成している細胞も観察された。一方中間位から細胞基底側の接合は嵌合によるものであった。癌細胞の腺腔面、すなわち自由表面には、多くの短い不規則な配列を示す微絨毛が見られ、基底側の細胞膜は不規則にゆるやかな凹凸を示している。これに対して一定の間隙を隔てて、基底膜が癌巣周囲の大部分を取り囲んでいることが多いが、一部では癌細胞質突起が、基底膜欠損部から間質に進展している所見も認められた。

細胞質内小器官は細胞によつて差異があるが、比較的共通の所見を述べると、糸粒体において、その数は正常の胃粘膜細胞と比べて少なく、形はやや不整形を示し、基質は高電子密度ではあるが、核クロマチン凝集域に比べて淡明である。クリスタの数は多く、配列も平行で規則的ではあるが、長さの不揃いなものが多い。糸粒体が目立つのに反し、粗面小胞体の発達は悪く、内腔の拡張は見られずまた、数的にも少なかった。滑面小胞体は粗面小胞体よりさらに少ない。一方遊離リボゾームは多く、これらの多くはポリゾームの形態をとっていた。ゴルジ装置は一般に発達が良く、核上部に位置し、ゴルジ層板も多く、かなり大型を呈していた。細胞によつては細胞質内に空胞を持つたものがあるが、電顕的には単なる空胞と、内腔に分泌物様物質を含んだ空胞とが区別され、後者は少なかった。その他細胞質内小器官では、フィラメントが少量認められ、また、ライソゾーム

様構造はほとんど観察されなかった。

核は細胞質に比べてかなり大型となり、その形は陥入の強い不整形長円形を示していた。核基質は明るく、また核膜下クロマチンは核膜孔を除く部分に、不規則な厚さで帯状に分布しており、核内クロマチン凝集塊および peri chromatin 顆粒などは増加する傾向が認められた。核小体も一般に大型で不整形円形を呈し、主に核膜に近い部分に偏在する傾向が認められている。核小体糸の発達は著明であり、fibrillar component が主体となり、granular component は少なかった(図1)。

図1 非照射群の電顕写真



2. 術前照射群

管状腺癌の術前照射群はさきにも述べたごとく、単独照射群と化学療法併用群に分けられるが、おのおのの群の所見について線量別に述べる。

2-1. 単独照射群(表4, 5)

2,000rad 照射例

光顕的所見: 癌巣周囲間質部には炎症性の細胞が多数認められるが、線維の増加は認められない。残存癌巣はやや縮小し、一塊となって、細胞境界および腺腔構造

表4 単独照射群の光顕所見

線量		照射線量				
		2,000rad	3,000rad	4,000rad	5,000rad	6,000rad
癌組織	間質量	間質=実質	間質=実質	間質>実質	間質>実質	間質>実質
	線維化	(-)	(+)	(*)	(*)	(*)
	炎症細胞	(*)	(*)	(+)	(+)	(+)
癌細胞	細胞質	縮小	膨化	比較的大型	扁平化>膨化	縮小
	空胞	(+)	(+)-(*)	(+)	扁平細胞...(-) 膨化細胞...(*)	(*)
	核	大型	大小不同	大型濃縮	扁平細胞...大型 膨化細胞...小型	大型>小型
死滅細胞	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	

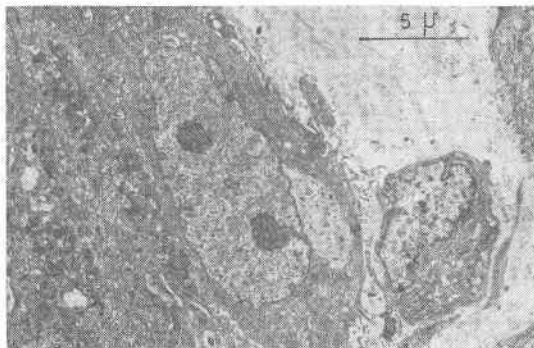
表5 単独照射群の電顕所見

小器官	種類	2,000rad		3,000rad		4,000rad		5,000rad		6,000rad	
		多	少	多	少	多	少	多	少	多	少
核	大きさ	大型	小型	小型	小型	大型	大型	大型	大型	大型	小型
	形	長円形	円形	円形	長円形	円形	円形	不明	不明	不明	不明
核小体	クリスタ	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
	基質	略	略	略	略	略	略	略	略	略	略
粗面小胞体	発達	発達	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少
	内腔拡張	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
遊離リボゾーム	多	多	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少
	空胞	大型(+)	大型(+)	大型(+)	大型(+)	大型(+)	大型(+)	大型(+)	大型(+)	大型(+)	大型(+)
核小体	大きさ	大型	大型	小型	大型	大型	大型	大型	大型	大型	小型
	核小体	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明
核	核膜下クロマチン	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少	減少	不明
	核内クロマチン	減少	減少	多い	多い	多い	多い	多い	多い	多い	多い
基質	略	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明	不明

も不明瞭である。実質部は周囲の間質組織より遊離し、癌細胞も縮小する傾向があり、細胞質の好酸性が増加し、空胞化がやや目立つ。核は大型で長円形となって、細胞の中心部に位置するようになり、核小体は不鮮明である。

電顕的所見：粗面小胞体には著しい変化は認められず、糸粒体基質の電子密度の増加、細胞質内の少数の大型空胞の出現、核膜下および中間域クロマチン凝集像の減少が認められるが、細胞障害は比較的軽度といえるものであった(図2)。

図2 2,000 rad 単独照射電顕写真



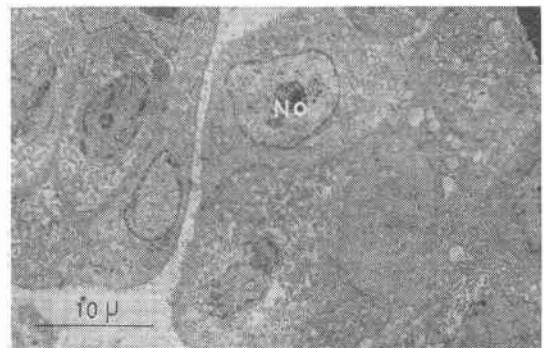
3,000rad 照射例

光顕的所見：癌実質部は腺腔構造が著しく乱れ、多くは遊離性の細胞が一塊となり、重層配列を示す傾向にあり、同時に周囲間質組織より遊離する様にして認められる所が多くなっていった。癌細胞は不整形で大小種々であるが、比較的膨化した細胞が多く認められ、細胞質も明るいものが多かった。細胞質は好酸性に染まり、また細胞質内に空胞を形成している細胞が目立つようになる。

核は大小不同で位置も一定せず、濃染傾向のものや、膨化するものが認められ、間質は実質部に比べ量的に増加傾向を示しているが、線維化は軽度であった。

電顕的所見：細胞質および核の障害像がかなり目立っていた。すなわち、腺腔側微絨毛の形成不良な細胞が多く、細胞質内には内腔の弛緩性拡張と相互連絡の盛んな粗面小胞体が認められ、糸粒体は数的に減少をきたし、基質は淡明となる所が多く、遊離および附着リボゾームの減少が著しく、このため細胞質は低電子密度の状態を示す結果となった。核内ではクロマチン凝集像は減少し、核基質は全体に電子密度が低下していた。しかし細胞によっては核全体が、微細構造の鮮明さを欠いて、濃縮状に電子密度が増加している核もみられた。いずれの場合でも、核小体糸の網状構造は不明瞭となっていることが多かった(図3)。

図3 3,000 rad 単独照射電顕写真

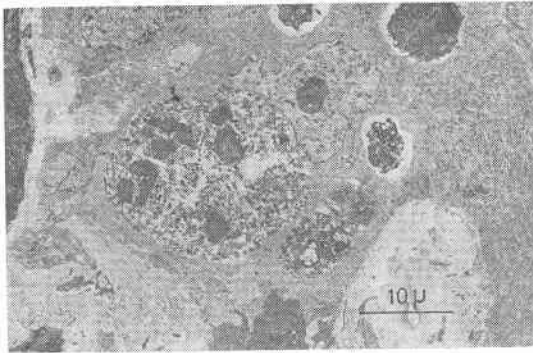


4,000rad 照射例

光顕的所見：各癌胞巣は3~6個程度の癌細胞の集まりより形成される所が多く、これらは散在性に分布し、癌実質部の周囲間質組織よりの遊離傾向は軽度である。癌間質の線維化が増加し、実質部に比べ、大きな面積を占めており、癌細胞は比較的大型で不整形を呈し不規則な配列を示す。細胞質内空胞化はほとんど認められず、また、核は一般にヘマトキシリンに濃染して大型のものが多くみられた。

電顕的所見：癌細胞集団の中に障害像が強く、細胞全体が濃縮するものや、不鮮明な細胞陰影、あるいは細胞脱落像が認められる所があり、一方残存細胞には一般に高電子密度の糸粒体の増加が観察された。これらの細胞では、粗面小胞体の変化は目立たず、附着および遊離リボゾームは比較的軽度の減少を示していた。核小体糸の網状構造は不鮮明であった(図4)。

図4 4,000 rad 単独照射電顕写真



## 5,000rad 照射例

光顕的所見：各癌胞巣の縮小が著明で、散在性に分布しているが、周囲の間質組織より遊離する傾向は認められない。間質部の線維増加が顕著でかつ緻密となり、異型性の腺腔を形成している個々の細胞は、細胞質が好酸性に濃染し、扁平化するものが多く、一部の癌細胞に著明な空胞化が認められた。扁平状に濃染する細胞の核は、境界不鮮明に大型化し、空胞変性の強い細胞の核は、小型円形となり、軽度の濃縮化を起している。

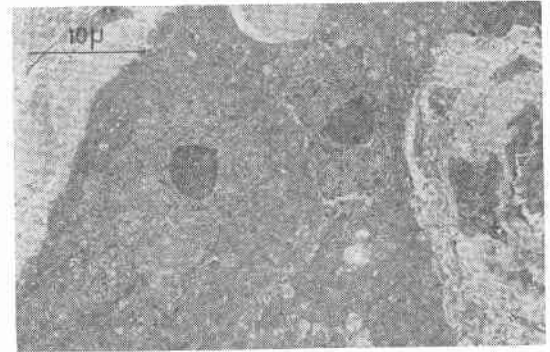
電顕的所見：細胞相互の接合が所々で疎となり、junctional complex の存在も明らかでない所が多くなっていった。小器官としては糸粒体が非常に多く認められたが、これらは腫大して基質電子密度が不規則に低下し、またクリスタは管状でなく、空胞状に変化している所が多かった。粗面小胞体やリボゾームの変化は、4,000 rad 照射時の所見とほぼ同様であった。このほか細胞質内には、小空胞状構造物が増加する傾向にあり、これは一部糸粒体由来と思われる所もあった。核においては、クロマチン凝集像の減退は一層強くなり、核基質にも不規則な濃淡域がみられるようになった細胞が多く、核小体は全体的に電子密度が増加しており、その辺縁域には granular component が増加しているのが識別された(図5)。

## 6,000rad 照射例

光顕的所見：散在性の癌実質は、小腺管状を呈し、豊富な線維性間質組織に囲まれている。癌細胞の細胞境界は不明瞭で、細胞質基質は軽度に好酸性となり、一部の細胞では空胞形成が認められた。核はほとんどの細胞において基底部に位置し、やや大型のものが多く、円形ないしは長円形で、ヘマトキシリンに濃染性であった。

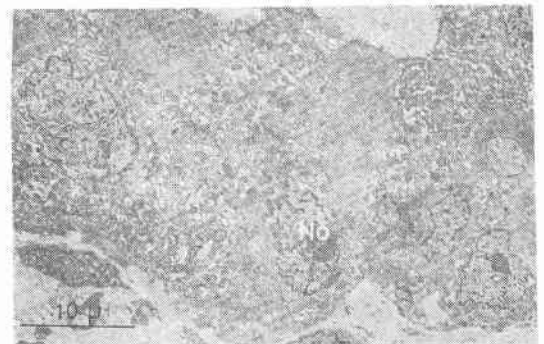
電顕的所見：癌胞巣によっては細胞質内に糸粒体の増

図5 5,000 rad 単独照射電顕写真



加がみられ、これらの糸粒体内部の変化は、主として細胞によって異なっていた。糸粒体は腫大して基質が明るくなっている細胞と、糸粒体基質は暗調でクリスタ構造も不鮮明となった糸粒体の多い細胞とがあり、前者の細胞では粗面小胞体の異常な内腔拡張と運河状連絡が認められるが、後者では粗面小胞体は多いが、内腔拡張はなかった。しかし両細胞とも附着リボゾームの増加はなかった。核は一般に縮小し、核基質は淡明であったが、暗細胞においては、核の内部構造がかなりよく保持されているものも認められた(図6)。

図6 6,000 rad 単独照射電顕写真



No: 核小体

## 2-2. 化学療法併用照射群(表6, 7)

## 2,000rad 照射群

光顕的所見：癌胞巣が広範囲に散在性に分布しているが、腺管状構造はかなり不完全となり、遊離傾向の細胞を多く認め、間質部と実質部とは量的に相半ばし、非照射例よりは間質の占める割合が多く、この間質部は比較的疎であり、線維の増加は顕著ではない。癌細胞は不整形で大型円形を呈するものや、小型扁平化するものな

研究を行った。

光顕レベルでの腫瘍実質部の変化は、腫瘍全域の組織標本を観察してみる時、いずれの部分でも一様の所見とはいえず、部位による差異が著しい。これは同一腫瘍であっても、種々の要因による腫瘍組織内各部の放射線感受性が異なることによると考えられており、ことに腫瘍組織内の酸素分圧や分裂周期による細胞の感受性の差異が重視されている<sup>11)12)</sup>。

照射を受けた癌組織の変化はこのように部位による差異があるが、それでも非照射群の癌組織と対比してみると、照射例の癌細胞には質的、量的な違いのあることが認められている。すなわち胞体、核、核小体の腫大、核および細胞質内の空胞形成、細胞質の淡染性混濁化ないし水腫様膨化、核質の核膜部凝集、大型の単核あるいは多核巨細胞の出現、細胞質あるいは不整形核の濃染傾向、および細胞融解像などがあげられている<sup>13)14)15)</sup>。これら所見の多くは放射線照射時のみでなく、腫瘍組織の循環障害やその他の原因による癌細胞の退行過程においても認められるものであるが、いくつかの所見が複合し、かつ増強して認められ、しかも多くは各癌胞巢の辺縁域において顕著である点が、放射線照射による修飾像として特徴的である<sup>16)17)18)</sup>。

かかる細胞障害像の程度と範囲は、線量および癌組織の感受性の程度によって異なっている。

電顕的観察の対象となる組織片は、極めて微小の材料であるために、照射による変化が一様に進んでいない癌組織について、電顕的観察を行う場合には、当然資料採取部位による所見の変動が著しくなる。胃癌に対する術前照射の効果を電顕的に検討するに際して、著者が最も苦慮したのはこの点であった。この弱点を補うために、手術別出材料については腫瘍内の多数の諸部位から組織片を採取し、これを電顕用と光顕用の資料に二分した上、各部位における組織像の変化を詳細に検討するようにつとめた。一方別出胃癌全体については教室では、腫瘍全域の光顕標本を作成して、照射効果を検索することをルチーンとしており、この方法によって得られた各部位の光顕像とを対比することによって、それぞれの電顕用試料採取部が、いかなる光顕的变化を背景にしているかを知るようにした。このようにして多数の電顕用試料のうち、その症例の放射線照射効果を比較的良好に反映していると思われる部位から採取した材料について、とくに重点的に電顕的観察を行った。

しかし、こうして選定された部分の電顕像は、同一線

量を照射した症例であっても、相互に同様であるとは限らず、また、詳細に比較観察していくと、同一薄切切片内の隣接癌胞巢内、あるいはさらに単一癌胞巢を構成している癌細胞相互においても、所見には差異が認められ、障害像の比較的弱いと思われる細胞から、退行性変化の顕著なものまでの種々の段階の細胞が混在しているのが実情であった。したがって、それらの細胞のうちどの細胞の所見をとりあげるかによって、微細構造的障害像は異なることになるわけであるが、著者は超薄切片内の癌胞巢を構成している細胞のうち、大多数の細胞が示している変化を、それぞれの症例における細胞の障害像としてとりあげ、これを各線量別に癌細胞微細構造の変化として記載した。

癌細胞の微細構造は非照射群、単独照射群、および化学療法併用照射群で、それぞれ異なる所見を示し、照射例においてはさらに照射線量によって変化していた。以下これらの所見について考察を加えてみたい。

## 2. 非照射胃癌細胞の微細構造

胃癌細胞の超微構造についてはこれまでに多くの記載があり、構成細胞の小器官の様相は、胃癌の組織型によってかなり異なることが知られている。本研究の対象として著者が選んだ胃管状腺癌は、症例の多いこともあってその構成細胞については、とくに多くの電顕的観察がなされており、非照射胃癌細胞として著者が観察した所見は、すでに諸家の報告にもみられるものであり<sup>19)20)21)22)</sup>、これに新たに加えるべき知見はほとんどない。ただ、これまでの記載で、胃癌細胞の微細構造の特徴像としてあげられているものには、当然のことながら、非癌の胃あるいは腸粘膜炎上皮細胞との異同点を明確にすることと、悪性腫瘍細胞とに普遍的であると思われる所見を抽出することに、細かい配慮がはらわれている所が多い。

著者の観察所見もそれと異なるものではないが、本研究でとくに非照射胃癌細胞の特徴的微細構造としてあげなければならない点は、照射例において変化していく種々の微細構造が、非照射時にはどのような状態であったかということである。かかる観点から非照射胃癌例の管状腺癌構成細胞の特徴像をとらえればつぎのようになる。

腺腔を形成する不整形円柱状細胞は、腺腔側で相互に junctional complex により接合し、側面の中間位および基底側に近い所では、嵌合および不規則に散在するデスメゾームによる接合様式を示し、細胞間には著しい開離

は認められなかった。腺腔側細胞表面には一般に微絨毛の発達はかなり良好であるが、その高さや密度は一様ではなく、同一細胞でも不規則であることが多かった。基底膜は光顕の所見から考えられるものよりも、はるかによく保持されている場合が多いが、一部では基底膜の欠損が認められた。

細胞質内小器官のうち、糸粒体は正常胃粘膜細胞に比較して数的に少なく、形も円形であるが、多小とも不整となっていることが多く、クリスタは管状に並列し、走行と配列はかなり規則正しいといえるものであった。粗面小胞体の発達は良好とはいえず、小胞体内腔は狭く管状になっているものが大部分であり、内腔拡張を示す粗面小胞体はほとんど認められなかった。細胞内には空胞状構造を認めることは極めて少なく、時に分泌顆粒様の小空胞が散見される細胞があるにすぎなかった。一般小器官の発達がやや不良なのに反して、遊離リボソームは豊富であり、各種の小器官の間に密在して、細胞質全体の電子密度を高くする一因となっていた。ライソソームが胃癌細胞内に認められることは稀である。

輪廓不整な核膜の直下には、幅広くクロマチン凝集像が観察され、中間域クロマチン凝集像や、ペリクロマチン顆粒も顕著となっている細胞が多かった。核小体は大型円形化する傾向を示し、網状の核小体糸構造の明らかになることが多く、それは主として fibrillar component より構成されていた。

3. 照射胃癌細胞の微細構造

観察結果の項で述べたように、照射を受けた症例の癌細胞には種々の微細構造上の変化が認められたが、これらの変化はことに照射線量によって異なっており、また同一線量でも化学療法併用の有無によって、細胞障害の程度に差が認められた。

3-1. 単独照射群 (表 5, 8)

放射線線量により、癌細胞小器官は種々の程度に影響をうけるが、放射線照射をうけた細胞の微細構造の変化について、これまで多くの記載があるが、変化の起りやすい小器官や、障害の強さおよびその出現時期については報告者によりかなり異っている。すなわち、障害像が容易に認められるのは核であると主張する者がある一方、細胞質の変化を重視してとりあげる者も少なくない。後者にはまた変化を受ける小器官によって、いくつかの見解が分けられる。Puck<sup>23)</sup>, Sparrow<sup>24)</sup>, Lea<sup>25)</sup>らは放射線による細胞障害のうち、核の変化を重視しており Bloom<sup>26)</sup> や Oakberg<sup>27)</sup> ら Parsons<sup>28)</sup> らによれば、10~

表 8

表 8	非照射群	2,000rad	3,000rad	4,000rad
糸粒体	単独照射			
	併用照射			
粗面小胞体 附離リボソーム	単独照射			
	併用照射			
核、核小体	単独照射			
	併用照射			
遊離リボソーム	多数	単独照射 多数	減少	併用照射 減少 → 著明に減少

50~100rad の小線量でも核に著しい変化がみられるという。Gray<sup>29)</sup> は細胞の部分照射の実験結果から、同程度の変化を起すには、細胞核への照射が細胞質へ照射するよりも数十倍有効であるとしている。

一方 Duryee<sup>30)</sup> は核の放射線障害像も細胞質の異常によるものであると主張するのであるが、それは両棲類の卵にX線照射を行った観察結果に基づいている。すなわち彼は、卵から核をとり出した状態でそのおのおのに放射線照射を行い相互の影響を検討した。とり出した核に3,000radを照射し、これを未照射の細胞内に入れると核には変化はみられないが、核を抜きとった残りの細胞質に5,000radを照射し、ここに未照射の核を入れた場合や、3,000radを照射した卵の細胞質を非照射卵の周囲に注入した際には、核に著明な放射線性障害像が惹起されたと言う。

人の胃粘膜細胞の放射線照射による変化についての記録は見当たらないが、田原<sup>31)</sup>らは正常マウスの胃に2,000radの1回照射を行い、その際の胃粘膜上皮細胞の初期変化を電顕的に観察している。その結果、胃粘膜にみられる6種類の上皮細胞の障害像は、細胞種によって異なっていたが、いずれの細胞においても細胞質内小器官、あるいは膜構造の変化が最初に明らかに認められ、核の変化は初期にはないか、あるいは極めて軽微であったとしている。

このように、放射線照射により細胞内の障害の部位や、程度が異なって報告されているのは、おそらく観察に用いた細胞乃至組織の種類、照射の方法および照射線量などの差違によるものと考えられよう。

治療の目的で人の癌組織に一定量の放射線を照射した

場合、癌細胞における変化はこれまでの報告でも核、細胞質の両者に認められている<sup>32)33)34)</sup>。著者は、2,000rad以上の胃癌照射例について観察したのであるが、照射例の全例に構成癌細胞の核および細胞質内小器官の変化を認めることができた。しかしながら、2,000rad照射例では障害の程度は軽く、核内クロマチン凝集像は減少しているが、核小体にはほとんど変化はなかった。細胞質内では、糸粒体の基質電子密度がやや増加し、大型空胞も散見されたが、粗面小胞体やリボソームに目立った変化はなく、多くの構成細胞に有意な障害像が認められたのは3,000rad以上の照射例においてであった。3,000rad例では糸粒体は減少し、その基質はやや淡明となるものが多く、粗面小胞体の内腔拡張と相互連絡が盛んとなり、附着ならびに遊離リボソームの著明な減少を示す細胞が多数認められた。かかる所見は光顕的に細胞質が淡明化し、膨化する所見と一致するもので、核周囲の空胞状変化は粗面小胞体の連絡性の内腔拡張によるものと解された。核では核小体は小型化するものが多く、クロマチンの凝集像の減少が目立つ一方、細胞によっては核内の微細構造が鮮明さを欠き、全体が濃縮状になって、電子密度が増加している核も認められた。

4,000rad例では癌胞巣中に、障害をうけた細胞が濃縮し、遊離脱落して行く過程にある像や、崩壊が強く細胞内が散乱状になっている細胞などが散見され、残存細胞では電子密度の糸粒体の増加がことに注目される像であった。非照射例胃癌細胞では、このような多数の糸粒体を有する細胞は認められないので、照射例における糸粒体の増加は、致死にまで至らなかった細胞において、修復に必要なエネルギー供給源として糸粒体の再生がなされたものと考えられる。

5,000rad例ではしかし、増加した糸粒体でも電子密度の低下を伴って、クリスタ内に空胞状構造を示すようになり、細胞によっては細胞質内に小空胞が出現して、これが糸粒体からの移行によると思われるものもあり、また、核においてもクロマチン顆粒の減少が目立ち、基質に不規則な濃淡域が生じ、核小体は網状構造を失って、全体的に類円形化して電子密度を増している。

6,000rad照射例では障害像の強い癌胞巣が大部分を占めていたが、ごく一部の癌胞巣では依然として細胞形態や接合状態がかなりよく保持された癌細胞群が見られた。

以上より照射による癌細胞の障害像としてクロマチン顆粒の減少、核小体の縮小、核小体糸の網状構造の消

失、糸粒体の淡明化や電子密度の増加、粗面小胞体の内腔拡張と相互連絡およびリボソームの減少が特徴的な所見としてあげられる。照射に抵抗を示したと思われる細胞では、しばしば糸粒体の増加がみられたが、このような細胞でも照射量の増加により、糸粒体内部構造に二次的な障害像が認められた。このように癌細胞の障害像は、照射量の増加につれて増強する傾向があるが、2,000rad照射例では障害像は強くなく、3,000rad以上を受けた例から障害像が著しくなっていた。一方、4,000rad以上の照射例では、核や細胞小器官の諸種の退行性変化を示す細胞がみられたほかに、残存細胞には糸粒体が増加している細胞が少なくなかった。このような細胞でも、照射量に応じて障害像が観察されたが、小器官再生像が目立つことから、放射線に比較的抵抗性の細胞が残存していると考えてよからう。

また、6,000radを照射した症例でも、癌胞巣によっては、糸粒体の豊富な癌細胞が、内部微細構造ならびに相互接合状態を比較的良好に保持しているのが認められた。この所見は6,000rad照射でも、胃管状腺癌の完全消滅は困難である場合が多いことを示唆するものといえよう。

以上より、術前照射が癌の完全治癒を目的とせず、癌性発育の阻止、縮小に対しての効果を期待するのであれば、照射量は3,000~4,000radで足りると結論づけられる。

### 3-2. 化学療法併用照射群(表7, 8)

併用群における癌細胞の微細構造の変化を単独照射例のそれと比較検討した結果では、前記の様にいずれの線量群でも、併用群に細胞障害像が強く認められた。障害像は単独照射群および併用照射群ともに多彩であったが、なかでも併用群においては、糸粒体の淡明化や空胞状膨化、核小体の凝縮、核小体糸の不鮮明化、クロマチン凝集像の減少、核の円形拡大および核内の高電子密度性均質化などの変化が目立っていた。このように、糸粒体および核の障害像がことに併用群において顕著に認められたのは、いかなる理由によるものであろう。それには5Fuの作用をふりかえってみる事が必要とならう。

5FuはDuschinsky<sup>35)</sup>により合成されたハロゲンピリミジン誘導体の1つであり、ウラニールと競合してDNAの中にとりこまれると、放射線によって損傷を受けたDNAの修復が阻害されるので、5Fuは放射線増感物質としても作用する<sup>42)43)</sup>。

すなわち、5Fuはそれ自体が抗腫瘍性に作用するば



かりでなく、放射線療法を併用する場合、照射効果を一層たかめるわけで、この増感性を応用して教室では、増感剤として5Fuを併用し、線量を少なくしてより効果をあげるために用いたわけであるが、電顕的にこの目的が達成されたことを証明できたわけである。その障害部位が、ことに糸粒体および核であることについては、加藤<sup>4)</sup>らの興味ある研究成績がある。すなわち彼らは培養Hela細胞を用いて、5Fu単独、<sup>60</sup>Co照射単独および両者の併用の際の微細構造の初期変化を電顕的に観察している。それによると、単独照射の直後には細胞内にとくに変化はみられず、併用群ではこの時期にすでに核小体の凝集と糸粒体の淡明化があり、照射24時間後には単独照射例よりも、併用群に核小体および糸粒体の変化が高頻度に、しかも著明に認められたという。

癌組織はいうまでもなく単に癌細胞の集合ではなく、多種の組織系の組合せから成り、宿主との微妙なかかわり合いのもとに発育している複雑な有機体であると考えられ、培養細胞の変化がそのまま生体内癌細胞に再現されるとは思われないが、上記の加藤<sup>4)</sup>らの基礎的研究は、著者の併用群における観察結果の解釈に、きわめて示唆に富む所見を提供してくれる。

糸粒体および核の変化を主体とする細胞障害は、併用群のいずれの線量群にも認められたのであるが、単独照射群との間にことに際立った差を示したのは、2,000~3,000radの比較的少量の照射群においてであった。すなわち5Fu併用は、照射量の如何を問わず照射効果を一層たかめるのであるが、併用の著効は2,000~3,000radの線量域において発揮されるということができよう。4,000rad以上の併用群においては単独照射同様、抵抗性を示唆する糸粒体の再生増加が認められる細胞が多い。このような照射量域でも、併用群の方が細胞障害像が単独群のそれより強いが、その差は2,000~3,000rad照射例における程顕著ではなかった。したがって4,000rad以上の照射例では併用効果はあるにしても、大きな期待はもてないと思われる。

以上、胃癌術前照射において、5Fuを併用することは照射効果をたかめ、単独照射時よりも細胞障害が強くなり、ことに著効は比較的少線量の時期に発揮される。したがって、術前照射の初期に強い細胞障害を期待して、5Fuを併用することは、有意義であると考えられる。

しかし、4,000rad以上の照射時期の症例には糸粒体再生像がみられ、放射線抵抗性の細胞の出現が多くなるの

で、根治照射を目的としない術前照射においては、照射量を4,000rad位にとどめ、同時に5Fuの併用を行うときには、総線量は2,000~3,000radで充分であるといえよう。

## V 結 語

Betatronによる術前照射を行った胃管状腺癌39例を、単独照射群と5Fu併用群にわけ、2,000radから6,000radの線量別に、癌組織の変化を病理組織学的および電子顕微鏡学的に比較観察した結果、つぎの結論を得た。

1. 照射線量の増加に伴い、癌組織には実質部の縮小および間質の増生が認められた。
2. 電顕的に、単独照射群の癌細胞には、糸粒体の減少および基質の淡明化、粗面小胞体の拡張、遊離および附着リボゾームの減少、核クロマチン凝集像の減少ならびに核小体糸の不明瞭化などの障害像が観察された。
3. かかる細胞内微細構造の変化は、光顕的に認められる癌細胞の核および細胞質の淡明化、空胞形成に符合する。
4. 上記の障害像は2,000rad照射例では軽度であり、3,000rad以上の照射例で著明であった。
5. 5Fu併用群では単独照射群に比較し、核内構造および糸粒体の変化が顕著である。
6. 併用群における各線量別の細胞障害像は、同一線量単独照射群より強い。
7. 4,000rad以上の照射例では、単独照射群および併用群においても、糸粒体の再生を示す細胞が見られた。このことは放射線抵抗性および待り々間などの諸因子によるものと解された。
8. 以上の結果より、根治照射を目的としない胃癌術前照射においては、比較的小線量で、十分な効果が期待できる至適線量は、3,000~4,000radと考えられる。
9. その際、5Fuの併用は細胞障害を著しく増強するため、増感物質を併用して照射を行う場合には、総線量は2,000~3,000radで充分であるといえる。

稿を終るに臨み、終始ご指導ご鞭撻を賜った恩師牧野惟義教授に深甚なる感謝の意を捧げるとともに、中村智助教授、相馬哲夫助教授、大石山講師ならびに放射線科岡本十二郎教授、網野三郎助教授および第1病理大高裕一教授、外野正己助教授に深謝する。また、外科、放射線科、第1病理、ガンセンター病理部の諸先輩、在局中の諸兄のご指導ご協力を感謝する。

## 文 献

- 1) 藤野守次：胃癌の手術前線照射について、日

- 本放射線学会誌, **16**: 74, 1956.
- 2) 網野三郎: 胃癌に対する Betatron 電子線による術前照射について, 日医放会誌, **28**: 546—557, 1968.
  - 3) 西尾碩人: 胃癌の放射線治療に関する研究—特に術前照射について, 東医大誌, **29**: 727—744, 1971.
  - 4) 牧野惟義: 胃癌の術前照射—単独照射と併用照射について—, 癌の臨床, **16**: 1023—1031, 1970.
  - 5) 相馬哲夫: 胃癌に対する術前照射の内視鏡学的考察, 胃と腸, **5**: 739—745, 1970.
  - 6) 大石 山: 胃癌の術前照射 (Betatron) について, 最新医学, **25**: 1108—1117, 1970.
  - 7) 楠元慶明: 胃癌術前照射の病理組織学的研究, 日本外科会誌, **7**: 1975, 掲載予定.
  - 8) 古畑 正: 上部胃癌並びに食道噴門境界部癌の病理組織学的特殊性について, 外科診療, **15**: 1489—1496, 1973.
  - 9) 大波克夫: 術前照射を行つた食道癌の電子顕微鏡的研究, 日本胸外会誌, **18**: 917—930, 1970.
  - 10) 伊藤 楨: 子宮頸癌の電子顕微鏡的研究特に放射による病変に就いて, 日産婦誌, **19**: 1489—1496, 1967.
  - 11) Gray, L.H.: Oxygenation in radiotherapy. Brit. J. Radiology, **30**: 403—422, 1957.
  - 12) Terashima, T.: Variations in several responses of HeLa cells to X-irradiation during the division cycle. Biophysical Journal, **3**: 11—33, 1963.
  - 13) 古賀 充: 胃癌の術前照射, 日本医放学誌, **27**: 1133, 1966.
  - 14) 山形 淳: 放射線照射による胃癌細胞の形態学的変化, 日本消化器病学会誌, **68**: 231, 1970.
  - 15) 田島基男: 細胞診特論, 中山書店, 東京, 291—302, 1970.
  - 16) 柴田偉雄: 経時的細胞診による肺癌細胞の追跡—放射線による細胞形態変化—, 癌の臨床, **17**: 178—182, 1971.
  - 17) Takaki, F.: Electron-microscopic cyto-histopathology I. Jikei Med. J., **2**: 27—59, 1955.
  - 18) 中川定明: 胃癌組織超微構造の経時的変化—胃癌細胞診の基礎的検討, 日本癌学会第28回総会記事, 209, 1969.
  - 19) Onoe, T.: Electron microscopic studies of human carcinoma. J. Electronmicroscopy **11**: 70—84, 1962.
  - 20) Seki, M.: Parietal cell carcinoma. J. Electron-microscopy, **11**: 40—46, 1962.
  - 21) Enomoto, Y.: Electron microscope studies on adenocarcinoma cells of the human stomach. J. Nara Med., **16**: 509—536, 1966.
  - 22) 新井元順: 人胃癌の細胞学的研究, 東北医誌, **78**: 187—201, 1968.
  - 23) Puck, T.T.: Quantitative studies on mammalian cells in vitro. Reviews Modern Physics, **31**: 433—448, 1959.
  - 24) Sparrow, A.H.: Correlation of nuclear volume and DNA content with higher plant tolerance to chronic radiation. Science, **134**: 282—283, 1961.
  - 25) Lea, D.E.: Actions of radiation on living cells. Chapt. 8 Delayed Division: 282—306, Cambridge Univ. Press, London, 1962.
  - 26) Bloom, W.: Histological changes after irradiation. In Hollaender "Radiation Biology" Chapter, **17**: 1091—1143, 1954.
  - 27) Oakberg, E.F.: Effect of dose and dose rate on radiation damage mouse spermatogonia and oocytes as measured by cell. Survival J. Cell Comp. Physiol., **58**: 173—182, 1961.
  - 28) Parsons, D.F.: An electron microscope study of radiation damage in the mouse oocyte. J. Cell Biology, **14**: 31—48, 1962.
  - 29) Gray, L.H.: Cellular radiobiology. Radiation Research Supplement, **1**: 73—101, 1959.
  - 30) Duryee, W.R.: The nature of radiation injury to amphibian cell nuclei. J. National Cancer Institute, **10**: 735—795, 1949.
  - 31) Tahara, E.: The effects of localized X-irradiation on the ultrastructure of the glandular stomach in mice. ACTA. Path. Jap. **22**: 321—341, 1972.
  - 32) 秦 良麿: 子宮頸癌に対する遠隔照射時の腫スメア所見, 日本臨床細胞誌, **4**: 28, 1965.
  - 33) 増淵一正: 子宮頸癌に対するリネアアクセレーター照射時の癌細胞の推移, 日本臨床細胞誌, **4**: 29, 1965.
  - 34) 砂倉瑞良: 肺癌の放射線治療による癌細胞の変化とX線像の変化との関連, 日本臨床細胞誌, **6**: 42, 1967.
  - 35) Duschinsky, R.: The synthesis of 5-fluoropyrimidines. J. American Chemical Society, **79**: 4559—4560, 1957.
  - 36) Heidelberger, C.: Fluorinated pyrimidines a new class of tumor inhibitory compounds. Nature, **179**: 663—666, 1957.
  - 37) Heidelberger, C.: Clinical studies with 5-fluorouracil. Cancer Research, **18**: 478—484, 1958.
  - 38) Hurley, J.D.: Treatment of advanced cancer of the gastrointestinal tract with antitumor agents. Gastroenterology, **41**: 557—562, 1961.
  - 39) 石山俊次: 5-fluorouracil とその制癌効果, 癌の臨床, **13**: 139—150, 1967.
  - 40) 菊地金男: 5-FUの外科的使用経験, 癌の臨床, **13**: 670—676, 1967.
  - 41) 岡 捨己: 肺癌に対する 5-fluorouracil と放射

- 線の併用療法に関する研究(1), 癌の臨床, **13**: 850—854, 1967.
- 42) 松平寛通: 癌細胞の放射線感受性とその modification. 癌の臨床, **13**: 554—574, 1967.
- 43) 柄川 順: 放射線増感剤としての 5-fluorourac-  
il. 癌の臨床, **13**: 9—18, 1967.
- 44) 加藤純彦: HeLa 細胞におよぼす制癌剤の影響に関する電子顕微鏡的研究, 耳鼻臨床, **62**: 92—106, 1969.
-