

学 位 論 文 題 名

YAG レーザー照射によるラット顎下腺の  
損傷と修復に関する形態学的研究

学位論文内容の要旨

緒言

唾液腺は、唾液腺炎や唾石症などの疾患以外にも、腫瘍や嚢胞による圧迫、外傷、放射線治療などによって障害を受けることが少なくない。障害を受けた唾液腺には、損傷の程度に応じて機能低下がみられ、様々な問題が生じることが知られている。それ故、唾液腺の修復能力や再生過程に関しては、臨床的にも興味を持たれるところであり、比較的古くから種々の実験的研究が行なわれてきている。

しかし、これまでの実験の多くでは、唾液腺の局所に限局した適度な障害を与えることが困難であったため、唾液腺の修復能力や再生過程について一定した見解が得られていない。そこで著者は、損傷を受けた唾液腺の再生過程を明らかにする目的で、局所に限局した一定の障害を与える手段としてYAGレーザーを用い、これをラット顎下腺に照射して、その損傷と修復について形態学的に観察した。

材料と方法

1. 実験方法

実験動物には体重約200gのWistar系雄性ラット163匹を用い、このうち148匹を実験群、15匹を対照群として使用した。実験群のラットには、エーテルによる全身麻酔下にて外科的に顎下腺を露出させ、右側顎下腺の中央部に径2mm、出力30W、照射時間1秒の条件にてYAGレーザーを1回照射した。照射後0～28日の間隔で屠殺し、直ちに顎下腺を摘出した。対照群のラットは無処置とした。

2. 組織学的検索

摘出した顎下腺を中性ホルマリンにて24時間固定した後、通法に従ってパラフィン包埋し、連続切片を作製した。標本は、HE、PAS、鍍銀染色等を施

し、組織学的に観察した。

### 3.5-bromo-2'-deoxyuridine(以下BrdU)を用いた検索

再生過程に出現する細胞の動態を明らかにするために、thymidineの類似体であり、S期細胞に取り込まれるBrdUを用いた検索を行なった。屠殺に先立ち、BrdU25mg/kgを腹腔内に投与し、1時間後に屠殺した。摘出した顎下腺より組織学的検索と同様にして連続切片を作製し、抗BrdUモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的染色を行なった。染色後、照射部を含む3mm×3mmの範囲でBrdU陽性細胞数を計測し、標識率を算定した。

### 4. 電顕的検索

摘出した顎下腺を4%パラホルムアルデヒド-2.5%グルタルアルデヒド混合液にて2時間前固定、1%四酸化オスミウムにて2時間後固定した後、通常に従ってEpon812に包埋し、超薄切片を作製した。超薄切片には酢酸ウラニル・クエン酸鉛の電子染色を行い、電顕的に観察した。

## 結果および考察

### 1. 組織学的検索およびBrdUを用いた検索

照射直後、照射部は軽度には水腫状を呈しており、腺組織は変性、崩壊の傾向を示していた。照射後1~2日目では、照射部は楔状の壊死巣となり、周囲との境界は明瞭になった。3日目には、1日目とほぼ同様の壊死巣が認められ、壊死巣の周囲には肉芽組織の増生がみられた。肉芽組織には、紡錘形を呈する線維芽細胞様細胞がみられ、このような細胞にはBrdU陽性を示すものが認められた。また、肉芽組織中には残存している導管様構造が認められた。導管様構造にはBrdU陽性を示す上皮細胞が認められ、このような導管上皮から再生が開始されることが示唆された。

4~6日目では、肉芽組織はさらに増生し、壊死巣は縮小傾向を示した。肉芽組織中には、扁平上皮様細胞からなる多数の上皮細胞巣がみられ、これらには明らかな管腔を有し、導管様構造を呈するものも認められた。上皮細胞巣や導管様構造には、分裂像やBrdU陽性を示す細胞が認められ、BrdU陽性細胞の標識率のピークは、扁平上皮様細胞巣では4日目に、導管様構造では5日目にみられ、この期間は上皮細胞の増殖活性の高い期間であることが示唆され

た。

7~14日目では、壊死巣および肉芽組織は縮小傾向を示した。肉芽組織中には導管様構造が比較的多くみられたが、扁平上皮様胞巣は認められなくなった。また、腺組織の修復が進み、腺葉の形態の回復がみられ、このような腺葉の辺縁部には導管様構造に加えて、腺房への移行像やPAS陽性の分泌顆粒を細胞質内に容れている小型で幼弱な腺房細胞が認められ、BrdU陽性を示すものも認められた。これらの所見より、腺房細胞は導管様構造から分化して生じるものに加えて、幼弱な腺房細胞自身の増殖によっても生じていることが示唆された。

21日目には壊死巣が消失し、再生した腺葉には比較的正常に近い形態を示す腺房細胞もみられるようになった。照射後28日目には、修復が進み、肉芽組織は認められなかった。照射部の境界は不明瞭となったが、中央部付近には鬆疎な部分がみられ、このような部分には小型で幼弱な腺房細胞が少数ながら認められた。また、BrdU陽性細胞は少なく、正常腺組織とほぼ同様の染色傾向を示しており、腺組織の修復がほぼ達成されたことが示唆された。

## 2. 電顕的検索

照射後1~3日目に、壊死巣周囲に残存していた導管様構造を構成する細胞には、細胞小器官に乏しいものが多くみられたが、一部には、束状を呈するトノフィラメントを有する上皮細胞が認められた。

4~6日目にみられた扁平上皮様胞巣は内外2種類の上皮細胞より成っていた。内外の細胞は、ともに束状のトノフィラメントを有し、主にデスモゾームによって結合していたが、内側の細胞は外側の細胞に比べて明るく、細胞質が豊富で立方状を呈しており、束状のトノフィラメントは比較的少なかった。一方、外側の細胞は暗く、扁平な形状を示しており、発達した束状のトノフィラメントを有していた。導管様構造を構成する細胞も基本的に同様の内外2種類の細胞に区別され、内側の細胞は管腔面に微絨毛を伸長させていた。このような所見より、内側の細胞は導管上皮への分化傾向を示していることが示唆された。

10日目には、比較的大きい管腔を有する導管様構造と終末部に連続してみられる狭く、不規則な管腔を有する導管様構造が認められた。比較的大きい

管腔を有する導管様構造は、類円形の核を有する立方状ないし円柱状の細胞から成っていた。この細胞の基底側には、不規則で未発達な基底陥入がみられ、隣接する領域にはミトコンドリアが配列していたことから、線条部導管への分化傾向を示唆するものと考えられた。終末部に連続してみられる導管様構造は、核小体の明瞭な核を有する扁平な細胞より成っており、一部には、細胞質内に電子密度の高い分泌顆粒を有するものがみられた。このような所見は介在部導管への分化傾向を示すものと考えられた。幼弱な腺房細胞は、基底側に偏在した類円形の核を有しており、核の周囲には層板状に配列した粗面小胞体が見られた。腺腔側の細胞質中には電子密度の低い分泌顆粒が認められた。幼弱な腺房細胞と基底膜の間には、細胞小器官に乏しい紡錘形の細胞が見られた。この細胞は、胞体内に細胞の長軸に平行に配列している微細な筋細線維を比較的豊富に有していたことから再生した筋上皮細胞と思われた。

#### 結語

1. 本研究のように唾液腺に加えられた障害が局所に局限している場合には、唾液腺は比較的旺盛な修復能力を有することが示され、損傷後28日目には、ほぼ正常に近い形態に回復された。
2. 修復過程においては、壊死巣周囲に残存している導管様構造の上皮細胞より再生が開始され、間もなく、増殖活性の高い扁平上皮様胞巣や導管様構造を形成した。これらの上皮細胞は、電顕的に内外2種類の細胞に区別され、内側の細胞は導管上皮への分化傾向を示していた。
3. 腺葉の形態回復時には、導管様構造を構成する細胞から、線条部導管細胞、介在部導管細胞、幼弱な腺房細胞、筋上皮細胞などの腺組織を構成する各種細胞への分化傾向が電顕的に認められた。
4. 腺房細胞は、導管様構造から分化して生じるものに加えて、分化途上の幼弱な腺房細胞自身の増殖によっても生じていることが明らかとなった。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 雨 宮 璋  
副 査 教 授 福 田 博  
副 査 教 授 脇 田 稔

### 学 位 論 文 題 名

YAGレーザー照射によるラット顎下腺の損傷と修復に関する形態学的研究

唾液腺が種々の原因によって障害を受けることは、希ではない。それ故、唾液腺の損傷と修復過程に関しては、比較的古くから種々の実験的研究が行なわれてきている。しかし、これまでの実験の多くは唾液腺の局所に限局した適度な障害を与えることが困難であったため、一定した見解が得られていない。本論文提出者は、損傷を受けた唾液腺の再生過程を明らかにする目的で、局所に限局した一定の障害を与える手段としてYAGレーザーを用い、これをラット顎下腺に照射して、その損傷と修復過程について形態学的に観察した。

実験には生後7～8週齢のWistar系雄性ラットを用いた。ラットの右側顎下腺の中央部に、径2mm、出力30W、照射時間1秒の条件にてYAGレーザーを1回照射した後、0～28日の間隔で屠殺し、直ちに顎下腺を摘出した。通法に従ってパラフィン連続切片を作製し、組織学的に検索するとともに、再生過程に出現する細胞の動態を検索するために、5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を用いた免疫組織化学的検索も行なった。また、再生過程に出現する細胞の詳細を明らかにするために電顕的検索を行なった。

組織学的には、照射後1日目に照射部は壊死巣となり、3日目には壊死巣周囲に肉芽組織の増生がみられた。肉芽組織中には残存している導管様構造がみられ、BrdU陽性を示す上皮細胞が認められたことより、このような導管上皮から再生が開始されると考察している。4～6日目には、肉芽組織中に扁平上皮様細胞からなる上皮細胞巣が多数出現したが、これらには明らかな管腔

を有し、導管様構造を呈するものも認められた。上皮細胞巢や導管様構造には分裂像やBrdU陽性を示す細胞がみられ、上皮細胞の増殖活性の高さが示唆された。7~14日目には、腺葉の形態の回復がみられ、導管様構造から幼弱な腺房への移行像や幼弱な腺房が認められたことより、腺房は導管様構造より分化して生じていることが示唆された。また、幼弱な腺房にはBrdU陽性を示す細胞がみられたことより、腺房の再生は、導管様構造から分化して生じるものに加えて、分化途上の幼弱な腺房細胞自身の増殖によっても生じていると考察している。28日目には、壊死巣や肉芽組織はみられなくなり、照射部はほぼ正常に近い形態に回復された。電顕的には、4~6日目にみられた上皮細胞巢は、内外2種類の上皮細胞より成っていた。内外の細胞はともに束状のトノフィラメントを有していたが、内側の細胞は、外側の細胞に比べて明るく、立方状を呈しており、束状のトノフィラメントは少なかった。一方、外側の細胞は暗く、扁平な形状を示し、束状のトノフィラメントも発達していた。導管様構造も基本的には同様の内外2種類の細胞より成っており、内側の細胞は管腔面に微絨毛を伸長させていた。このような所見より内側の細胞は導管上皮への分化傾向を示していると考察している。10日目には、線条部導管細胞、介在部導管細胞、腺房細胞、筋上皮細胞などの腺組織を構成する各種細胞への分化傾向が電顕的にも認められた。以上のような観察所見より、唾液腺に加えられた障害が限局している場合には、唾液腺は比較的旺盛な修復能力を有することが示唆され、腺組織の修復は、壊死巣周囲に残存している導管様構造より起こり、これらの増殖と分化によって再生されると結論している。

論文の審査は、審査員全員により口頭で行なわれた。論文提出者による要旨の説明後、主査および副査より論文の内容および関連事項についての質問がなされたが、いずれの質問にも明確な回答が得られた。唾液腺の再生については古くから種々の実験的研究がなされてきているが、それらの多くは、障害を与える手段として導管結紮や外科的切除を用いており、損傷が腺組織の全体あるいは広範囲に及ぶものであった。それに対し本研究は、損傷を与える新しい手段としてYAGレーザーを用いることにより、局所に限局した障害を与え、損傷後の唾液腺の再生過程を詳細に検索しており、唾液腺の再生

の一端を明らかにした点が高く評価された。また、本研究はYAGレーザー照射が唾液腺の再生過程を研究する際、有効な実験手段であることをしめしており、今後の研究にも重要な示唆を与えるものと思われた。以上のような本研究の業績は、口腔病理学の分野はもとより、関連領域にも寄与するところ大であり、博士(歯学)の学位授与に値するものと認められた。