

Radioautography を用いた大腸隆起性病変および 周辺粘膜の腺窩内細胞動態に関する研究

三重大学医学部外科学第2講座 (指導: 鈴木宏志教授)

重 盛 憲 三

STUDIES ON CELL KINETICS OF NEOPLASMS AND ADJACENT MUCOSA OF THE LARGE BOWEL

Kenzo SHIGEMORI

The Second Department of Surgery Mie University School of Medicine
(Director: Prof. Hiroshi Suzuki)

大腸癌38例, 大腸腺腫32例, 家族性大腸腺腫症6例およびその家族5例を対象とし, さらに対照とした健常者10例について手術あるいは内視鏡下生検にてえた大腸粘膜を6~24時間器管培養を行いながら thymidine methyl-³H の連続標識法にて radioautogram を作製し, 腺窩内細胞動態の観察を行った. 正常大腸粘膜では標識細胞は腺窩下方に出現し, 時間の経過とともに腺窩上方へ移動していく. すなわち増殖帯は腺窩下方に存在した. 腺窩の高さ, 腺窩の高さに対する最高位標識細胞の高さの比率, 標識率には大腸各部位に差は認められなかった. 大腸癌では腺窩の上方, 表層を中心に標識細胞が分布し, 増殖帯がこの部位を中心に存在していた. 標識率は正常粘膜に比べて有意に高値を示した. 癌の移行部粘膜の細胞動態は正常粘膜と差がなかった. 大腸腺腫の標識細胞は癌と同様に腺窩の上方, 表層を中心に分布し, 増殖帯はこの部位を中心に存在していた. 標識率は正常粘膜より有意に高値を示したが, 癌の間には差がなかった. 家族性大腸腺腫症腺腫の細胞動態は大腸腺腫と変らなかった. 家族性大腸腺腫症およびその家族の flat mucosa の標識率は正常大腸粘膜と差がないが, 最高位標識細胞の高さは有意に高く, 細胞増殖帯の延長が考えられた. すなわち, 家族性大腸腺腫症の flat mucosa を腺腫の前段階としてみるならば, 腺腫の発生は増殖帯の腺窩底部から上方への延長として始まり, これに腺腫様変化が加わると考えられた.

索引用語: radioautography, 大腸腺窩内細胞動態, 大腸癌, 大腸腺腫, 家族性大腸腺腫症

I. 結 言

大腸癌の発生頻度は本邦においても近年増加しつつある¹⁾. 大腸癌の多くは良性腺腫から cancer in adenoma を経て発生するといわれており²⁾, 大腸癌の周辺にはしばしば良性腺腫の併存をみとめることもよく知られている.

著者は正常大腸粘膜に良性腺腫が発生し, これが悪性化していく機構の一端を解明する目的で, 器官培養した大腸粘膜の radioautography を行い, 大腸癌とその周辺健常粘膜, 大腸腺腫, 家族性大腸腺腫症の腺腫と flat mucosa における大腸粘膜腺窩の細胞動態を正

常大腸粘膜のそれと比較しながら検討して二, 三の知見を得ることが出来, とくに前癌状態として注目されている家族性大腸腺腫症では, 腺腫のみならず flat mucosa も正常大腸粘膜とは異った細胞動態を示すことをみいだしたので報告する.

II. 研究の対象と検査法

1. 対象症例および検査材料

三重大学医学部附属病院第2外科にて手術あるいは内視鏡下生検を行った大腸癌38例, 大腸腺腫32例, 家族性大腸腺腫症6例, および家族性大腸腺腫症の家系で大腸に隆起性病変を認めないもの5例を研究対象と

し、さらに大腸ファイバースコープ検査をうけたが大腸に病変を認めなかった健常者10例についても検討を行った。

検査材料としたのは、これらの対象症例から手術または生検によって得た大腸粘膜で、大腸癌症例では癌部、癌部から2 cm 以内の肉眼的に健常と思われる移行部、大腸腺腫症例では腺腫、家族性大腸腺腫症例では腺腫および肉眼的に隆起性病変を認めず、鏡検にても腺腫様変化を除外し得た flat mucona および家族性大腸腺腫症家系例の直腸粘膜について検討を行った。対照としては健常者の大腸各部位から得られた正常粘膜、大腸癌あるいは腺腫症例の腫瘍から5 cm 以上離れた部位から採取した健常粘膜である。

2. 検査項目と検査法

手術あるいは生検によって採取した粘膜を一定時間器管培養し、培養液に加えた thymidine methyl- ^3H (以下 $^3\text{H-TdR}$ と略す) の細胞核へのとりこみ状態を指標として、癌および移行部粘膜、腺腫、家族性大腸腺腫症の腺腫と flat mucona、その家系の直腸粘膜における腺窩の細胞動態を正常大腸粘膜のそれを対照としながら、以下に述べる方法によって比較検討した。

i) 器管培養法と radioautography 作製方法

手術および内視鏡下生検により採取した検体から1 mm²大の粘膜を切り出し、ただちに10%胎児牛血清入り Eagle MEM 培養液(日水製薬)に入れ100 $\mu\text{g/ml}$ の streptomycin を加えて約15分間洗滌してのち、直径6 cm の Falcon organ culture dish (Falcon Plastic America) を使用して Eastwood ら⁴⁾ および Hayashi ら⁵⁾ の方法にしたがって器管培養を行った。すなわち dish の中心部に不銹鋼製金網を置き、その上にシリコンガーゼを敷いて、採取した標本の粘膜面が上方になる様にガーゼの上へ2~3個の標本をのせ、前述の培養液を約1 ml 注入し、毛細管現象で組織片表面に培養液がかぶるようにした。この培養液には $^3\text{H-TdR}$ (Radiochemical Centre, Aersham, specific activity 40-60 Curies/m mol) を5 $\mu\text{ci/ml}$ 加えてある。この組織片を入れた dish を密閉可能なプラスチック箱(豊田化学・三重)に入れ、5% CO_2 + 95% O_2 の混合ガスを約10分間注入し、37 $^{\circ}\text{C}$ にて培養を行いながら、培養開始後6時間、18時間の2回培養液を交換し、 $^3\text{H-TdR}$ の連続標識法による radioautography を行った。すなわち6時間、18時間、および24時間培養後に標本をとり出して10%ホルマリンにて固定し、パラフィン包埋後4 μ の連続切片を作製し、脱パラフィ

ン後 Sakura NR-M₂ 乳剤にて dipping 法を行い、暗冷蔵庫内に6週間露出した。露出終了後、FD III にて現像を行い定着水洗後、ヘマトキシリンエオジン後染色をほどこして鏡検した。

ii) 標識細胞の判定

前項の操作を行った標本を $\times 200$, $\times 400$, $\times 1000$ の倍率にて鏡検し、壊死におちいつている組織は除き、また標本の最外層は機械的刺激によって細胞動態が変化している⁴⁾可能性があるため除外したうえで、back ground fog を考慮に入れ細胞核上に5個以上の granine がある細胞を標識細胞とした。

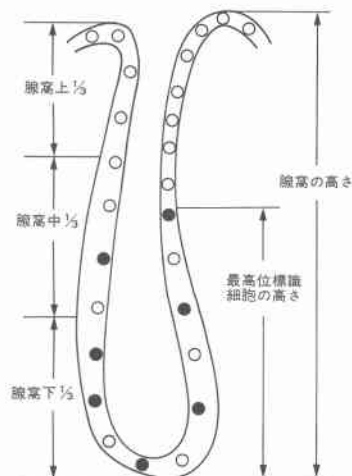
iii) 標識細胞の腺窩内分布

鏡検下に腺窩内標識細胞の分布を観察した。正常粘膜、大腸癌移行部粘膜、家族性大腸腺腫症の flat mucona では、腺窩全層が縦に切れ、腺窩底部から表層まで一連となった観察が可能で、しかも相対する腺窩に標識細胞が一様に分布する部位を選び、腺窩の高さ、最高位標識細胞の高さ、および腺窩の高さに対する最高位標識細胞の高さの比率を計測し、さらに腺窩を上中下に3等分し、おのおのの部位における細胞数、標識細胞数を micrometer を用いて計測した。

iv) 標識率

標識率は器管培養中 $^3\text{H-TdR}$ の連続標識を行い、6時間、18時間、24時間培養後における全分裂細胞に対する標識分裂細胞の比率として求めた⁶⁾。したがって正常大腸粘膜では細胞分裂が主として腺窩下方にみられることより⁷⁾⁸⁾⁹⁾、図1に示すように腺窩を上中下に3等分し、下1/3における全細胞数に対する標識細胞数

図1 腺窩の縦断面における区分模式図。黒印は標識細胞。



の割合として求めた。大腸癌移行膜および家族性大腸腺腫症の flat mucosa についても正常大腸粘膜と同様に標識を算定し、比較検討を行った。癌腫、腺腫では細胞分裂が腺窩上方、表層を中心におこなっていると考えられることより¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾、radioautogram に出現した腺窩上方および表層の任意の部位における連続した細胞100個以上の一定細胞数に対する標識細胞数の比率をもって標識率とした。

V) 培養組織の生死の確認

前述の操作および測定において培養24時間後も細胞が生存していることを確認する意味で、一部正常粘膜について³H-thymidine 入り培養液で第1項に示したと同様に24時間培養を行った後、³H-TdR 入り培養液に交換し数時間培養し標識細胞の出現の有無をみた。

III. 結 果

1. 正常大腸粘膜

i) 腺窩の高さおよび標識細胞の分布

a) 腺窩の高さ

大腸各部位における6時間、18時間、24時間器管培養後の腺窩の高さをみると、表1に示すように6時間培養後では339—394 μ 、18時間培養後315—410 μ 、24時間培養後282—396 μ となり、培養時間、部位による差は

写真1 正常直腸粘膜6時間培養後のRadioautogram: 矢印で示す標識細胞は腺窩底部にのみみられる(×400)

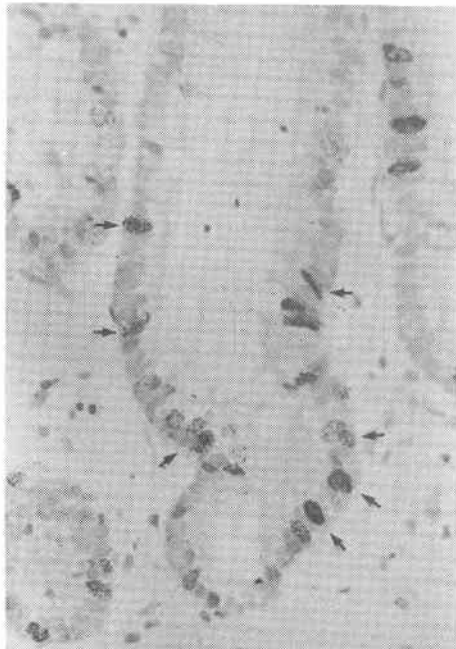


写真2 正常横行結腸粘膜18時間培養後のRadioautogram: 標識細胞は腺窩中部にもみられる(×400)

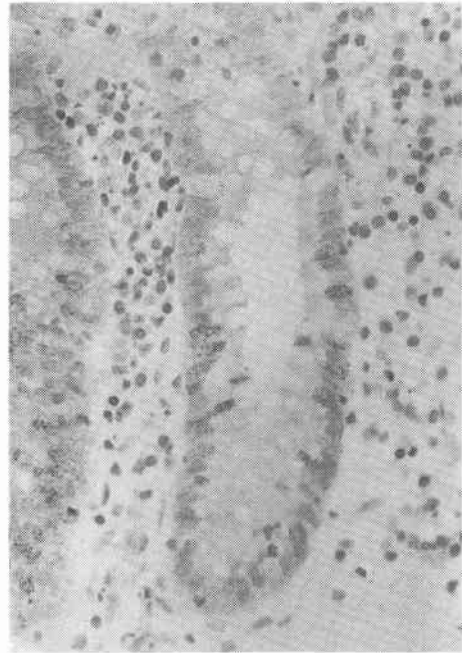
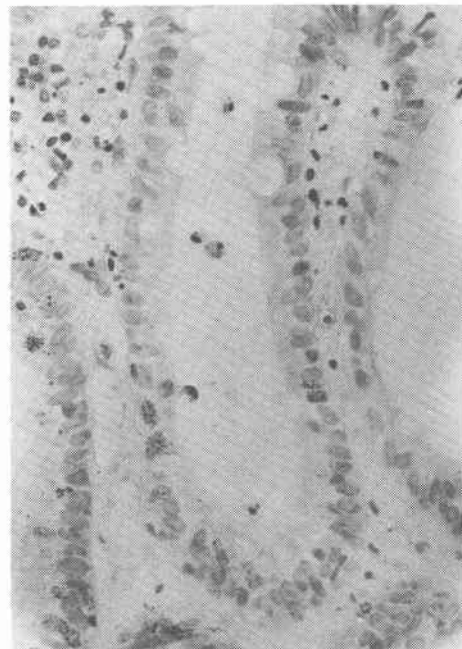


写真3 正常S状結腸膜24時間培養後のRadioautogram: 標識細胞はさらに腺窩上方に移動している(×400)



認められない。

b) 標識細胞の分布

相対する腺窩に標識細胞が一様に分布した部位について測定を行った。写真1は正常直腸粘膜6時間培養

である。矢印で示すように無数の黒点を認めるのが標識細胞で、腺窩下方にのみみられる。写真2は正常横行結腸粘膜18時間培養である。標識細胞は腺窩中部にも出現している。写真3は正常S字結腸粘膜24時間培

表1 各大腸粘膜の培養時間別にみた腺窩の高さ、最高位標識細胞の高さ、および腺窩高に対する比率、腺窩上・中・下の全細胞数、標識細胞数、腺窩下1/3における標識率。

部位	培養時間	NO.	Mean height of crypt column (μ)	Mean height of labeled zone (μ)	Label zone/ Crypt column height (%)	Mean no. cells per crypt column			Mean no. labeled cells per crypt column			Labeling Index (%)
						Lower	Middle	Upper	Lower	Middle	Upper	
直腸	6hr	28	357.3 ± 113.4	178.7 ± 59.2	55.5 ± 25.0	69.4	54.9	53.8	10.7	3.5	1.0	15.5 ± 6.9
	18hr	15	392.8 ± 149.4	223.3 ± 66.6	61.6 ± 16.8	72.9	64.3	57.3	14.0	5.0	0.8	17.7 ± 8.4
	24hr	11	396.4 ± 117.0	281.4 ± 109.0	70.7 ± 18.5	69.2	62.0	52.8	13.1	7.2	1.7	19.4 ± 6.5
S字・下行結腸	6hr	37	394.8 ± 89.6	182.5 ± 74.0	46.5 ± 13.7	61.4	58.8	50.0	8.5	5.8	0	14.8 ± 5.8
	18hr	11	353.6 ± 41.8	250.2 ± 70.5	71.3 ± 17.7	67.6	61.7	64.2	10.8	9.7	2.0	16.3 ± 5.1
	24hr	38	315.9 ± 67.5	230.3 ± 77.7	72.8 ± 17.0	68.5	59.1	57.8	14.6	7.1	2.3	21.6 ± 8.9
横行結腸	6hr	33	339.5 ± 61.2	184.0 ± 56.7	54.4 ± 14.4	62.5	52.9	60.5	8.8	4.6	0.3	14.0 ± 5.6
	18hr	12	315.0 ± 25.8	245.0 ± 83.8	77.2 ± 23.6	57.7	42.3	54.1	10.9	7.1	5.2	18.7 ± 4.9
	24hr	13	282.1 ± 60.1	228.6 ± 72.6	79.9 ± 11.7	55.2	44.9	51.5	11.7	6.8	3.7	21.7 ± 4.9
上行結腸・盲腸	6hr	33	378.5 ± 60.8	193.4 ± 66.9	51.1 ± 14.3	66.3	62.5	60.0	10.2	4.8	0.7	15.8 ± 5.5
	18hr	6	410.0 ± 107.5	241.1 ± 49.9	60.6 ± 14.3	66.7	60.2	59.3	11.0	4.7	0.7	16.4 ± 5.4
	24hr	16	325.0 ± 81.2	299.6 ± 76.2	92.6 ± 9.3	63.4	50.2	46.3	12.7	9.1	4.0	20.7 ± 6.8
癌移行部粘膜	6hr	8	506.3 ± 68.6	217.4 ± 45.8	43.5 ± 11.0	81.1	80.3	75.9	11.4	2.6	0.4	13.8 ± 6.6
	18hr	6	292.9 ± 53.0	165.4 ± 48.5	56.5 ± 13.0	42.0	42.7	46.7	6.0	4.5	0.2	15.4 ± 3.8
	24hr	40	355.8 ± 57.8	294.0 ± 75.2	82.1 ± 14.9	62.2	54.5	61.9	10.7	7.0	2.3	17.0 ± 5.8
家族性大腸腺腫症の flat mucosa	6hr	12	306.7 ± 35.0	230.8 ± 62.4	76.3 ± 21.1	58.8	51.5	53.3	8.3	6.8	2.2	16.0 ± 6.0
	18hr	7	324.3 ± 31.0	264.3 ± 32.5	81.6 ± 8.9	52.1	53.6	61.0	8.7	7.7	3.6	16.5 ± 6.3
	24hr	4	272.5 ± 12.6	272.5 ± 12.6	100.0 ± 0	55.5	55.5	60.5	11.0	11.5	9.0	19.4 ± 2.9

図2 腺窩の高さにする最高位標識細胞の高さの比率

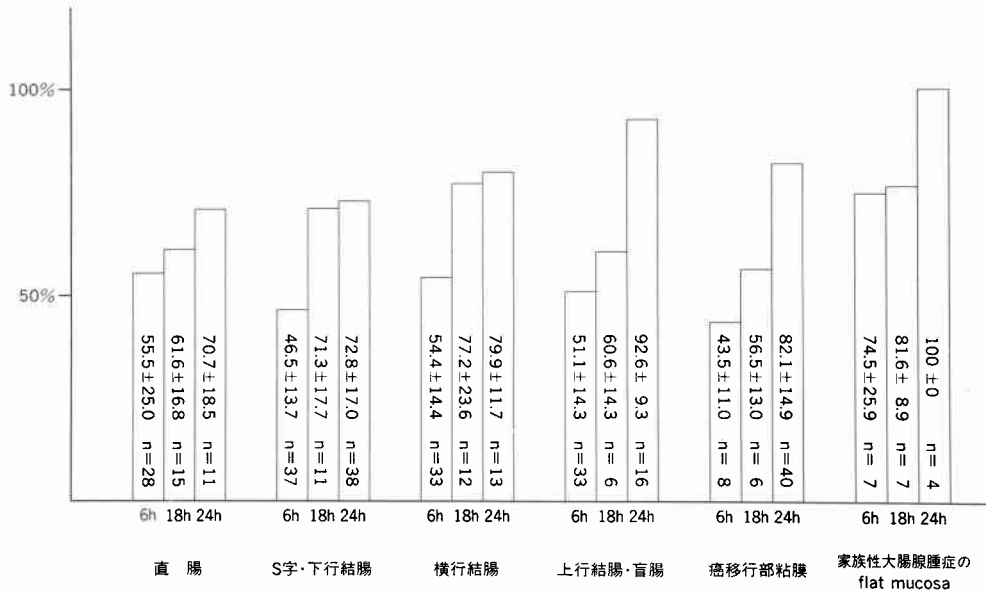
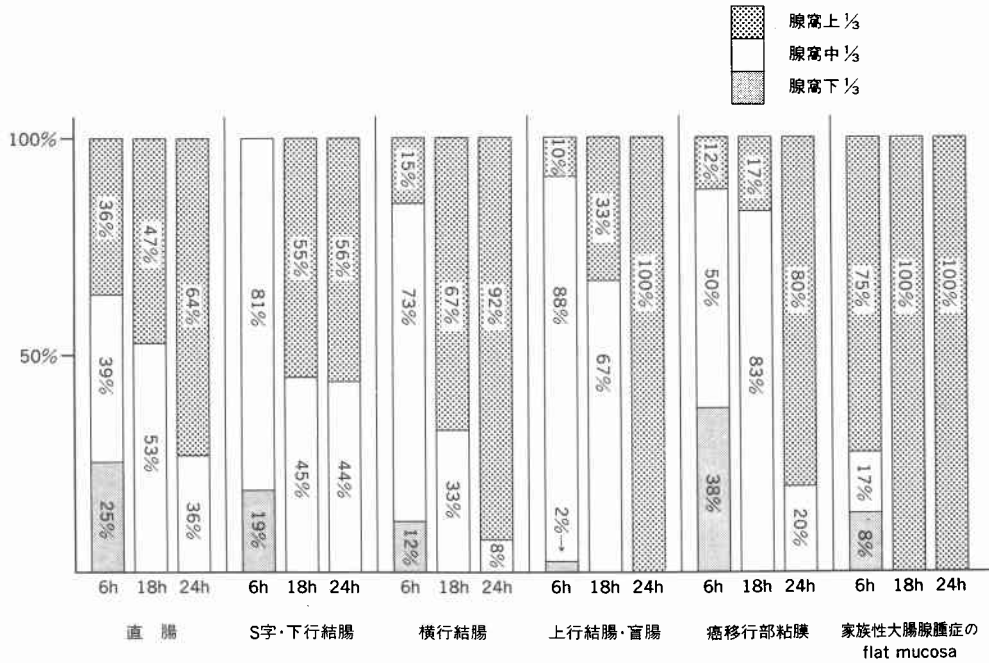


図3 計測した全腺窩のうち最高位標識細胞が腺窩の上・中・下のどの部位に位置したかを示すヒストグラム



養である。標識細胞はさらに腺窩上方に移動している。腺窩を上中下に3等分し、おのおの細胞数、標識細胞数をみると、表1に示すように、細胞数では腺窩の上中下各1/3のそれぞれの間に差がなく、培養時間、大腸の各部位による差もみとめられなかった。標識細胞数は6時間培養では下1/3で多いが、培養時間が18時間、24時間となると腺窩上1/3でも増加してくる。しかし、大腸各部位における差はみいだしえなかった。

c) 最高位標識細胞

大腸各部位における腺窩の高さに対する最高位標識細胞の高さの比率をみると表1および図2に示すように6時間培養で46~55%、18時間培養60~77%、24時間培養で70~92%と培養時間の延長とともに最高位標識細胞の位置の腺窩上方への移動が認められる。これをヒストグラムに示すと図3のようになる。

すなわち、6時間培養で最高位標識細胞が腺窩下1/3にみとめられるのは計測した全腺窩中2~25%、中1/3にみとめられるのが39~88%、上1/3にみとめられるものが0~36%であるのに対し、24時間培養では最高位標識細胞は腺窩下1/3にとどまるものではなく、中1/3にみとめられるものは0~44%、上1/3にみとめられるものは56~100%となり、培養時間の延長とともに腺窩

上方に標識細胞が出現することが明らかとなる。しかし、大腸各部位における差はみいだしえなかった。

ii) 標識率

正常大腸粘膜の各部位における標識率を表1および図4に示す。6時間培養では14~15%、18時間培養16~18%、24時間培養19~21%となり、培養時間とともに増加しているが大腸の部位による差は認められない。

iii) 培養組織の生死の判定

この実験において、大腸粘膜が24時間培養後にも十分細胞の活動を認めることを示すために、¹H-thymidine 入り培養液で24時間培養を行い、ついで³H-TdR 入り培養液にて数時間培養を行った。写真4は正常S字結腸24時間培養後さらに³H-TdR 入り培養液にて2時間培養を行った標本であるが、細胞核に無数の黒点を有する標識細胞が認められ、組織は培養期間中正常の活動を行っていたと考えられる。

iv) 小括

正常大腸粘膜の腺窩内細胞動態を radioautography によって検討した結果、大腸の各部位において、標識細胞は腺窩下方に出現し、培養時間の延長とともに腺窩上方へ移動して行くことが知られた。全分裂細胞に

図4 腺窩下1/3における部位別・培養時間別標識率

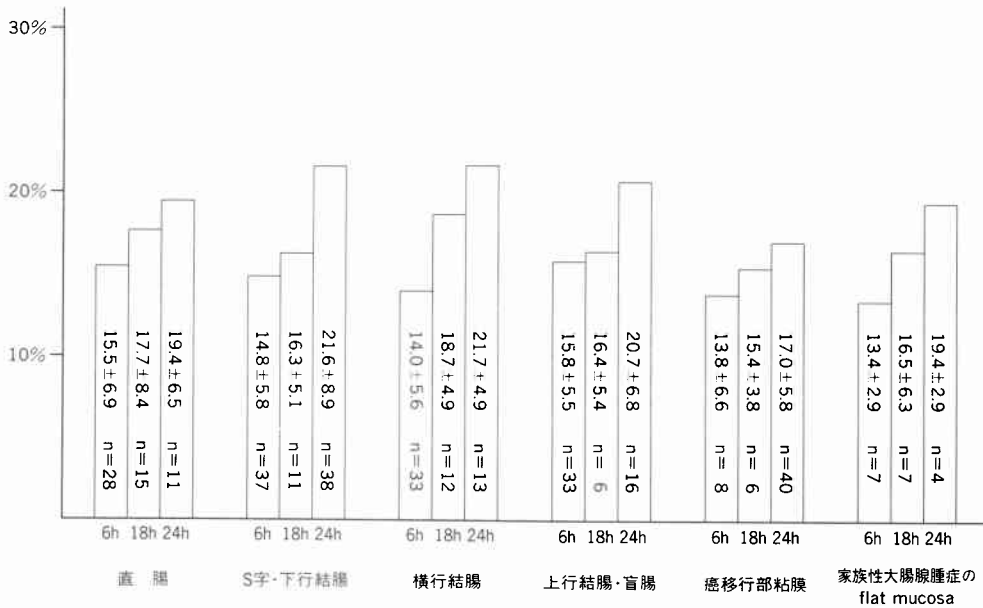


写真4 ³H-TdR入り培養液にて24時間培養後、³H-TdR入り培養液にて2時間培養を行った正常S状結腸のRadioautogram：³H-TdRのとりこみがあり、細胞の活動がみとめられる（×1000）

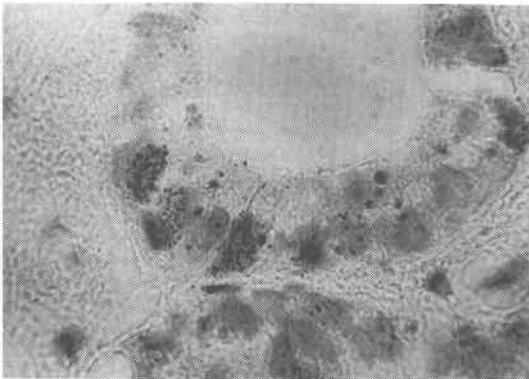
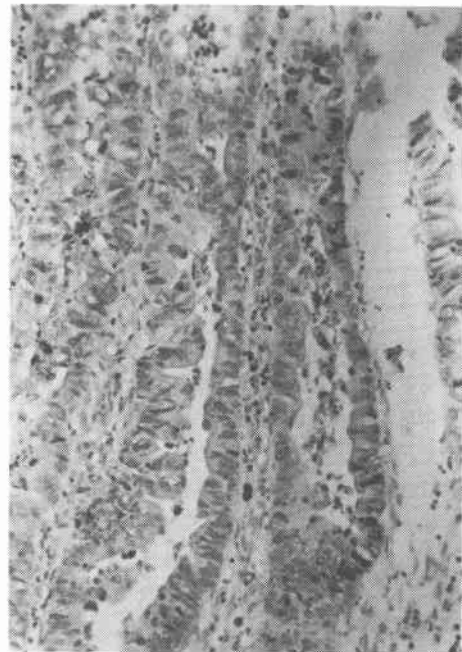


写真5 横行結腸癌 6時間培養後のRadioautogram：標識細胞は腺窩上方、表層を中心にみられる（×200）



対する標識分裂細胞の比率である標識率は培養6時間後で14~15%，18時間後で16~18%，24時間培養後で19~21%であり、大腸の部位による差はみとめられなかった。

2. 大腸癌および移行部粘膜

i) 腺窩の高さおよび標識細胞の分布

a) 腺窩の高さ

癌腫における腺窩は正常粘膜と異なって走向が一定せず、腺窩底から表層まで連続的に鏡検できず腺窩の高

さは測定不能であった。移行部粘膜の腺窩の高さは表1に示すように292~506μと大きなバラツキを示した。

写真6 S状結腸癌24時間培養後のRadioautogram: 培養時間が延長するにつれて標識細胞数が増加してくる(×400)

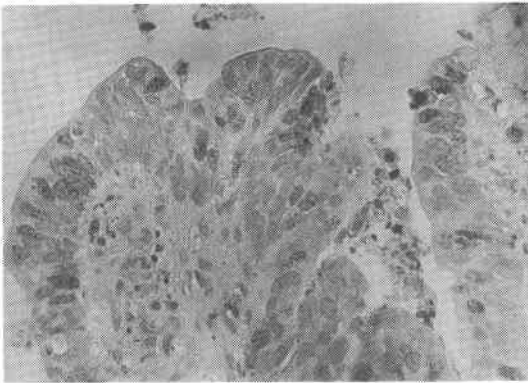
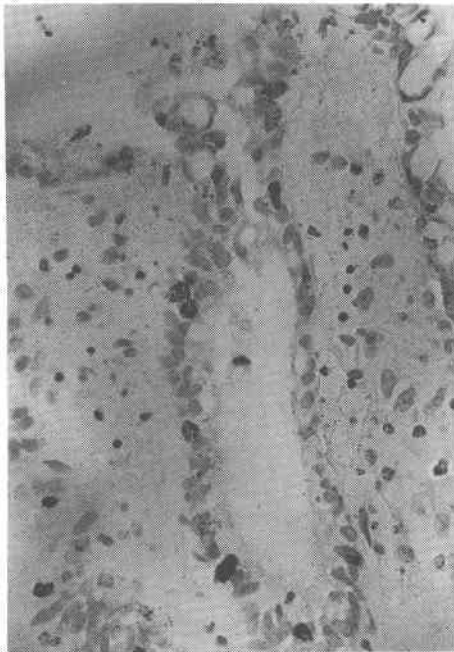


写真7 直腸癌移行部粘膜24時間培養後のRadioautogram: 正常粘膜と同様に培養時間延長とともに腺窩上方に標識細胞が出現する(×200)



b) 標識細胞の分布

癌腫における標識細胞の分布をみると、写真5および6に示す横行結腸癌6時間培養とS字結腸癌24時間培養で明らかなように、正常大腸粘膜と異なり腺窩上方、表層を中心に標識細胞が分布している。

移行部粘膜における標識細胞の分布は写真7に示すごとく正常大腸粘膜と変わらない、移行部粘膜の腺窩

を正常粘膜と同様に上中下に3等分し、おのこの細胞数、標識細胞数をみると表1に示すように、細胞数に培養時間によるバラツキが認められるが、それぞれの培養時間で腺窩の上中下各1/3の間には差をみとめない、標識細胞は正常大腸粘膜と同様に腺窩下1/3に出現し、培養時間延長とともに腺窩上方にも出現する。

c) 最高位標識細胞

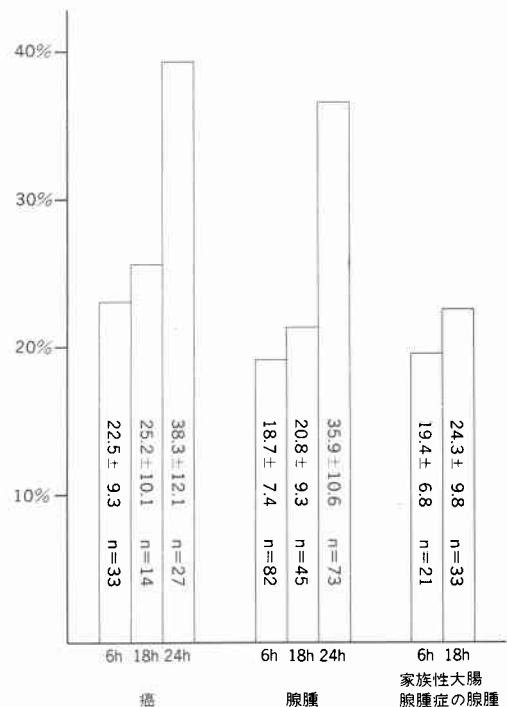
癌腫における最高位標識細胞の部位は腺窩底から表層まで一連となった部位を認めないため測定はできなかった。

移行部粘膜における最高位標識細胞の位置を腺窩の高さに対する比率で見ると、表1および図2に示すように、6時間培養で43%、18時間培養56%、24時間培養82%と培養時間の延長とともに腺窩上方へ移動する。これをヒストグラムで示すと図3のごとく6時間培養後では腺窩上1/3に標識細胞が出現するのは腺窩の12%にすぎないのに対し、24時間後では腺窩の80%で上1/3に標識細胞が認められるようになる。しかし、正常粘膜との差を認めなかった。

ii) 標識率

大腸癌における標識率は図5に示すように6時

図5 大腸癌・大腸腺腫・家族性大腸腺腫症腺腫の標識率



間, 18時間, 24時間培養いずれにおいても正常粘膜に比べて有意に大きい ($P < 0.01$). 移行部粘膜の標識率は図4に示すように各培養時間とも正常粘膜と差を認めない。

iii) 小括

癌腫の標識の分布をみると, 正常粘膜と違って腺窩上方, 表層を中心に認められる。すなわち増殖帯はこの部位を中心に存在している。癌腫の標識率は6時間培養後で22%, 18時間培養後25%, 24時間培養後38%と正常粘膜のそれより有意に高値を示す。

移行部粘膜の腺窩の高さに対する最高位標識細胞の高さの比率および標識率には正常粘膜と差を認めなかったが, 腺窩の高さに各培養時間におけるバラツキが目立った。

写真8 上行結腸腺腫6時間培養後のRadioautogram: 腺窩表層, 上方を中心に標識細胞がみられる ($\times 200$)

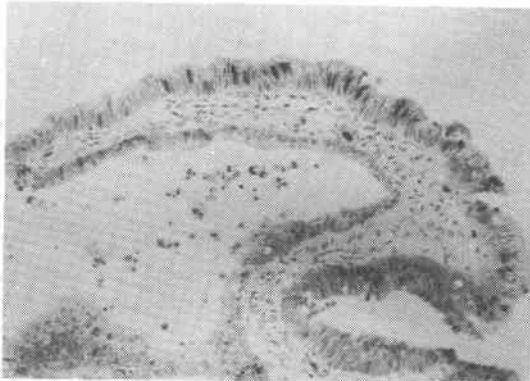
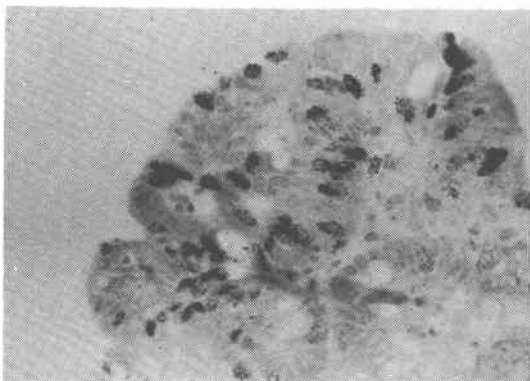


写真9 S状結腸腺腫6時間培養後のRadioautogram: 腺窩表層, 上方に標識細胞が出現している ($\times 400$)



3. 大腸腺腫

i) 標識細胞の分布

腺腫における標識細胞の分布は写真8および9に示すように腺窩表層を中心に認める。腺腫における腺窩の走向は癌と同様に一定せず腺窩高その他の測定は不能であった。

ii) 標識率

腺腫の標識率は図5に示すごとく6時間培養後で18%, 18時間で20%, 24時間で35%であり, 正常粘膜の標識率に比べて有意に高かったが(6時間, 24時間培養で $P < 0.01$, 18時間培養で $P < 0.10$), 癌腫との間には差が認められなかった。

iii) 小括

大腸腺腫における標識細胞の出現部位は癌腫と同様に腺窩上方および表層を中心に認められ, 標識率は6時間培養後18%, 18時間後20%, 24時間後35%であり正常粘膜のそれより有意に高値を示したが, 癌のそれとの間には差をみとめなかった。

4. 家族性大腸腺腫症

i) 腺窩の高さおよび標識細胞の分布

a) 腺窩の高さ

家族性大腸腺腫症の腺腫は前述の癌腫, 腺腫と同様に腺窩底から表層まで連続した腺窩は望めなかった。家族性大腸腺腫症の flat mucosa の腺窩の高さは表1に示すように272~324 μ であり培養時間による変化は認められなかった。

b) 標識細胞の分布

家族性大腸腺腫症の腺腫の標識細胞の分布は前項に述べた大腸腺腫と同様であり, 腺窩上方, 表層を中心に認めた。肉眼的には flat mucosa 様に見える。鏡検下に腺腫様変化を認めた部位での6時間培養後の標識細胞の分布は写真10に示すように腺腫の特徴をそなえている。家族性大腸腺腫症の組織学的に正常粘膜と判定された flat mucosa の標識細胞の分布は, 写真11に示すような6時間培養後で標識細胞が腺窩上方にまで出現している。正常粘膜と同様に腺窩を上中下に3等分し, おおのこの細胞数, 標識細胞数をみると表1に示すように各部位の細胞数には正常粘膜と差は認められないが, 標識細胞が腺窩上1/3に数多く出現している。

c) 最高位標識細胞

腺窩の高さに対する最高位標識細胞の高さの比率は表1および図2に示すように, 6時間培養で74%, 18時間培養で81%, 24時間培養で100%であり正常大腸粘膜に比べて, 6時間培養 ($P < 0.01$) および18時間培養

写真10 家族性大腸腺腫症の腺腫 6時間培養後の Radioautogram: 大腸腺腫同様に腺窩上方・表層を中心に標識細胞がみられる (×200)

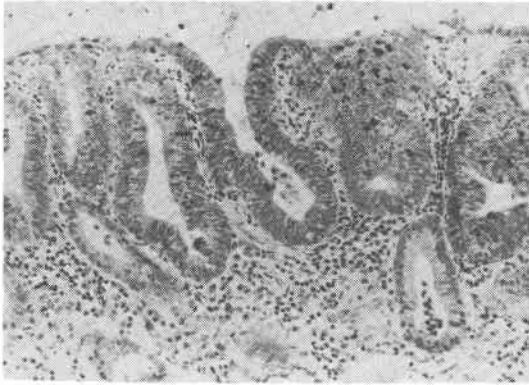


写真11 家族性大腸腺腫症の flat mucosa 6時間培養後の Radioautogram: 正常大腸粘膜となり、腺窩上方にも標識細胞がみられる (×200)



($P < 0.10$) で有意に高値を示した。

さらに図3に示したヒストグラムでは、計測した全腺窩中、6時間培養後では最高位標識細胞が腺窩の下1/3にあったものが8%、中1/3にあったものが17%にみとめられたが、上1/3にみとめられたものが75%を占めており、18時間、24時間培養後では全腺窩で上1/3に標識細胞がみとめられた。

ii) 標識率

家族性大腸腺腫症の腺腫における標識率は図5に示すように6時間培養で19%、18時間培養24%であり、前項に述べた癌、腺腫と差がなかった。flat mucosaの標識率は図3に示すごとく6時間培養13%、18時間16%、24時間19%であり正常粘膜、癌の移行部粘膜の標識率との間に差を認めない。

iv) 小括

家族性大腸腺腫症の腺腫の標識細胞の分布は、癌腫、腺腫と同様に腺窩表層、上方を中心に認め、標識率も癌腫、腺腫と差がない。flat mucosaにおいては、最高位標識細胞の高さは正常粘膜あるいは癌の移行部粘膜に比べて高いが、標識率には差がないことより、増殖帯の位置が正常粘膜あるいは移行部粘膜に比べて腺窩上方までひろがっていることを示唆する。

IV. 考 察

大腸癌の多くは良性腺腸から cancer in adenoma の過程をへて発生するといわれる²⁾³⁾。正常大腸粘膜では腺窩底部に細胞増殖帯があり、ここで増殖した細胞は腺窩上方に移動して成熟細胞となり、表層に達すると死滅して腸管腔に脱落するというサイクルをくり返している⁷⁾⁸⁾⁹⁾。このような細胞動態が大腸腺腫、大腸癌あるいは前癌性病変として知られている家族性大腸腺腫症ではいかに変化しているかを知ることは、腺腫の発生、発癌の機構を解明していく上で意義深いと考えられる。著者はこのことから大腸粘膜の器官培養を行いながら thymidine methyl-³H 連続標識法による radioautogram を作成し、大腸隆起性病変および周辺粘膜の腺窩内細胞動態を正常大腸粘膜のそれと比較検討した。

正常大腸粘膜では、標識細胞は腺窩下方に出現し、培養をつづけると腺窩上方にもみられるようになる。すなわち正常大腸粘膜の細胞増殖帯は腺窩下方にのみみとめられるという Lipkin⁷⁾⁹⁾あるいは Cole⁸⁾の報告をうらづける結果が著者の検討からもえられたが、細胞分裂の速度をあらわす標識率では著者のえた値とこれまでの報告に示された値が必ずしも一致しなかった。すなわち正常大腸粘膜における標識率として、Lipkin⁷⁾は12~18%、Bleiberg¹³⁾は10~18%、今井ら¹¹⁾は8.1%という数字をあげているが、著者の検討では14.0~15.8%であり、今井ら¹¹⁾よりはかなり高く、Lipkin⁷⁾あるいは Bleiberg¹³⁾よりもやや高めの数値がえられた。この理由としては実験方法、培養時間の相異も考えられるが、他の研究者が腺窩全体における全細胞数に対する標識細胞の比率として標識率を出しているのに対し、著者は隆起性病変との比較を行う必要から、松沢⁶⁾のいうごとく、全分裂細胞に対する標識細胞の比率、すなわち主たる増殖帯である腺窩下1/3における全細胞数に対する標識細胞の比率としたことが大きいと考えられる。また、著者の検討では腺窩の高さ、一定時間培養後の最高位標識細胞の腺窩内に占める位

置、標識率のいずれにも、大腸の各部分における差はみとめられず、腺腫あるいは癌の好発部位と、腺窩内細胞動態には関係のないことも知られた。

大腸癌移行部、すなわち癌に近接する健常粘膜の細胞動態についての報告は少ない。大腸癌移行部粘膜の標識率について Hoffmann¹⁴⁾は13.9~32.1%の値をあげ、今井ら¹¹⁾は正常対照群(8.1%)とほとんど変らなかったと報告している。著者の検討でも、過形成性変化によると思われる腺窩の高さのバラツキを除けば、癌周辺の健常粘膜には細胞動態の特別な変化はみいだせなかった。

大腸癌では標識細胞が腺窩表層を中心に分布し、増殖帯が腺窩表層から上方にわたってみられるという報告¹²⁾は著者の検討でも再確認された。大腸癌における標識率として、Hoffmann¹⁴⁾は13.0~21.7%と対照と変らないか、あるいは低い値をあげ、Lieb¹²⁾も4.5~26.5%と大きなバラツキがあるが、対照と変らないか、あるいは低い値をあげているのに対し、今井ら¹¹⁾は23.8%と対照よりもいちじるしく高い値を出している。著者の検討では6時間培養後22.5%、18時間培養後25.2%、24時間培養後38.8%と、正常大腸粘膜あるいは移行部粘膜より明らかに高い値がえられ、培養時間が延長するにつれて差は一層顕著となった。今井ら¹¹⁾の報告では癌と正常粘膜の標識率に明らかな差が示されているが、他の報告ではこの差が明らかではないのは、培養時間が著者の検討に比べて短いため、Lieb¹²⁾らの報告にも指摘されているような標識率の同一腫瘍内での部位によるバラツキが十分に平均化されなかったためであろう。

大腸腺腫、家族性大腸腺腫症腺腫でも、多くの報告にみられるような⁸⁾¹¹⁾¹³⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、標識細胞は腺窩表層に多く分布しているとされ、著者の検討でも同様の結果がえられた。大腸腺腫の標識率として Bleiberg¹³⁾は正常粘膜よりも高い18.0~28.7%という値をあげ、今井ら¹¹⁾は正常対照群とあまり変らない9.8%という値をあげている。著者の検討では大腸腺腫、家族性大腸腺腫症腺腫とも癌の標識率と有意差なく、正常大腸粘膜よりはるかに高い標識率を示した。Bleiberg¹³⁾あるいは今井ら¹¹⁾の報告と著者の成績が一致しなかったのは、著者の検討でも大腸腺腫の標識率が培養時間とともに正常大腸粘膜の標識率との差をひろげ、癌の標識率に一致してくることに示されるように、彼らの報告が15~60分という短時間の培養結果にもとづいているのに対し、著者の成績は6~24時間の培養結果に

もとづいているという培養時間の差によるものであらう。

家族性大腸腺腫症とその家族の flat mucosa の細胞動態について、Deschner¹⁷⁾¹⁸⁾あるいはCole⁹⁾は粘膜表層に増殖帯をみとめる腺窩がときおりみられることを指摘し、家族性大腸腺腫症あるいは大腸腺腫は、このように腺窩表面に逆転、移動した細胞増殖帯に腺腫様変化がおこることによって発生すると述べている。しかし著者の検討では家族性大腸腺腫症とその家族の flat mucosa の細胞動態の特徴として培養開始後早期から腺窩上方にも標識細胞が出現し、腺窩における細胞増殖帯の延長のみみられることが明らかにされたが、標識率は正常大腸粘膜と差がなく、Deschner¹⁷⁾¹⁸⁾あるいはCole⁹⁾のこのような細胞増殖帯の逆転、移動はみとめなかった。これらはLane¹⁹⁾あるいは加藤ら²⁰⁾が臨床例の病理組織学的検討から、また服部²¹⁾がマウスの実験大腸癌の radioautography による検討から述べているように、腺腫の発生は最初に細胞増殖帯の延長としてあらわれ、腺窩底部から上方へと延長した細胞増殖帯に腺腫様変化が加わって表層に達した時 single gland adenoma が完成するという説を支持するものである。

V. 総括ならびに結論

大腸癌38例、大腸腺腫32例、家族性大腸腺腫症6例、および家族性大腸腺腫症の家系で大腸に隆起性病変をみとめないもの5例に、対照として健常者10例を加え、手術あるいは内視鏡下生検にてえた大腸粘膜について、6~24時間器官培養を行いながら thymidine-methyl-³H の連続標識法によって radioautography を行い、腺窩内細胞動態の検討を行った結果以下の結論をえた。

1) 正常大腸粘膜では標識細胞は腺窩下方に出現し、時間の経過とともに腺窩上方に移動して行く。正常大腸粘膜では腺窩の高さ、腺窩の高さに対する最高位標識細胞の高さの比率とも大腸の部位による差はみとめられず、標識率では6時間培養で14~15%、18時間培養で16~18%、24時間培養で19~21%であった。

2) 大腸癌では腺窩の上方、表層を中心に標識細胞が分布し、標識率は6時間培養で、22%、18時間培養で25%、24時間培養で38%と正常大腸粘膜に比べ有意に高値を示した。移行部粘膜の細胞動態は正常粘膜と変れるところがなかった。

3) 腺腫でも癌と同様、標識細胞は腺窩の上方、表層を中心に分布し、標識率は6時間で18%、18時間で

20%, 24時間で35%であり, 正常粘膜より有意に高値を示したが, 癌との間には有意の差をみとめなかった。

4) 家族性大腸腺腫症腺腫の細胞動態は大腸腺腫と変るところがなかった。

5) 家族性大腸腺腫症およびその家系の flat mucosa の標識率は正常大腸粘膜と差がなく, 最高位標識細胞の高さが有意に高い。これより細胞増殖帯の延長が考えられた。すなわち, 家族性大腸腺腫症の flat mucosa を腺腫の前段階としてみるならば, 腺腫の発生は細胞増殖帯の腺窩底部から上方向への延長して始まり, これに腺腫内変化が加わって表層に達した時 single gland adenoma として完成すると解釈された。

稿を終るにあたり, 鈴木宏志教授の懇篤なる御指導, 御校閲に深甚なる謝意を表す。また直接御指導をいただいた松本好市講師に感謝する。本論文の要旨は第18回日本消化器外科学会総会において発表した。

文 献

- 1) 平山 雄: 大腸ガンの疫学的変遷と今後の展望, 日臨39: 2006—2016, 1981
- 2) Day, D.W. and Morson, B.C.: The adenoma-carcinoma sequence. In: The pathogenesis of colorectal cancer. Edited by Morson, B.C., W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1978, p58—71
- 3) 武藤徹一郎: 大腸ポリープ, 東京, 南江堂, 1979, p35—42
- 4) Eastwood, G.L. and Trier, J.S.: Organ culture of human rectal mucosa. *Gastroenterology* 64: 375—382, 1973
- 5) Hayashi, T., Yatani, R., Stemmermann, G.N. et al: Pathogenesis of hyperplastic polyps of the colon. A hypothesis based on ultrastructure and in vitro cell kinetics. *Gastroenterology* 66: 347—356, 1974
- 6) 松澤大樹: ラジオオートグラフー手技と応用一, 東京, 朝倉書店, 1969, p130—154
- 7) Lipkin, M., Bell, B. and Sherlock, P.: Cell proliferation kinetics in the gastro-intestinal tract of man. I. Cell renewal in colon and rectum. *J Clin Invest* 42: 767—776, 1963
- 8) Cole, J.W. and Mckalen, A.: Studies on the morphogenesis of adenomatous polyps in the human colon. *Cancer* 16: 998—1002, 1963
- 9) Lipkin, M., Sherlock, P. and Bell, B.: Cell proliferation kinetics in the gastro-intestinal tract of man. II. Cell renewal in stomach, ileum, colon, and rectum. *Gastroenterology* 45: 721—729, 1963
- 10) Deschner, EE. and Lipkin, M.: Study of human rectal epithelial cell in vitro. III. RNA, Protein, and DNA synthesis in polyps and adjacent mucosa. *J Natl Cancer Inst* 44: 175—185, 1970
- 11) 今井 大, 渡辺 晃, 山形敬一: in vitro autoradiography による大腸疾患の細胞動態に関する研究. 胃と腸 11: 751—756, 1976
- 12) Lieb, LM. and Lisco, H.: In vitro uptake of tritiated thymidine by carcinoma of the human colon. *Cancer Res* 26: 733—740, 1966
- 13) Bleiberg, H., Mainguet, P. and Gasand, P.: Cell renewal in familial polyposis: Comparison between polyps and adjacent healthy mucosa. *Gastroenterology* 63: 240—245, 1972
- 14) Hoffman, J. and Post, J.: In vitro studies of DNA synthesis in human normal and tumor cells. *Cancer Res* 27: 898—902, 1967
- 15) Terz, JJ., Curutchet, HP. and Lawrence, W.: Analysis of the cell kinetics of human solid tumors. *Cancer* 28: 1100—1100, 1971
- 16) Deschner, E., Lewis, CM. and Lipkin, M.: In vitro study of human rectal epithelial cells. I. Atypical zone of ^3H -thymidine incorporation in mucosa of multiple polyposis. *J Clin Invest* 42: 1922—1928, 1968
- 17) Deschner, EE., Lipkin, M. and Solomon, C.: Study of human rectal epithelial cells in vitro. II. ^3H -thymidine incorporation into polyps and adjacent mucosa. *J Natl Cancer Inst* 36: 849—857, 1966
- 18) Deschner, EE. and Lipkin, M.: Proliferative patterns in colonic mucosa in familial polyposis. *Cancer* 35: 413—418, 1975
- 19) Lane, N. and Lev, R.: Observations on the origin of adenomatous epithelium of the colon. Serial section studies of minute polyps in familial polyposis. *Cancer* 16: 751—764, 1963
- 20) 加藤 洋, 長廻 紘, 喜納 勇: 大腸 adenoma の発生点—連続切片法による検索—. 日消病会誌 65: 220, 1976
- 21) 服部隆則: 大腸粘膜の動態と大腸癌細胞の回転. 日臨 39: 2032—2037, 1981