



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Studies on ossification in 5,6-dimethoxysterigmatocystin-induced osteosarcoma(内容の要旨(Summary))
Author(s)	Kyu Kyu Swe Win
Report No.(Doctoral Degree)	博士（医学）甲 第273号
Issue Date	1994-03-16
Type	博士論文
Version	
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/14855

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（本籍）	Kyu Kyu Swe Win（ミャンマー）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	甲第 273 号
学位授与日付	平成 6 年 3 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Studies on ossification in 5,6-dimethoxysterigmatocystin-induced osteosarcoma
審査委員	（主査）教授 岡 伸 光 （副査）教授 松 永 隆 信 教授 森 秀 樹

論文内容の要旨

骨形成は、既存の結合組織と置換されて作られていくが、胎生期には結合組織中の未分化間葉系細胞が骨芽細胞に分化して骨組織を作る膜内化骨intramembranous ossificationと既存の軟骨支柱内に骨が形成される軟骨内化骨enchondral ossificationが区別されている。この中胚葉由来の未分化間葉系の細胞は、まず骨原性と血液原性の間葉系細胞に分かれ、骨原性の細胞からは軟骨細胞chondroblastと骨芽細胞osteoblast、骨細胞osteocyteの3種に分化し、血液原性細胞からは血液幹細胞、マクロファージと顆粒球の前駆細胞を経てマクロファージが分化し、それが融合して破骨細胞osteoclastが作られると考えられている。

今回5,6-dimethoxysterigmatocystin(DMSC)で誘発されたosteosarcomaにおける骨形成について細胞の分化過程、形態的变化ならびに化骨過程について検索を行った。

実験材料と方法

DMSCで誘発されたF344ラットの背部の骨肉腫（本学第一病理学講座で作られた腫瘍）を細片（ $0.2 \pm 0.05g$ ）し、同系の生後4週目の正常雄ラット25匹の背部皮下に移植した。移植後2, 3, 4, 5, 6週目にそれぞれ屠殺した。

継代は59代目のものでこれを5群に分けて以下の項目について観察を行った。1.肉眼的変化、ならびに組織学的、組織化学的、免疫組織化学的観察、2.TEMおよびSEMによる観察、3.AgNOR染色による観察

結果

1. 肉眼的には腫瘍は、結合組織で被覆されており、漸次腫瘍細胞の増殖による増大がみられ、6週目の切断面では、中心部は灰白色の石灰化した腫瘤塊で一部壊死、溶解した部分もみられ、周辺部は軟らかく腫瘍細胞の増殖層が観察された。体重と腫瘍増大との関係では5週目までは並行して増加したが、6週目からは体重の減少が著明となり逆に腫瘍は増大した。

組織学的ならびに免疫組織化学的所見として、HE染色では移植後2週目新生骨芽細胞、紡錘形の線維芽細胞様細胞がみられ、大きさ形態ともに種々の多種類の細胞や、核分裂像がみられた。また多核巨細胞も出現していた。3週目でははじめて石灰化部分がみられ、軟骨細胞も出現していた。4週目では石灰化部位が拡大しており、骨芽細胞様細胞からのosteoidの形成がみられた。5週目では石灰化部位には小骨梁間に血管の豊富な海綿骨様の骨形成がみられた。6週目では小骨梁の形成部が著明に増加しているのがみられた。またosteoid周辺に異形の円形細胞がみられ、腫瘍細胞から誘発された類骨基質、および石灰化組織を網状に形成し、中心部は正常な骨組織の形成像がみられた。

von Kossa染色では、3週目から暗褐色から黒色に染色された部分がみられ、カルシウムの集積がみられるようになった。コラーゲン染色ではSirius redで行った所見ではコラーゲン染色は赤紫色に染色され、免疫抗体法

ではtype Iのコラーゲンが著明に染色され、type II, type IIIは染色されなかった。

2. 走査型電子顕微鏡所見では、1~3 μ m径の球状の石灰化物が網状に走行しているコラーゲン線維に沿ってみられた。3~6週後にはコラーゲン線維網が密となり石灰化物も密に沈着しているのが観察された。超薄切片での所見では、3週目にmatrix vesiclesと考えられる石灰化塊が細胞外基質にみられ、またコラーゲン線維の延長がみられた。

3. AgNORs(Silver stain for Nucleolar Organizer Regions)所見では、2~6週に至る各段階とも腫瘍細胞内の核内には多数の銀粒子が認められ、この骨肉腫細胞は活発な分裂増殖能を有していることが判明した。

考察

腫瘍は移植後、5週目まで体重の増加に並行して増殖がみられ、6週後からは体重の減少にもかかわらず腫瘍が増殖している事については、本腫瘍が悪性像の高い腫瘍であることを示していることが考えられる。

腫瘍内での化骨機転については、まず移植後2週目頃に腫瘍中心部の細胞が線維芽細胞様細胞に分化する細胞と軟骨細胞、骨芽細胞様細胞に分化する細胞が同時期に分化出現し、また多核巨細胞も出現する。その他紡錘形、星状形の大小種々の細胞が多くみられるが、その細胞機能は不明である。このような細胞の中に明らかな骨基質と考えられる分泌細胞が、集団的に増殖し類骨の形成が始まっていることが示された。一方軟骨細胞様細胞もあり、軟骨基質の形成と思われる部分も認められるが、移植後3~4週目ではこれらの基質部は殆どみられず、骨芽細胞様細胞が分泌した基質に類骨様組織がみられ、同部位から化骨が起こっていることが認められた。したがって本腫瘍の化骨機転として重要な所見は、骨芽細胞様細胞に分化した細胞により化骨が起こる直接性化骨が優先していることが考えられた。それは、von Kossa染色により骨芽細胞様細胞周辺の基質が濃染していることからカルシウムが同部位に高濃度に集積している所見からもうかがえる。最も特徴的な所見としては、この基質の免疫抗体染色でコラーゲンtype Iのみに染色性がみられ、type II, type IIIには染色されなかった所見で軟骨内化骨が否定的であったことである。

骨組織は、はじめ小骨梁の形成から海綿骨様に成熟し、次第に骨密度が高くなり最終的にはかなり高度に石灰化した緻密骨となることについては、SEM, TEM,の所見から骨基質の線維上にはじめは球状の石灰化粒が沈着し、これが隣り合った石灰化粒と融合しあって増大していることから、球状石灰化が起こっているものと考えられた。この石灰化粒の形成は、骨芽細胞様細胞から分泌された基質小胞(matrix vesicles)に由来するものと考えられる。経時的石灰化が亢進し、高密度の骨組織となることについては、正常な骨組織には必ず出現する破骨細胞の出現が殆どみられないことから、骨の改造(remodeling)が殆ど行われず、一方的に骨形成のみが進行することによって考えられ、このことが正常骨組織の形成と腫瘍細胞からの骨形成機序が大きく相違する点と考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者 Kyu Kyu Swe Winは、DMSC誘発骨肉腫における化骨機転について各種組織学的検査法によって、同骨肉腫細胞が骨芽細胞様細胞に分化し、同細胞による基質形成と基質小胞からの球状石灰化により骨形成が起こること、さらに破骨細胞による骨改造が行われないことがその特徴であることを明らかにした。本研究は、病的化骨現象を研究する上で重要な所見であり、口腔外科学ならびに整形外科の進歩に寄与するところ大であると認める。

[主論文公表誌]

Studies on ossification in 5,6-dimethoxysterigmatocystin-induced osteosarcoma

岐阜大医紀 42(2):掲載予定 1994