

第15回日本産科婦人科学会総会宿題報告

産婦人科領域に於ける組織培養応用の研究

慶応大学医学部産科婦人科学教室

助教授 野 嶽 幸 雄

共 同 研 究 者

田村 昭臈, 鈴木 孝, 富永 敏朗 (旧性 竹村), 山口 光哉, 中川 欽司
 後藤 忠雄, 内山 信行, 中台やす子, 福島 稔, 山岡 完司, 筒井 章夫
 藤巻 京子, 富永 誠子, 後 克和

協 力 者

山田 正篤 (国立予防衛生研究所),
 嶋井 和世 (慶大医学部解剖学教室),
 中沢 恒夫 (慶大医学部神経科教室),
 飯塚 理八 (慶大産婦人科家族計画相談所),

奥村 秀夫 (国立予防衛生研究所),
 豊島 滋 (慶大薬化学研究所),
 富永 淳 (慶大医学部神経科教室),
 栗原 操寿 (慶大産婦人科癌クリニック)

内容目次

序 文

I 実験方法の概要

II トロホプラスト, 正常絨毛, 胎状奇胎, 絨毛上皮腫

III 子宮内膜, 子宮内膜, 妊娠脱落膜, 子宮内膜症

IV 子宮頸部一腔, 頸管, 腔部, 腔

V 癌, 体部癌, 頸癌

VI 培養細胞の放射線変化

VII 単層培養細胞の種々

VIII 細胞内 DNA 測定, 塗抹標本, 組織切片, 培養細胞

IX 染色体, 研究方法, 体細胞 (正常と異常個体), 腫瘍細胞, トロホプラスト, 継代培養細胞

X 孵化鶏卵漿尿膜移植実験

結 語

序 文

細胞はあらゆる生物に共通する構成上の最低の分母であり, このユニットを細分すれば生命の維持と再生の基本的能力は失われるであろう。組織培養は生体なる有機体からこの基本的単位を体外に移住せしめ, 任意の環境に生存を維持させ, 生体内では到底窺い得ない生の動態を単純化されたシステムで追求できる。生き続ける細胞を取扱えることは組織培養の持つ強味でもあり, 臓器から細胞レベルに亘る生命現象を根底から分析し見極めようとする研究には専門分野の如何を問わず体外培養は有用に駆使され得る充分の可能性を有しており, また生体に於けるオルガニゼーションのすべての真相を完全な見透しを以つて把握する期待を寄せ得るであろうことにも強い魅力をもつてであろう。事実いま多方面の領域に於いて, この技術の導入によつて創めて開拓された数多くの問題と実用的価値を生み, その期待は着々と報いられている現状とみて差支えはない。腫瘍学また生殖の生

理・病理についても現在の段階を越えるには培養手段の力を絶対に必要とするであろう。然し組織培養はあくまで1つの実験的研究の技術的手段でありその適用と価値にも自から制約と限界を生ずることにも充分留意すべきである。憶うに臨床分科としても特に新生物と生殖に基礎づけられる産婦人科領域は体外培養材料の豊庫とも云うべきであるのに拘らず, この方面の研究はいままで陽を浴びない断層としてしか映じない。吾々の意図する主眼はこの豊庫を開発し広い領域に役立たせたいことを念願とするに外ならない。今回吾々の研究を宿題報告として採用され発表の機会を与えられた藤森会長並びに日本産婦人科学会の英断に衷心より敬意を表する。本研究は吾々同好の小グループの創意によつて数年間に亘り幾つかの項目につき実験を重ねたもので既往の報告にも看ることの出来ない多くの所見に遭遇した。これ等の所見についてはその解釈に対するドグマの挿入を避け適正な評価を得るためにも出来るだけ即物的な客観的現実感に訴え得る様に表現することを意図し, 別刷として図譜を作製し配布したので参照されることを切望する。本要旨では紙数の制約により総括的概要の記載に止めた。吾々の今回の報告が今後この方面の研究発展の資として役立ち得るなら一同の欣快これに過ぎたことはない。

I 実験方法の概要

組織培養では方法・手技・多岐に亘る条件の細部に及ぶ検討が実験の成否を左右する重要な決め手となるが本稿では一切省略し, 2, 3の点の記載に止める。1. 培養術式: 初代培養 (primary culture) では血漿包埋法 (plasma clot culture) と単層培養 (monolayer culture) とによつた。実験内容の主部は前者による回転ドラム培養によるものである。2. 観察と標本作製: 位相差顕微鏡等による逐時的観察と, 主として Jacobson 氏染色法による染色標本により成績を得た。その他各種

の組織化学的検索を行った。3. 培地: BSS (balanced salt solution) は主として Gey 氏液 (1949) を、血清は馬・仔牛・牛等の各種を供試し、予備実験により選択して使用した。最近では合成培地を使用し特に No. 199 (Morgan, Morton & Pakers), Eagle basal medium(modified for Hele Cell)を好んで供試している。

II トロホブラスト

Trophoblast はその生理的機能が複雑な事のみならず、奇胎・絨腫の様な独特の腫瘍性増殖を来し、少くも細胞水準に於いて緊急に解決されねばならぬ問題が多い。組織培養の応用はこれらの謎に挑戦する恐らく唯一の手段として充分の期待を寄せ得るであろう。たとえばもし trophoblast の細胞株が得られるとしたら如何に広い領域の研究に役立つかは何人も考え及ぶ筈である。絨毛の培養所見については Novak の成書にすらみるべき記載がない。文献を展望するに Zondek は1924年末期胎盤の培養を試み不成功に終り、1926年 Guggisberg, Mayer & Heim 等が古典的手技ながら始めて mesenchym と Langhans (以下Lと略) 型細胞の増殖を記載した。その後 Gey & Johns また Stewart 等は初期絨毛、奇胎等の材料につき培養培地に gonadotropin を証明しL細胞に由来すると述べている。Waltz は奇胎材料を長期培養し gonadotropin の産生を追及し、413日間に亘り培養液をもつてするマウス子宮重量変化に陽性成績を得た。最近本邦でも鮫島、細川等の報告をみる。trophoblastの細胞浮游培養については Thiede (1960), Soma & Hertig (1961) 等の報告があり、epitheloid, spinlde, 多核 giant 等の種々の細胞型が記載され gonadotropin 量の推移、組織化学的検索も行われているが満足すべき成績が得られていない。かくの如く報告に必ずしも乏しくはないがいずれも断片的な内容に止まり論議に成果は伴わぬ結果となつていく。

吾々は正常妊娠週数別、奇胎、絨腫に亘り毎常1症例につき 100～600個の絨毛組織細片を植え可及的長期の観察を行い細胞学的にも dynamic な増殖の動態についてもかなり系統的な成績を得ることができた。主な知見を挙げる。

1 Trophoblast 培養増殖の型: 絨毛培養による trophoblastの増殖展開の基本的な pattern として、発芽 (budding)・開花状増殖 (bloom-like outgrowth)・輪状構成 (ring formation) の別をそれぞれかなりの頻度に認め、この型の分類は妊娠経過、奇胎、絨腫に関連しても意味を有し合理的であることを知った。即ち妊娠週数別培養母組織片数についての成績をまとめた図1・2からみると trophoblast 増殖の全型を含む陽性率は明かに初期(6～12週)に旺盛であるが20週以後から急速に不良となり、輪状構成は初期ほど頻度高く、発芽は8～12週の間が多い。正常絨毛・奇胎・絨腫につき比較すると図3に示す如く培養成功率は正常・奇胎・絨腫の順に低下しているが、このことは培養組織の切断面が trophoblast に当らねば陽性結果を得られないことを物語り、結局培養母組織切断面に於ける活性 trophoblast 細胞群の存在の問題に帰着する。発芽は正常・奇

胎にかなり頻度が高いが絨腫に認め難いのは臨床病理学的見地と対照し興味深い。輪状構成も絨腫に特に少いのは絨腫 trophoblast は散乱増殖の傾向が強くその有する劇しい性格の一端を示すものと思われる。fibroblast の増生が奇胎に最も低いのは当然のことである。これ等正常・奇胎・絨腫 trophoblast 培養成功例の培養液はフリードマン反応陽性を示すが奇胎成績を一括すると図4の如く、反応陽性期間と trophoblast の増殖経過認知の成績と相関の関係があり、現在は薄層クロマトグラフィーを応用し steroid についても検討を進めている。

2 Trophoblast 培養細胞の型: 前述の各 pattern を構成する細胞には cytotrophoblast, syntrophoblast その他 stromal cell も含まれると思われるが従来の文献でも種々の celltype の表現が行われ一定の criteria に欠けている。しかし吾々の実験による正常絨毛の初期・中期・末期また奇胎・絨腫の培養所見を通覧すると細胞型の鑑別はかなり明確に行われ得る。例えば初期絨毛の培養では明かにL型細胞が優位を占め核周囲に halo を伴うものが多く、妊娠経過に伴って syncytium (以下Sと略) 型細胞配列の存在が明確となり末期絨毛ではS型細胞のみ出現し、しかもその増殖能力は極めて不良と判定される所見も多く、組織培養上の所見からも妊娠経過に伴って辿る trophoblast の aging の推移をよく認知できることが知られた。また特に絨腫に於いてL型・S型の別にそれぞれ極めて明確に優勢の増殖を得た所見のあつたことは特記に値する。

3 正常・奇胎・絨腫 trophoblast の培養所見上に於ける差異: これ等3者については 1) 基本的増殖展開の pattern 分類別の出現頻度 2) pattern 別に於ける細胞の配置状態 3) 細胞の形態の3点につき顕著な差異を指摘し得た。1)については1の項に言及した。2)発芽・開花・輪状構成のそれぞれに於て正常絨毛培養に際しても所謂 syncytial bud 或は多核巨細胞が屢々遊離散在しこのことから正常 trophoblast そのものが既に遠隔部位に輸送され易いものであることを憶わせるが細胞全般の配列は比較的密集し散乱の傾向は少い。これに比し奇胎では開花・輪状構成ともに極めて細胞散乱の程度は強く位相差顕微鏡下でも細胞の動きは遙に劇しい。絨腫では輪状構成を示すこと少く培養母組織から直接放射状に散乱増殖するものが多い。これ等の所見は組織培養により創めてこれ等細胞の有する性格の一端を捉え得たことを物語るものである。3)培養細胞は組織切片に於けると異り、硝子面に平坦に展開するので形態観察に有利である。培養 trophoblast 細胞は他の組織材料培養細胞と比較し異型性に富み従来の見解に一致する。更に正常・奇胎・絨腫を対比すると後2者の細胞は正常に比し一見して一層異型性の程度は強いと判定される。有糸分体像は正常には極めて少いが奇胎・絨腫ではかなり頻繁に認め得られる。これらの差異は後記の細胞DNA量、染色体核型分析値と相俟ち trophoblast の質的解明に対し新たな重要な知見として評価に値する。

4) 組織化学的検索: 培養細胞については Thiede の

monolayer culture についての報告もみられるが的確な成果が得られていない。吾々の primary culture については正常絨毛・奇胎・絨腫とも上皮性増殖細胞に於ける核周辺部のPAS陽性度は鮮明で halo 或は胞体顆粒の存在部位と一致している。然し切片に於いて Bur, Hertig 等の提唱する如く奇胎に特に濃染すると断言し得るまでの結果を得るに至らなかった。alkaline phosphatase 活性は種々の程度に認められたが細胞鑑別に的確に利用できるまでには至っていない。脂肪染色では Demsey が切片について指摘する様な関係は証明できず、むしろ或る場合では fibroblast に著明な脂肪球の存在を認めた。培養細胞は組織化学的検索の良き対象であると一応は考えられるが、従来の切片に於ける成果をそのまま培養細胞に適用することの妥当性についてはなお多くの問題があると思われる。

III 子宮内膜

1926年 Mayer, Heim 等が初めて子宮内膜の組織培養に着手して以来主なものゝみ挙げて、Cron & Gey, Traut, Azumi, Randall等, Moore, Papanicolaou, Figge, Kullander 等の種々の観点から行われた多くの業績をみる。然し培養法自体の未開、生化学・内分泌学上の制約等により期待に答え得るほどの成果は得られなかったと云い得る。

吾々は増殖期内膜・分泌期内膜・内膜増殖症・萎縮性内膜・ドグラス子宮内膜症・妊娠性脱落膜（それぞれ17・13・7・2・1・3症例）につき1症例平均100個の組織細片をprimary culture により4～5週間観察し、総ての症例を通じ約75%に良好な膜様増殖の展開を認めた。

1 基本的増殖の pattern: 増殖期内膜の培養に最も典型的所見をみる。増殖所見は概して一様で移植母組織を中心として sheet 状に旺盛な細胞膜の増殖展開を示すが大部分は移植片の腺構造切断面より展開する polygonal の上皮性細胞で、培養翌日すでにその展開増殖の開始像をよく認知できる。培養7・8日を経過すると拡大せる sheet 周辺部の上皮性細胞は円形化し濃染、空胞化及び分泌物貯溜像を顕著に示すとともに sheet から游離の傾向をとり或る部では連鎖状、珠数状或は腺に近似の配列をし、漸次中心部に波及する。組織化学的にも著明なPAS陽性反応、acid phosphatase 活性を認める、alkaline phosphatase 活性は細胞内には認めなかった。これ等の所見は明かに増殖期子宮内膜腺上皮由来の増殖細胞が分泌化の機転を示したものと判定される。換言すれば組織切片では窺い得ざる内膜腺由来細胞の細胞レベルに於ける分泌化 (cellular secretory activity) の推移を平面的に詳細に観察することに成功しえたことである。

2 間質性細胞: 上述の分泌化した細胞はやがて硝子面より剥脱し始めそれに伴って spindle-like の細胞の集団的存在が目立つてくる。母組織中心側はむしろ小円形濃染密集的であるが辺縁に及ぶほど明かな紡錘形を示し、また上述の上皮性細胞の分泌化に伴ってこの stromal cell にも興味ある変化が認められる。即ち培養初期

の間質性細胞核のクロマチンは微細で1～2個の核小体また性染色質の存在が明かであるが腺由来上皮細胞の分泌化に伴って細胞質・核ともに肥大しクロマチン顆粒は粗に分散する所見が極めて著しく、progesteron 微量定量法 Hooker-Forbes 法の指標であるマウス子宮内膜間質細胞核の変化と併せ考え注目される所見である。結局子宮内膜を培養して認められる細胞増殖の sheet は腺に由来する円柱上皮系統の細胞と紡錘型間質性細胞との2種類より構成される簡単な組成を示し、培養前期では前者が、後期では後者の存在が優位である。

3 症例別培養所見: 分泌期内膜培養では球形の腺細胞群が連鎖状に珠数状或は格子状に早くから展開するが sheet 状の構成またその細胞学的所見の推移は上述増殖期内膜のそれと原則的には異なる。図5は増殖期及び分泌期内膜培養の4週日に亘る2種細胞増殖の比率を総括した成績で、2種細胞とも分泌期内膜培養群に剥脱の傾向がより早く行われる以外に著しい差はない。また正常の増殖期・分泌期内膜、内膜増殖症、萎縮性内膜の別に sheet 状増殖を得た移植片数に対する成功率と存続の比率は図6に示す如く、萎縮性内膜に成功率は最低であり、増殖期内膜は最高でまた最も長期に維持されている。

4 ホルモン添加の影響: 正常増殖期・分泌期内膜培養に際し、estrogen 10^{-4} ～ 10^{-6} γ, progesteron 10^{-3} ～ 10^{-6} , この両者を10:1の割合の組合せを、培養当日・3～4日の間・7日目・10日目に培地に添加した多数材料の所見を総括すると図7の成績が得られた。この成績を図5・6の無処置成績と比較するに増殖期内膜群では estrogen 添加列は増殖が維持されているが progesteron と、estrogen progesteron 併用添加群では細胞の剥脱は急速化されている。分泌期内膜群ではホルモン添加群はすべて、むしろ増殖維持が促進される傾向が認められ更に検討を要する興味ある所見である。

5 妊娠脱落膜: 正常内膜培養所見と原則的に異なる点はなかった。

6 子宮内膜症: 手術時ドグラス窩に確認された病巣を培養し、全く正常子宮内膜の培養所見と異なる点はなかった。従来“Zytogenes Gewebe”と呼ばれる細胞群は既述の stromal cell そのものゝ集団であることが組織培養上の所見から分析解明された。

IV 子宮頸部一腔, V 癌

子宮は癌の好発部位たるとともに子宮内膜から腔粘膜に至る連続的移行の関係は癌発生の母地を論ずるに当って極めて重要な意義を有し、またその到達し易い位置の関係からも人癌中で最も精密な研究成果が得られている。当然組織培養の応用にも着眼され既に Glatthaar, Moore, Sautham, Goettler, Papanicolaou, Simeckova 等の権威者による業績をみ、Gey による頸癌由来 HeLa 細胞の確立は癌研究に於ける画期的な出来事であった。最近組織診、腔鏡診と並行し培養の意義は益々高く評価され期待を寄せられる点が多い。然し従来の報告はいずれも細胞の増殖力、細胞形態の観察に重点が置かれ、悪性細胞は正常細胞より増殖は速かにまた強く細

胞学的観察に有利な点に見解の一致をみているが、部位別・癌の種類別による増殖の基本的 pattern に及んでまで考慮が払われることはなかつた。尤も腔部に於ては円柱・扁平上皮の交錯・角逐或は炎症その他の機能的変動に制約され、極めて小さな組織を以てする培養に求め得る所見に寄せ得る期待にも自から限度を生ずるであろうし、且またその所見の判定に当つても慎重であらねばならない。吾々は既述の子宮内膜の増殖の基本的 pattern の詳細を知り、順次下方に及ぶ部位別の培養所見を多数例に於ける成績から系統的に整理し、正常から癌に亘る培養上の基本的な幾つかの問題につき些か新しい知見を得、今後の研究の展開に基盤となり得る重要な手掛りを得たと思われる。

1 頸管内膜の培養所見：頸管内膜培養に於ても sheet 状の細胞膜の増殖展開の所見、またその推移は正常子宮内膜のそれと殆んど同一の pattern を示し、著明な cellular secretory activity の像もかなりの頻度に認め得られたことは今日の知見からすれば当然のことと思われる。然し一部の移植片では sheet 周辺の細胞は培養日数の経過とともに細胞の形態、配列ともにむしろ鱗状の傾向が強化された。このことは謂わば頸管内膜の squamous metaplasie が培養によつて露呈された展開像と解釈したい。この所見は正常子宮内膜の培養時には現在までの経験では認め得られない。

2 腔部の培養所見：当然のことながら極めて多彩であつた。同一培養母組織を巡り squamous cell sheet の展開、子宮内膜系統細胞 sheet の展開またそれらの謂わば平面的な円柱・扁平上皮細胞連合乃至は交錯像の所見が認められた。然し全般を通じ子宮内膜腺由来円柱上皮系統の細胞は鱗状細胞に比し増殖展開は優位を示し、子宮内膜系統細胞 sheet の鱗状化生と判定される所見の出現頻度は頸管内膜に於けるより高く且つ傾向は強化されており、核の大きさも均一である。然しなお一部のものには cellular secretory activity の出現像もかなり認められた。その他に角化細胞の migration による美麗な染色標本も得られ剥脱細胞学上の良き資料となつた。

3 腔粘膜の培養所見：子宮内膜系統、換言すれば円柱上皮系統細胞の sheet は殆んど観られず、squamous cell の増殖はかなり良好で sheet 状の展開のみならず細胞の migration 像も著明であつた。

4 子宮内膜——腔に於ける部位別培養 pattern の総括：子宮内膜から順次腔粘膜に至る部位別に培養した所見につき鑑別し得られる pattern として少くも以下の種類に分類し得ると思われる。1) 子宮内膜腺由来、即ち円柱上皮系統細胞の sheet 状増殖展開、2) に1)の squamous metaplasie 像と判定される所見。3) 扁平上皮系統細胞の sheet 状増殖展開で明かに細胞の形態、配列ともに鱗状の傾向が指摘される所見。4) 謂わば円柱・扁平上皮細胞 sheet の連合の所見。5) 扁平上皮系統細胞の migration の像。6) 線維芽細胞乃至は間質性細胞の増殖像のみの像の6種となり、この判別はかなり明確でさほど困難ではない。通常吾々は1症例につき最少30個、多いときは200～300

個の組織細片を培養するが、それらの個数に就ての培養成功率と得られる所見の鑑別及びその所見分類比率を、吾々が手技・方法・条件に不馴れのときから現在までを含めての成績を総括すると表1の結果となる。現在吾々の得ている上皮性細胞培養成功率は子宮内膜90%以上、頸管内膜60%、腔部40%、腔粘膜20%となつていたので第1表の成績は将来多少の補正を要するであろうが全般的傾向として結論される点は、1) 子宮の上位から下部に下る部位に従つて上皮性細胞の増殖展開率は低下し逆に結合織性細胞が増殖し易い。2) 子宮内膜腺由来円柱上皮系統細胞の増殖 sheet に於ける squamous metaplasie と判定される所見は頸管内膜と腔部培養にかなりの頻度にみられる。3) 腔部培養に最も多彩な所見がみられる。4) 腔粘膜では扁平上皮系統細胞の増殖と剝脱所見が主である等で、将来の研究面に示唆を与える点が多いと思われる。

5 癌（体部癌・頸癌）培養所見の成績の採り方：癌組織細片を培養した場合、生の状態、特に位相差顕微鏡等の観察では培養母組織の周辺に多数の癌細胞の游泳がみられるが染色標本として細胞の存在附着を認めない場合も多い。慎重に固定染色した場合癌細胞の鮮明な migration 像が得られる。この知見は癌細胞の元来有する剝脱性々格からも当然のことと剝脱細胞学上良き資料として評価に値するが、この所見の像は明かに癌細胞の積極的な増殖 sheet と区別される。以下記載の成績は手術剝除或は punch biopsy を材料として培養し汚染や良き染色標本の得られなかつたものを除き、確実に sheet 状とし増殖展開した所見を認知し得たものについての知見である。

6 体部癌培養の所見：供試症例子宮内膜癌4例で汚染の1例を除き3例とも良好な上皮性細胞増殖の sheet を得た。sheet の pattern そのものはすべて正常子宮内膜のそれと全く相似で濃染球形腺細胞の連鎖、偽腺様空隙の形成、平坦な polygonal cell の配列をみ、細胞自体の微細構造の観察にも有利で特に sheet 周辺の展開部に悪性基準が充足され多数の分体像も詳細に認知される。嘗つて Papanicolaou は組織培養は endometrial cancer の最良の診断法となり得ると提唱したが吾々も全く賛意を表したい。

7 頸癌培養の所見：供試44例のうち確実な標本の得られた例は26例である。組織標本で腺癌の1例は上記体部腺癌の培養所見と異なる点はなかつた。注目すべきことに表2に示す如く組織標本が類表皮癌（epidermoid cancer）であつた培養成功例25例のうち、8例に於ける上皮性細胞増殖の sheet は全域が squamous cell のみから構成され細胞学的にも悪性基準は充足されていたが、17例の過半数以上を占める例に於てはすべてその細胞増殖 sheet の pattern は明かに endometrium 様の所見であることに気付かれ、なお周辺の細胞は腺癌培養細胞に比しかなり squamous の傾向を認め得られたものゝあることである。この知見は組織標本上の所見が epidermoid cancer であつても培養されれば、その由来する組織の origin を白日の下に曝露せざるを得なかつたこと

を物語るものと考えざるを得ない。この様な事実は恐らく orthodox な病理学者にもまた組織培養専門家にも着目されていない。組織培養そのものを持つ独特の謂わば潜在的な生物学的分析能力の発現による収獲の1つと見て過言ではないであろう。換言すれば組織培養は癌の組織由来の origin を探求する手段として orthodox な病理学的手法よりは高い次元に位置を占めると云える。

VI 培養細胞の放射線変化

典型的細胞の Radiation Change 像は size increase, multiple nuclei, vacuolization, nuclear change 等により特徴づけられるが、数年前より吾々は独自の立場から He La 細胞その他の株細胞を対照とし X線 ^{60}Co ^{198}Au ^{32}P その他各種制癌剤にもつき定性・定量的に検討し多数の報告、綜説（野嶽：細胞水準に於ける放射線・制癌剤の効果判定の基準私見・産婦の世界、13:1879, 1961.）も行つたが、これ等の知見は放射線生物学的領域の研究に止らず臨床的にも寄与し得る点が多い。今回は正常 trophoblast, 胎状奇胎、子宮頸部材料の primary culture 細胞の ^{60}Co 照射効果像を供覧したが、特に Graham の提唱する Radiation Response, Sensitization Response の良き参考資料となることに言及した。

VII 単層培養細胞の種々

単層細胞培養は現代組織培養では主力が置かれており、virus 乃至は癌の研究でも重要な地位を占めている。吾々が現在本培養法で主力を注いでいるのは人子宮内膜と Trophoblast 細胞である。子宮内膜由来の上皮性細胞は現在約1週間の間隔で継代でき9代に達し、株として確保できる見込みも多く、若し確保できれば世界最初の株として登録されることとなる。trophoblast 細胞は一時14代まで継ぎ得たが事故で失い、現在4代目のものを有する。これ等単層培養細胞は多方面の研究に利用できる万難を排し続行することに努めている。

VIII 細胞内 DNA 測定

核酸は細胞の生活現象の維持に主導的役割を演じ、特にDNAは染色体の本質的構成要素で遺伝情報の担い手として細胞の遺伝的性格を決定する重要な物質である。Watson-Crick の二重螺旋構造論に従えば核1個のDNA量は染色体1組毎にほぼ決つた値をとり細胞分裂に当り正確に倍加され種属特有の一定性が保たれている。悪性腫瘍細胞が正常体細胞の遺伝要素の変化から導かれるものとするれば細胞内DNA量の分析は悪性腫瘍の発生及び生物学的性状の解明に極めて重要な意義を有する。細胞内DNA量定量には Stowell (1942), Pollister & Riss (1947) 等以来、Feulgen 反応による顕微分光測光法が用いられてきた。他方人類染色体分析技術の進歩と相俟ちDNA量測定の意義は臨床領域に於いても急速に重視され、産婦人科領域では子宮癌・卵巣癌等に関する外国文献も最近はかなりみられる。然しこれ等の報告の殆んどすべては組織切片について観察されており、臨床材料の培養細胞につき正確に測定を行つた業績は未だ絶無の現状である。吾々は新たな観点と構想の下に広く産婦人科領域に材料を求め塗抹細胞、組織切片は勿論、

培養細胞の多種に亘り検索し極めて重要な知見を得ている。特に欧米では材料入手に困難な奇胎・絨腫から正常初期妊娠絨毛に亘る Trophoblast の培養細胞を対象とするDNAの測定と、また次項の染色体核型分析にも成功していることと相俟つて絨毛性腫瘍の研究史に新生面を開拓し得たものと信ずる。

1 測定方法：Feulgen 反応で染色された核内 Feulgen DNA 色素量を、Patau (1952), Swift (1953) によつて始められた二波長法 (two wave-length method) を応用した顕微分光測光法で測定し、静止期細胞核1個当りのDNA量相対値を求めた。

二波長法は試料内の物質分布状態が不均一或は不整形の場合に採られる方法である。計算は Mendelsohn (J. Biophysic. Biochem. Cytol. 1958. Vol. 4. No. 4. P. 415) によつた。

2 腔内容塗抹細胞の成績：図(省略)に示す如く1) 正常月経周期例では排卵前期以外は精子の2倍のモードで正常体細胞染色体2倍性に一致し変異の幅は狭い。モード以下の細胞出現頻度は性周期に従い変動し排卵前期に最高、以後減少し月経期に最低となり卵胞期に再び上昇する。モード以上の細胞は月経期と卵胞期初期に少数出現した。2) 妊娠例では前期は2倍性、後期では精子と同一のモードを示し変異の幅は狭い。3) 無排卵周期例では正常周期の排卵前期と類似の分布を示した。4) 卵巣剔除例のモードは2倍性であるが術後3週で正常卵胞期初期と同様の分布を示し、1年後にはモード以下の細胞は減少し、モード以上の細胞が増加し4倍性のものも出現した。これに連日 estrogen 7日間筋注したところ、モード以下の細胞が再び増加しモード以上の細胞は減少し剔除後3週時の分布に類似した。5) 月経閉止期例ではモードも変異の幅もともに卵巣剔除後1年の例と近似した。6) 腔炎例ではモードは2倍性なるも3倍性以上の細胞もかなり認められた。7) Papanicolaou の悪性度分類と対照した成績では Class I~IIIまでのモードは2倍性で変異の幅は狭いがII, IIIでは4倍性細胞も少数出現した。IVとVでは変異の幅は極めて広く8倍性域にも及びIVでは2倍性のモードを有するがVでは4倍性にもモードを示した。

3 組織切片に就ての成績：主として子宮頸部材料を対象とし、粘膜基底層より表層に向い3層に分つて測定し図8の成績を得た。1) 正常上皮では3層ともに分布の幅は狭く、中・下層では約90%の細胞は精子の2倍の値を示しモードは2倍性なるも上層では精子と同一のモードを示した。2) 不穩上皮では3層ともに正常上皮と同様のモードを示したが中・下層では分布の幅が広く4倍性域細胞の出現があつた。3) 上皮内癌では3層ともほぼ同様の分布を示し且つ変異の幅も同様に極めて広く8倍性或はそれ以上の高値を示す細胞もあつた。4) 扁平上皮癌、腺癌例とも変異の幅は8倍性域にも及び広いが、上皮内癌よりはやゝ狭い傾向を示し、4倍性及び8倍性域に比較的明瞭なモードの存在を指摘し得た。

4 培養細胞に就ての成績：培養細胞の測定結果は図

9・10の2群に分けて示す。

1) 図9の成績を総括すると、正常の endometrium 及び endocervix 培養細胞のDNA量分布の幅は比較的狭く精子の2倍値で、このモードは正常体細胞DNAの基本量に一致する。なおモード以上の値を示す細胞もかなり認められ4倍性域にも及ぶが、これ等異数性細胞は少数で、恐らく基本量を有する細胞の細胞分裂に先立つDNA合成に負うものであろう。正常頸部培養による上皮性細胞も以上2者とほぼ同様の分布、モードを示している。Glatthaar分類に準ずる abnormes Epithel 培養細胞についても大体同様の分布・モードを認めるが分布の幅はやゝ広く、4倍性以上の値を示す細胞の出現頻度が上昇の傾向を示すものがあつた。頸癌の例では正常の場合に比し変異の幅は極めて広く大部分は2～8倍性域に属するが、それ以上の値を示すものもかなり存在しモードは明かに正常組織培養細胞群と著しい差異を示している。これは癌細胞に於ける旺盛なDNA合成、染色体異常、異常分裂機構等を反映するものであろう。また子宮頸癌由来の He La 細胞母株においても上記頸癌に於けると略同様の分布状態を示したが4倍性域にモードを認め得る。

2) 図10の成績を総括すると、妊娠初期の培養 trophoblast細胞DNA分布のモードは3倍性域にあり4倍性のものもかなり認められたが2倍性細胞は少数であつた。分布の幅は図9群の正常細胞群のそれよりは広く8倍性域にも及んでいる。この成績は妊娠初期trophoblast細胞の増殖が著しく旺盛なことを示すものであろう。胎状奇胎(破壊性胎状奇胎例を含む)では他の如何なる材料にもまた文献にも看られない知見に遭遇した。4症例いずれも分布の幅は予想外に広くまたモードを示す傾向に乏しい。然し2例に於てはやゝ明瞭なピークを示しているがモードを示す細胞の頻度は正常絨毛 trophoblast細胞に比し遙に低く細胞数の約20%前後である。奇胎の培養 trophoblast細胞についての測定報告は本記載を以て世界の嚆矢となし得るが、蓋しこの様な想像を絶して極端とも見做される知見は前代未聞と云わざるを得ず、勿論既述の奇胎 trophoblast の旺盛な培養所見、形態の異型性、これ等に伴つて行われるであろう活潑なDNA合成、異常分裂また次項に於ける染色体の異常等からも当然の帰結と首肯できるが、また以上の成績は奇胎 trophoblastの細胞学的性格の一端を組織培養により把握し得たとも謂い得る。絨腫の1例では奇胎と異なり変異の幅は著しく狭く正常初期絨毛のそれよりも限局され、3倍性域に明確なモードを示している。以上の如く奇胎と絨腫とではDNA量の測定値にかなり明確な差異の存在が指摘され、組織切片に於ける上皮内癌・癌・正常上皮を比較した場合の成績と酷似する点からも考慮し、上記の成績は絨毛性腫瘍の細胞レベルに於ける問題に意義ある重要な知見である。

IX 染色体

人類染色体研究を巡る永い低迷を打破し、幾多の論争に終止符をうち、新たに人類細胞遺伝学の扉を開いたのは1956年の Tjio & Levan の報告で組織培養の応用に

より創めて達成されたものである。その後、に於ける幾多の業績はこの報告の正しいことを証明し最早人類の正常染色体数が $2n=46$ である事実に関然するところはない。さらに Hungerford 等による末梢血培養法の導入により急速な研究の進展をみ、ここ2、3年に於ける数百の研究報告は人類細胞遺伝学の40年に亘る空白を一挙に充足するかにみえる。今日組織培養の応用は、水処理・押し潰し法・コルヒチン前処理法等の技術的改良と相俟ち染色体研究の基本的手技となつた。臨床部門として各種の成形異常・流産等研究対象の豊富な産婦人科領域に於ては日常診の1つとして採用せらるべき段階に到達しつつあると見て過言ではない。癌研究領域に於ても組織学から細胞水準に辿る必然的な歩みとして核学的研究が1950年当初より実験腫瘍を対象として行われたが今日では人体悪性腫瘍にも及び、特に人体組織培養細胞の染色体異数性変化は細胞の悪性化の機構に関し新たな問題を提起している。吾々は数年来主として産婦人科領域に於ける種々の組織また培養細胞につき *in vivo*, *in vitro* 両面の検索を試みてきたが、*in vitro* の培養環境に於いて惹起されるであろう細胞染色体構成の異変にも深い考慮を払い検索を進めた。特に奇胎・絨腫については、その特異ともみられる培養増殖の所見、細胞DNA量の分布とも対比し染色体レベルに於ける慎重な分析を進めている。染色体分析を必要とする問題は既述の如く極めて多岐に亘るが、その意義の重要なことから結論を導くには慎重であらねばならぬことは勿論である。幾つかの主題につき現在までの吾々の得た知見を以下要約して列挙する。

1 研究方法：吾々の行つている染色体標本作製上の基本的手技は下記の如くで、材料・目的により適宜にこれ等のものを組合わせて実施している。1) 押し潰し法：カバーガラス上より強く押す。効果は染色体の配列の平面化及び相互の離散 2) 水乃至低調液処理法：材料を蒸留水・低調性塩類溶液中に浸す。効果は細胞の膨化・染色体相互の離散傾向の増大 3) コルヒチン処理法： $2 \sim 5 \times 10^{-7}$ Mol を2～6時間作用。効果は分裂中期像の集積、染色体の短縮及び相互の離散傾向の増大、着糸点の明確化 4) 組織培養法：材料により多少異つた方法が採られるが、効果は細胞分裂像の出現、細胞容積の増大と平坦化である。対象とする材料別培養法：i) 組織：各種の培養手技、培養容器を適宜に選択して行い、増殖細胞を目標として検索する ii) 末梢血中の白血球：bacto-phytohemagglutinin M (Difco) を用い静置培養する iii) 骨髓穿刺液：ごく短時間の静置培養。

2 対象材料別染色体分析法の比較優劣：現在までの経験から吾々の見解につき述べる。末梢血中白血球培養法は正常及び異常個体の20例について採用した。通常5～10ccの血液を必要とするも3ccの血液乃至は0.3ccの白血球を含む血液量でも成功し殆んど毎常分析可能な中期核板像を得た。胎児組織の培養の占める役割も重要であるが specimen 入手上の制約がある。骨髓細胞を利用する方法にも手技上の困難を避け難い。末梢血の利用は臨床領域に於ける検索法として最も優れていると考え

られるが欠点として bacto-phytohemagglutinin M の力価が Lot. No. により不定であることと、溶液が長期保存に耐えず高価なことである。具体的に Testicular feminization の1例につき辜丸組織の培養と末梢血培養による詳細な分析成績を示した(表3)。

3 子宮内膜細胞の検索成績: in vivo 体細胞染色体観察には子宮内膜はよき資料であることに着眼し、採取内膜組織そのものにつき分裂中期の核板 109個の分析を行い得た。成績は正常染色体数46を示すもの51.6%でモードをなすが変異細胞も予想外にかなり認められた(図11)。この知見は現在一般に承認されている intraindividual constancy of chromosome numberの概念といささか異なり、子宮内膜に於けるやや inconstant な傾向は、剥脱・再生を反復する組織の特殊的性格の一面を示すものであろう。また吾々は現在子宮内膜上皮性細胞の単層培養継代に成功しているが、本細胞の株化乃至は悪性化の過程にも重要な意義を持つてあろう。

4 婦人性器癌材料の成績: 子宮体癌・頸癌・外陰癌・卵巣癌・腹水癌細胞等ひろく検索を試みた。いずれの場合も染色体数の分布は正常に於けるよりも広く、モードも異なり、症例によつては2つのモードを示すもの、或はモードの存在を指摘し難いものもあつた。これ等の癌症例の stem cell につき詳細な核型分析を行つた結果、正常とは明かに相異なる異常な構造を示す染色体の存在も確認し得た。図12は体癌5症例に於ける成績である。

5 培養株細胞の成績: 頸癌由来の He La 細胞と、正常組織由来の数種の知名な継代培養細胞株の染色体につき種々の条件をも考慮し詳細に検索を行つた。いずれも染色体数のモードは低3倍性~高3倍性で異数性を示し、核型分析上外観的には癌と正常組織由来の別を問わず核型に特に差異は認められなかつた。現在の知見では正常組織由来の細胞も培養世代を重ねる途上、悪性性格を獲得すると謂われているので、継代培養細胞の核型分析は悪性化の機序を少くも形態学的レベルで解明する上に少なからざる意義を持つものである(図13)。

6 胞状奇胎の成績: 奇胎については採取嚢胞壁組織片の直接押し潰し標本及び培養細胞の両者につき検討した。両者の場合とも染色体数のモードは正常の46を示し核型分析上差異を指摘し得なかつた。然し培養細胞については培養日数の経過に伴つて以下記載の様な興味ある知見に遭遇している。即ち培養後約4日頃から同一症例についても移植片別により著しく異なつた所見を示すものゝ存在に気付かれたことである。培養所見上 outgrowth 良好で分体像も多数認知できた多くの移植片の検索では染色体数の2倍性領域の細胞が大部分を占めていたが、これに反し outgrowth も不良で比較的分体像も少なく観察された移植片の多くについては明かな高倍数性細胞と、所謂 endoreduplication の像をかなりの頻度に確認し得た例のあることである。図14・15は奇胎2症例に於けるそれぞれの成績である。

この様な事実が奇胎培養に特殊な現象であるかについては結論できないが、現在まで培養により、移植片別に

より染色体数分布の差異を生ずる知見については着目され問題視されてはいない。今後留意されて然るべき重要な主題であらう。上記の分析された分体像が trophoblast 細胞のそれであることは既述の如く奇胎組織の培養では4日以内に trophoblast 以外の outgrowth が認められず、また結合織性細胞の増殖そのものが極めて不良であることから肯定される。以上の奇胎 trophoblast の染色体核型分析に関する知見と、先に示した培養増殖の pattern, DNA 測定値成績等とは相俟つて現在なお謎の域を出でない trophoblast の持つ怪奇な性格の解明に手掛りとして充分の期待を寄せ得るであらう。

X 孵化鶏卵漿尿膜移植実験

孵化鶏卵漿尿膜 (chorioallantoic membrane, 以下 CAM と略) に動物癌の移植可能なことは1921年創めて Murphyにより報告され、今日では最も単純な in vivo tissue culture の1つの方法となつている。特に virus の研究には特異の地位を占め、CAM上に白斑を形成し外胚葉上皮の増殖を来す多数の virusの種々が挙げられる。私も嘗つて Herpes virus, Vaccinia virus 等の CAM接種の経験を有しその後多くの動物・人体の正常また腫瘍材料の移植を試みた。これ等種々雑多なものを移植し全く相互には無縁とも思われる幾つかの実験から導かれた興味深い吾々の知見につき少しく言及したい。吾々の実験からすると CAMに移植され易いのは多くの動物癌で特に吉田肉腫・腹水肝癌細胞等は滴下により容易に著明な腫瘍を形成する。人体正常組織では稀ながら正常胎盤・子宮内膜に腫瘍形成をみた。子宮癌等の癌材料では成功しなかつたが、He La 細胞では $10^4/cc$ 以上の細胞数の滴下により漸く腫瘍の形成をみた。人体悪性腫瘍では肉腫系統が比較的移植され易かつた。以上の様な CAM上に形成された腫瘍の組織像では移植片或は細胞は、すべて卵膜結合織層内に埋没されて増殖乃至は生存維持されており、CAMそのものゝ内外胚葉上皮には著変を認めず、認め得られてもその所見は既往文献 (Burnet, Goulstone et al, Covell, Smith et al, Goldsworthy & Moppett, D'Aunoy, Wyler, 釜洞等) 記載の域を出でないものであつた。然るに胞状奇胎、絨毛上皮腫組織片移植を試み以上の成績と比較し、CAM上に形成される腫瘍の出現頻度が胎盤や子宮内膜等の場合に比し遙に高率なこと、及びその組織像の所見が既述の像と極めて異なる点に気付かれた。即ち組織像の所見は奇胎・絨毛の場合とも移植片は CAM結合織層内で壊死化或は消失するが、これとは全く相隔つた部位の内・外胚葉上皮及びこれに接する結合織を含む限局性の極めて顕著な旺盛な異型の増殖を示し、恰も癌の初期像を彷彿せしめ、また Keogh, Rubin 等の報告にみられる Rous sarcoma virus の CAM腫瘍乃至は foci に於ける像よりも一層劇しいと判定されることである。しかも単に CAM腫瘍の形成は組織片の移植に止らず、これ等材料のザイツ濾過液、高速超遠心分画液の滴下により更に高い頻度に出現することを確認し得た。この様な知見は私の過去、万を越える卵数につき行つた種々の実験に決して看られない出来事である。以上の様な CAM

図 1

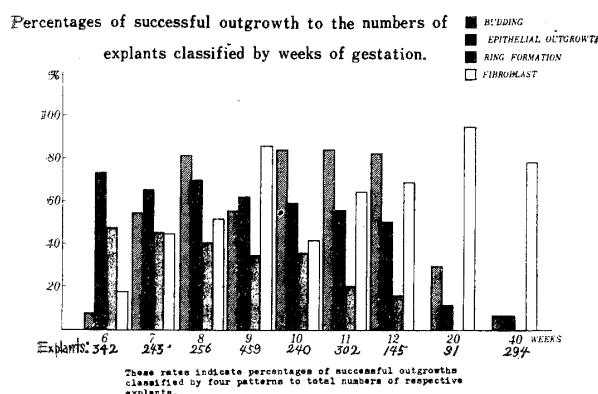


図 4

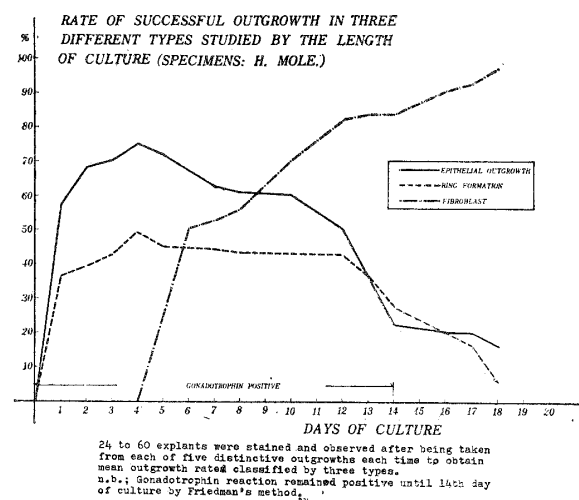


図 2

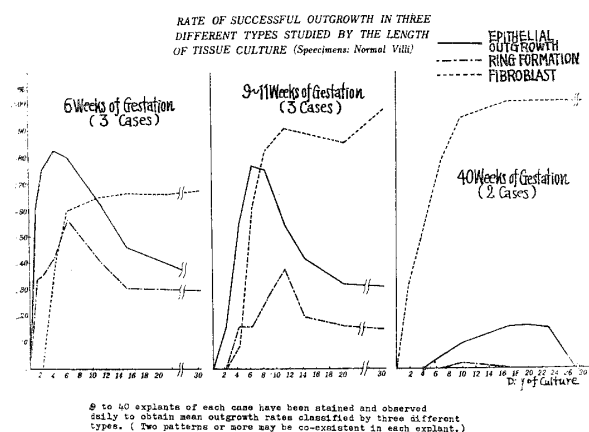


図 5

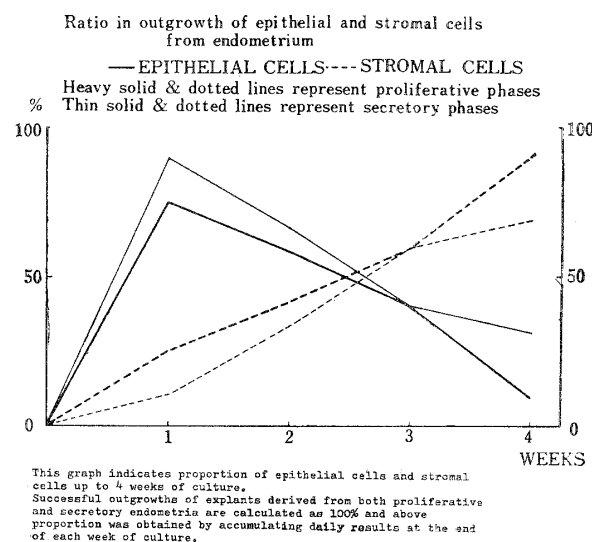


図 3

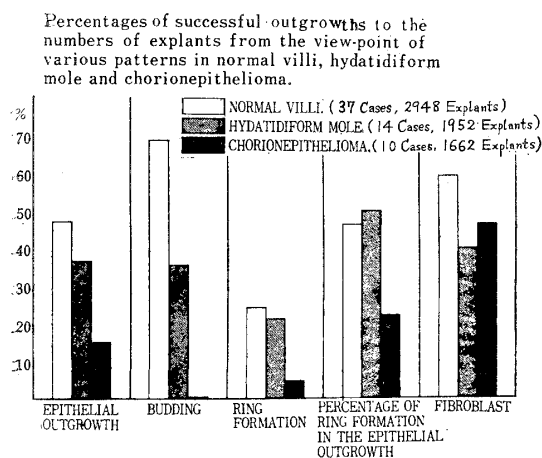
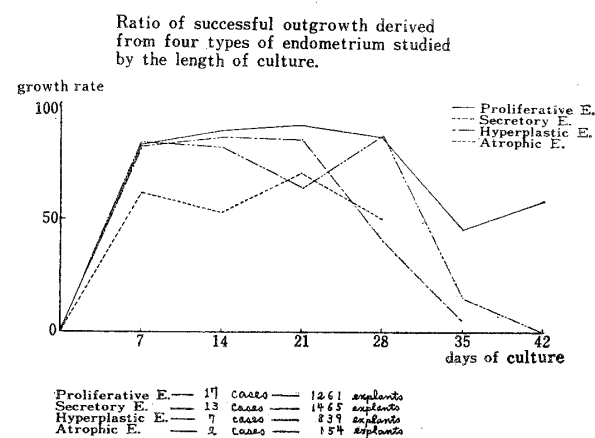


図 6

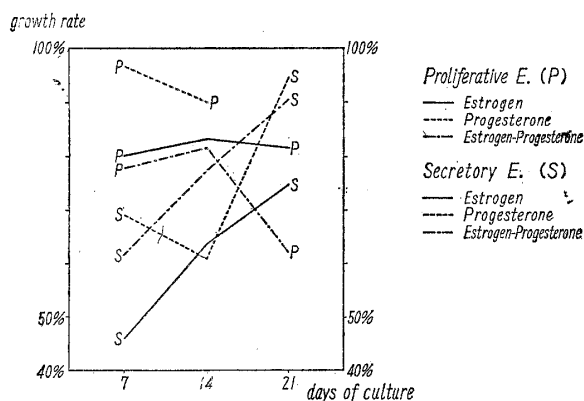


昭和38年7月20日

野 嶽

703—41

図 7



Three different preparations are made:

- 1) Estrogen 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} μ /ml.
- 2) Progesterone 10^{-3} , 10^{-4} and 10^{-5} μ /ml.
- 3) Estrogen-Progesterone with the ratio of 1:10. (i.e., estrogen- 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} μ /ml. are mixed with progesterone 10^{-3} , 10^{-4} and 10^{-5} μ /ml. respectively).

Specimens are cultured for 4 to 10 days in ordinary media and then transferred to above mentioned hormone-added media up to 21 days.

This graph indicates various growth rates of both proliferative and secretory endometria by three different hormone-added media. These rates are obtained by accumulating daily results at the end of each week.

図 8

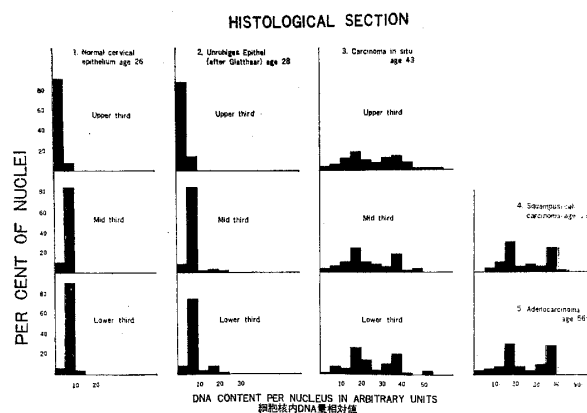
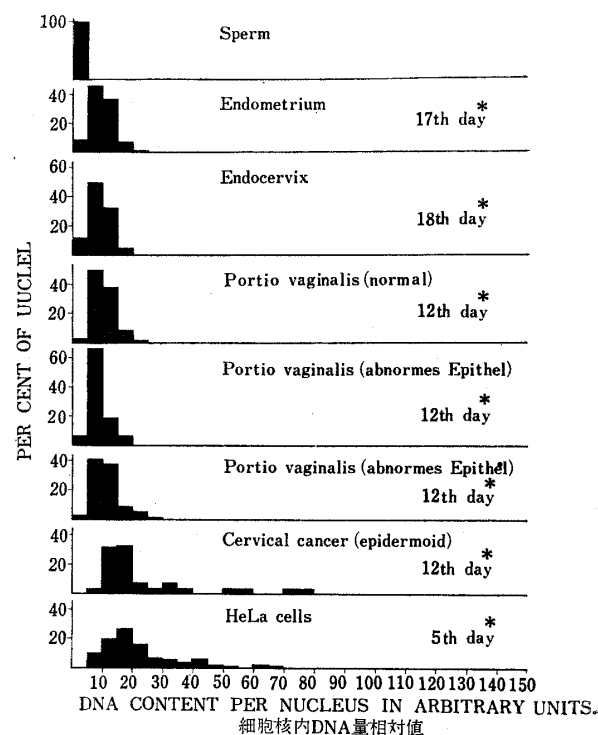


図 9

TISSUE CULTURE CELLS



* day of culture

表 1

VARIETIES OF GROWTH PATTERNS CLASSIFIED BY ORIGINAL SITES OF SPECIMENS.

Specimen		Endometrium (EXPLANTS 3719)	Endocervix (EXPLANTS 647)	Portio (EXPLANTS 1906)	Vagina (EXPLANTS 261)
Epithelial Outgrowth	CELLULAR OUTGROWTH OF SUBSTITUTED EPITHELIUM	64.0%	37.7%	11.8%	0
	PRESUMABLE SQUAMOUS METAPLASIA	0	7.4%	2.9%	0
	"SC JUNCTION" OBSERVED BY TISSUE CELL OUTGROWTH	0	0	2.1%	0
	Squamous cell outgrowth	0	0	15.1%	13.0%
	Total	64.0%	45.1%	31.9%	13.0%
STROMAL OR FIBROBLAST CELLS ONLY		11.2%	13.0%	14.2%	19.1%
MIGRATION OF EXPLANT CELLS		0	0	5.1%	8.4%
No migration or outgrowth		24.8%	41.9%	48.8%	59.5%

Each figure represents percentage of particular growth pattern illustrated by 7 different markings to the total number of explants whose mother tissues did not fall out of plasmat.

Migrations of explanted cells were only noted in the culture of both portio and vagina and they were co-existent with various growth patterns. Therefore, it is well understood that their percentage were calculated independently from those of both epithelial and stromal outgrowths.

表 2

Tissue culture of cervical and endometrial cancer

Relation between their original histological diagnosis and subsequent outgrowth patterns.

(Observation done upon specimens with marked epithelial outgrowths only.)

CLINICAL DIAGNOSIS	CASES	OUTGROWTH PATTERNS	CASES
CERVICAL CA. (PORTIO VAG. & ENDOCERVIX)	EPIDERMOID CA.	ENDOMETRIUM-LIKE	17
		SQUAMOUS CELL	8
	ADENO-CA.	ENDOMETRIUM-LIKE	1
ENDOMETRIAL CA.	ADENO-CA.	ENDOMETRIUM-LIKE	3

図 10

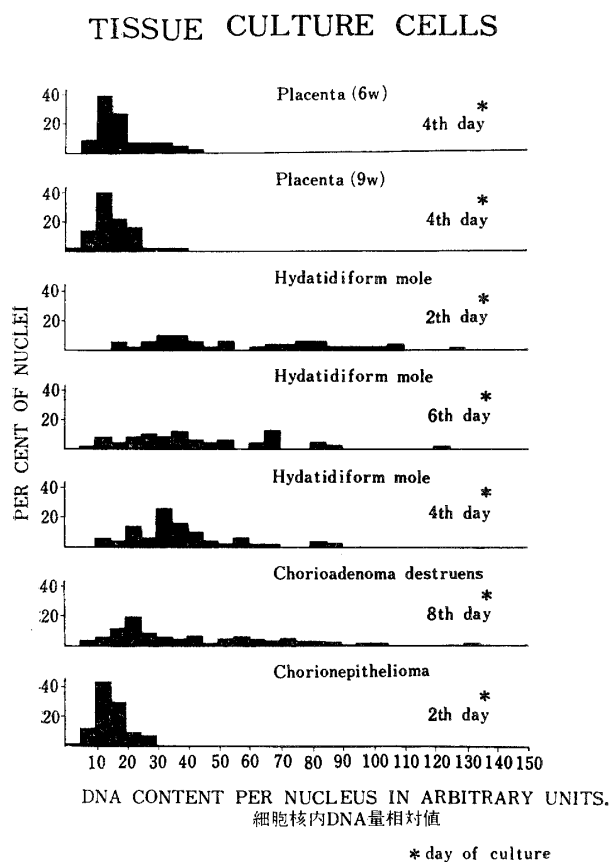


表 3

CHROMOSOME NUMBERS IN CASE M.H. (Testicular feminization)

MATERIALS OF CULTURE	DAYS OF CULTURE	CHROMOSOME NUMBER			TOTAL CELLS OBSERVED	SEX CHROMOSOMES
		45	46	47		
BLOOD	3	3	37	3	43	XY
TESTIS	25	0	7	0	7	XY

図 11

CHROMOSOME NUMBERS in CELLS of NORMAL HUMAN ENDOMETRIUM

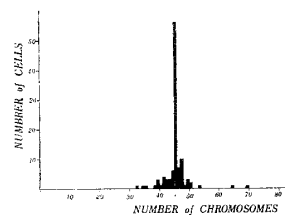


図 12

HISTOGRAM SHOWING THE DISTRIBUTION of CHROMOSOME NUMBERS in 5 CASES of ENDOMETRIAL CARCINOMA

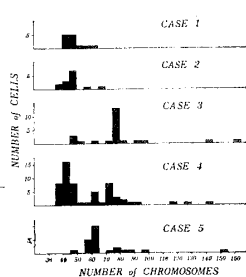


図 13

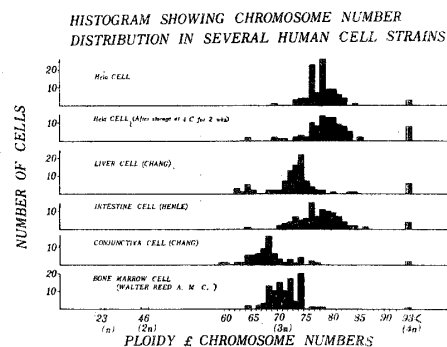


図 14

DISTRIBUTION OF CHROMOSOME NUMBERS in HYDATIDIFORM MOLE.

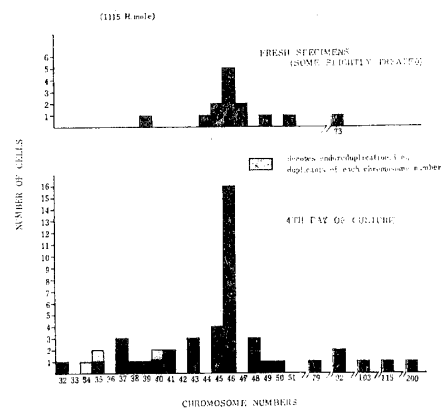
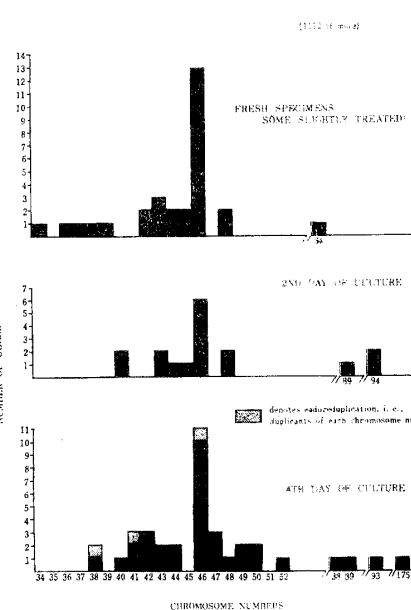


図 15

DISTRIBUTION OF CHROMOSOME NUMBERS in HYDATIDIFORM MOLE.



昭和38年7月20日

野 嶽

705—43

腫瘍の形成と組織学的異型増殖像は現在までの供試症例、奇胎32、絨腫5症例の全例に於いて、CAM腫瘍出現頻度には多少の差はあれ確認されている。以下胞状奇胎につきCAM腫瘍を指標として進めた幾つかの実験成績を列挙する。

1 奇胎囊胞内容液のみの滴下でもCAM腫瘍が出現する。

2 奇胎材料超高速遠心で20,000回転では沈澱せず、40,000回転で沈澱する分画部の接種でCAM腫瘍が最も高率に出現する。

3 この分画部の 10^{-6} 稀釈液溶接でもCAM腫瘍が生ずる。

4 この因子はCAMからCAMに植え継ぎが可能で今日まで14代に亘って継代に成功している。

5 部分精製したこの因子を家兎に注射して中和抗体を生ずる。

6 この因子は直径 $10\text{m}\mu$ のmillipore filterを通らないが、 $50\text{m}\mu$ のそれを通ることから粒子直径は $50\text{m}\mu \sim 10\text{m}\mu$ の間の大きさで、現在確認されている各種virusの大きさの範囲からみても小さいorderに属する。

これ等の成績から胞状奇胎には濾過性 transmissible agent の存在が想定されたので昨年10月の第10回日本ウイルス学会総会に発表した。つまり私は奇胎・絨腫には謂わば孵化卵の胎盤に相当するCAMに親和性を有しCAM細胞の異型的増殖を来し tumor を形成する濾過性 transmissible agent が存在し、これが奇胎・絨腫の成因に関与するであろうとの想定に到達し現在は専門家の協力を得て各種の実験を進めている。

結 語

組織培養の方法・技術・条件については今日なお多く

の困難な問題が多い。然し吾々は経験的に幾つかの障壁を克服し、特殊の点では僥倖にも恵まれたとも謂えるゴツを会得し得て既往の多くの報告にも看不れた数々の新知見を得ることに成功した。捉え得る現象は *in vitro* の世界の出来事ではあつても、これらの知見から派生する無数の魅力的な新しい主題は目前にあり、むしろ吾々はそのスタートラインに並んだことを強く意識する。そして恐らく日本人はこの種の作業に最も適性を有するであろうこと、且つまた trophoblast に於ける好く貴重な材料の入手にも恵まれていることを強調し、今後一層この方面の研究に努力することを期したい。

終りに臨み、極微の世界への開眼を小林六造名誉教授、臨床家としての典型的姿態を安藤画一名誉教授・故中島精教授に学び得たことは私の無上の光栄と幸福である。この研究の端緒と造型は三恩師の日頃の御薫陶の影響のもとに自から醸成されたものである。そしてまた現坂倉教授、教室同窓会諸兄の多大な御支援により作業の進捗を図り得たことに対し、共同研究者・協力者一同とともに深甚な謝意を表する。なお北海道大学理学部・牧野佐二郎教授、千葉県血清研究所長・越後貫博博士、慶応大学薬化学研究所・上田武雄教授、慶応大学医学部・牛場大蔵教授、国立家畜衛生研究所・星修三博士、国立予防衛生研究室所・勝田甫博士の永年に亘る御厚誼と御助言を得た。また多大の御厚意と御援助を寄せられた日本電気株式会社、明治製菓株式会社、オリムパス光学工業株式会社、塩野義、三共、武田、帝国臓器、大日本製薬、台糖ファイザー、日本ヘキスト、住友、第一、日本ブラッドバンク、その他多数の会社関係に厚く謝意を表する。なお本研究の一部は文部省科学研究費によつた。

野 嶽 助 教 授 へ の 謝 辞

座 長 中 山 栄 之 助

生理、病理の研究にあつて、生体の機能を考える場合、生化学的検索と相俟つて病理組織の研究があり、特に組織培養による検索は生体内における変化を推定するに最も適したものであることはいうまでもないが、その方法においては困難さがいわれてきた。

演者はこの点について広い基礎的研究によつて、その成果を得られたことは敬服のほかはない。しかも、これを応用しての我が領域における悪性腫瘍の検索は、その悪性変化の推移に明快な解答を与えたということができ、さらにDNEなど悪性腫瘍細胞核の機能にまで研究を進められ

たことは悪性腫瘍発育の問題に関連して、此の後の研究に大いに参考になるであろうと確信するものであります。思えば、私の仲よしであつた故内藤勝利教授が長崎大学に就任した時子宮癌の組織培養によつて癌の本態をきわめんとして努力し初めた事を、こゝであらためて思い起すのであります。彼は不幸にして原爆によつてこの世を去つたが、学問は亡びず今こゝに野嶽助教授によつて、組織培養の研究が発表されたことをうかがい、人死しても学亡びずの感を深くし、友人を偲ぶと共にこゝにあらためて感謝の意を表する次第です。