

氏名・(本籍)	道谷弘之(北海道)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	乙 第11号
学位授与の日付	平成5年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(論文博士)
学位論文題目	ラット唾液腺腫瘍発生に関する免疫組織化学的研究 —とくにDMBA誘発ラット顎下腺腫瘍発生過程におけるBrdU標識率, ケラチンおよびS-100蛋白の局在について—
論文審査委員	主査 教授 金澤正昭 副査 教授 武田正子 副査 教授 賀来 亨

## 論文内容の要旨

### 緒言

ヒト唾液腺にみられる上皮性悪性腫瘍には、粘表皮癌・腺房細胞癌・腺様嚢胞癌・腺癌・未分化癌・多形性腺腫内癌などがあるが、これらの癌腫の多くは、口腔粘膜由来の扁平上皮癌に比して、放射線治療や化学療法に対する感受性が低い。そこで、唾液腺由来の癌腫の診断および治療法の研究・開発の目的で、これらの腫瘍が高率に得られる発癌実験系の確立が望まれるが、現状では見い出されていない。

マウス・ラットなど齧歯類の唾液腺に腫瘍を発生させる試みは古くより行われ、これまでに多数の報告があるが、得られる腫瘍は、上皮性の腫瘍では、その多くが扁平上皮癌とされている。しかし、腫瘍中に腺組織の性格を示す部分もみられるといわれており、稀に腺癌を生じたという報告もある。これらの唾液腺腫瘍の発生母地は、主に導管系の細胞であるとされているが、線状部導管であるとするもの、介在部導管であるとするもの、顆粒管であるとするものなど種々の意見があり、その由来に関しては未だ定説がない。

著者は、9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene(以下DMBAと略す)をラット顎下腺局所に投与することによって腫瘍の発生を試み、とくに上皮性腫瘍について、免疫組織化学的手法により、腫瘍発生過程および発生腫瘍におけるBrdU標識率の推移、ケラチンおよびS-100蛋白の局在を観察し、唾液腺腫瘍の組織発生に関して考察

した。

### 材料および方法

Wistar系雄性ラット(6-7週齢)を用い、手術的に顎下腺を露出して、顎下腺内にDMBAペレットを埋入し、腫瘍発生を試みた。DMBA投与後より30週まで経時的に観察を行い、S期細胞を標識する目的で、組織摘出1時間前にBrdU25mg/kgを腹腔内に投与し、顎下腺ないし発生腫瘍を摘出した。摘出した組織は、直ちにカルノア固定を行い、通法にしたがって厚さ4 $\mu$ mのパラフィン包埋切片を作製して免疫組織学的検索に供した。

免疫組織化学染色は、抗BrdUモノクローナル抗体、抗ケラチン抗体3種、すなわち、抗ケラチンポリクローナル抗体Z622、抗サイトケラチンモノクローナル抗体PKK1、抗サイトケラチンモノクローナル抗体KL1、および抗S-100蛋白ポリクローナル抗体Z311を1次抗体としてavidin-biotin-peroxidase complex法にて行い、腫瘍発生過程について、S期細胞のBrdU標識率の推移、ケラチンおよびS-100蛋白の局在とその変化を観察した。また、発生腫瘍中のムコ多糖の局在を同定するために、アルシアンブルー-PAS染色を併せて行った。

### 結果

#### 1. 腫瘍発生過程における組織学的変化

DMBAペレット周囲の腺組織は早期に壊死に陥るとともに、集合管上皮および壊死組織中に残存した介在部

と思われる小導管が2～3週で扁平上皮化生をきたし増殖した。扁平上皮化生をきたした上皮は、3～4週にかけてペレットの周囲に増殖し、8週にはペレットを取り囲む類表皮嚢胞を形成した。嚢胞上皮は、上皮の肥厚・乳頭状増殖を経て15週から30週で浸潤性増殖に至り、癌化した。

発生腫瘍は多くが扁平上皮癌で占められていたが、一部には、管腔形成を伴い、上皮内にPAS陽性の細胞を有する腺癌の像を呈する部分も認められた。

## 2. 腫瘍発生過程におけるBrdU標識率

BrdU標識率は、DMBA投与後1～3週の初期において、集合管基底層と介在部導管で顕著に上昇した。また、扁平上皮化生をきたした上皮の標識率は、嚢胞を形成する3～15週にかけて上昇が認められた。15～30週にみられた嚢胞壁・乳頭状増殖部・扁平上皮癌部・腺癌部の比較では、扁平上皮癌部で最も標識率が高く、ついで乳頭状増殖部・嚢胞壁・腺癌部の順であった。

## 3. ラット正常顎下腺におけるケラチンおよびS-100蛋白の局在

ラット正常顎下腺では、Z622は集合管・線条部導管・顆粒管・介在部導管・腺房、筋上皮細胞と広い範囲に陽性像を呈した。PKK1は集合管の管腔側の円柱上皮と介在部導管で陽性で、線条部・顆粒管・線房でも弱い陽性像が認められた。KL1は腺房の一部に弱い陽性像を示す以外陰性であった。S-100蛋白は、集合管・線条部導管・顆粒管に陽性で、介在部導管にも一部弱い陽性像が認められた。

## 4. 腫瘍発生過程におけるケラチンおよびS-100蛋白の局在

発癌過程で増殖した集合管と壊死組織中の介在部類似の小導管では、扁平上皮化生の過程でPKK1が陰性化し、KL1では逆に陽性像を呈した。Z622では、全ての上皮細胞で陽性であった。S-100蛋白では、顆粒管由来と思われる比較的大きな導管様構造で陽性像を呈していたが、介在部類似の小導管では弱陽性ないし陰性であった。

形成された類表皮嚢胞では、角化傾向の強い部分や嚢胞壁の乳頭状増殖部で、KL1およびS-100蛋白が基底層を除く上皮上層に陽性であったが、PKK1は角化層のみに陽性を示した。嚢胞の角化を欠いた部分では、PKK1は内腔側の細胞に陽性で、KL1は陰性であった。

発生した扁平上皮癌では、KL1およびS-100蛋白が基底層を除く上皮上層で陽性で、PKK1は角化層のみに陽性を示したが、いずれも分化度が低下するにつれて染色性は低下した。なお、Z622は、低分化型扁平上皮癌や未分化な浸潤先端部でも強陽性を呈した。また、腫瘍の一部にみられた腺癌の像を呈する部分では、PKK1は管腔側に陽性像を呈した。

## 考察およびまとめ

1. ラット顎下腺にDMBAを投与することによって、扁平上皮癌の組織像を呈する腫瘍を得たが、一部に管腔構造を有する腺癌の組織像が認められた。
2. 発生した腫瘍は、組織学的には扁平上皮癌が優位に占めるものの、腺性分化の傾向が随所に認められ、口腔粘膜上皮より得られる実験的扁平上皮癌と、その性格を異にするものと思われた。
3. ラット顎下腺腫瘍発生過程における組織像とBrdU標識率の推移から、集合管基底層およびペレット周囲の壊死組織中に残存した小導管の細胞が、増殖して扁平上皮化生をきたし、類表皮嚢胞の形成・嚢胞壁の乳頭状増殖を経て、腫瘍が発生するものと思われた。
4. 腫瘍発生過程初期にペレット周囲の壊死組織内に残存した小導管は、形態的に介在部に類似し、ケラチンおよびS-100蛋白の染色態度からも、介在部導管であることが示唆された。
5. 以上の結果より、分化増殖能を有する集合管基底層および介在部導管の細胞が、DMBA誘発ラット顎下腺腫瘍の組織由来として、最も可能性の高いことが示唆された。

## 学位論文審査の要旨

口腔・顎・顔面領域に発生する悪性腫瘍のうち、唾液腺に由来するものの発生頻度は、10%前後を占めるといわれている。

この唾液腺腫瘍は、上皮性腫瘍すなわち癌腫が大部分を占めるが、一般に口腔粘膜由来の癌とは異なり、化学療法ならびに放射線療法に対してほとんど反応をみない。このため、唾液腺癌の治療は外科処置に頼らざるをえないのが現状である。

従って、臨床的に唾液腺癌の治療成績を向上させるためには、本腫瘍に有効な化学療法剤ならびに放射線に対する感受性の増強法の開発が望まれる。そのため、唾液腺由来の悪性腫瘍の治療法に応用しうる実験モデルの確立が必要である。

これまで、各種の発癌方法を用いた唾液腺腫瘍の発生実験が数多く報告されている。また、これらの腫瘍の発生母地に関する実験的研究も行われているが、いずれも

まだその発生母地は特定されていない。

本論文の著者道谷は、ラット顎下腺に9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) を投与し、組織学的には扁平上皮癌と腺癌の発生をみた。さらに、その発癌過程をBrdU標識率、ケラチンおよびS-100蛋白の局在とその変化を観察し、著者の研究で得られた腫瘍の発生母地は、介在部導管上皮および集合管基底層であることが明らかにされた。

さて、この介在部導管上皮と集合管基底層には、様々な細胞に分化・増殖しうる細胞、すなわち幹細胞と呼ば

れる細胞が存在しているといわれている。著者の実験では、扁平上皮癌および腺癌が得られた。また、臨床的には唾液腺腫瘍は、多様な組織像を呈することが知られているが、本研究でこれらのことが裏付けられた。

さらに、冒頭にも述べたように、唾液腺腫瘍のより効果的な治療法の確立のために、本論文は口腔粘膜由来の癌と唾液腺癌との性格の差を明らかにするための嚆矢となりうるもので、学位を授与するに十分値するものと判定した。