

学 位 論 文 題 名

DMBA 誘発ハムスター舌癌に及ぼす

Hydrocortisone の影響

学位論文内容の要旨

【緒言】

舌の扁平上皮癌は、口腔粘膜癌のなかでも発生頻度の高いものの一つであり、早期にリンパ節に転移をすることや、筋層に広範に浸潤することなど、問題の多い悪性腫瘍である。一方、グルコルチコイドは、抗炎症作用をはじめ多くの薬理作用をもち、広く使用されている薬物であり、腫瘍に及ぼす影響についても、乳癌などのホルモン感受性のある腫瘍を中心に多くの研究がなされている。しかし、口腔領域の腫瘍についての研究は少なく、しかもそのほとんどは、腫瘍誘発や転移に及ぼす影響を検討したもので、原発巣の変化を病理組織学的に検索したものはさらに少ない。

著者は、グルコルチコイドの、舌の扁平上皮癌の発育と浸潤に及ぼす影響を、明らかにするために、DMBA誘発ハムスター舌癌を用い、病理組織学的、一部免疫学的に検討した。

【材料と方法】

実験動物としては4週齢、雄、ゴールデンハムスター77匹を用いた。発癌剤としては9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene(DMBA)の1%アセトン溶液を用い、週3回、エーテル麻酔下に左舌側縁粘膜中央部1/3を歯科用クレンザーで擦過後、ピンセットで塗布した。動物は発癌群と対照群にわけ、発癌群はさらに、Group1とGroup2にわけた。Group1は5、10、15、20週間発癌処置を行なった。Group2は、20週間発癌処置をおこなったものを1週間放置後、4週間、グルコルチコイドとして、Hydrocortisone(HC)を投与する群と、投与しないでその間放置する群にわけた。対照群(Group3)も21週間、無処置で放置したものを4週間、HCを投与する群と、投与しないでその間放置する群にわけた。各群とも処置終了後、ただちに屠殺し、下顎骨と一塊にして、舌を取り出した。通法に従って10%中性ホルマリン液に24時間固定し、10%EDTA(Ethylenediamine Tetraacetate)で脱灰後、パラフィンに包埋し連続切片を作製し、HE染色を施し、病理組織学的に検索した。また、上皮細胞の細胞動態を検索するため、屠殺の1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を、体重1Kgあたり25mgの割合で腹腔内に投与し、抗BrdUモノクローナル抗体を用いて、ABC法により免疫染色を施した。さらに、foot pad assay法と直接ブランク形成法を利用して免疫能を測定した。

【結果および考察】

1. 5週間の発癌処置で、舌粘膜上皮に異形成上皮が発生した。15週間以上の発癌処置により、すべての動物に舌扁平上皮癌が発生した。20週間の発癌処置により、腫瘍の舌固有筋への浸潤傾向が全例に認められた。

2. DMBAによって誘発された舌扁平上皮癌の多くは、肉眼的に外向性の腫瘤を形成した。HC投与発癌群では、HC非投与発癌群に比べ、腫瘤の増大傾向は弱くなり、多くは潰瘍形成を伴い、腫瘍の発育方向が内向性になる傾向を示した。

3. 病理組織学的には、WHOの分類でHC投与発癌群の30例中2例が grade II、他は grade Iであった。HC非投与発癌群は全例 grade Iであった。HC投与により腫瘍細胞に著名な変化は認められなかったが、腫瘍の進展範囲に変化がみられ、最も深く浸潤した症例では、オトガイ舌骨筋にまで浸潤がみられた。また、間質のリンパ球、形質細胞を主体とした炎症性細胞浸潤の減少傾向が認められた。

4. HC投与発癌群に、腫瘍の顎下リンパ節転移が3例認められたが、それらはいずれも最も深部のオトガイ舌骨筋に浸潤した症例であり、浸潤の深さが、腫瘍の転移に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

5. HC投与は、正常舌粘膜上皮細胞の BrdUの標識率に影響を及ぼさなかった。

6. HC投与発癌群では、内向性発育を示した腫瘍に、外向性発育を示した腫瘍に比べて、BrdUの標識率が高くなる傾向がみられた。また、外向性の発育を示した腫瘍では、腫瘤の辺縁部にある腫瘍細胞の胞巣で、内向性の発育を示した腫瘍では、浸潤している先端部の胞巣で、BrdUの標識率が高くなる傾向が認められた。

7. 免疫学的にはHC投与、ならびにDMBAによる発癌操作によって、foot pad assay 法では低値を示し、直接プラーク形成法では溶血斑数の減少がみられた。HCの免疫抑制作用は、細胞性免疫と液性免疫の両者に作用していると考えられているが、今回の結果もそのことを裏付けるものであった。

【結論】 グルココルチコイドは、DMBA誘発ハムスター舌癌に対して、腫瘍の浸潤を促進する可能性が示唆され、また、その要因として、全身的な免疫能の抑制が関与している可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 福 田 博

副 査 教 授 雨 宮 璋

副 査 教 授 松 本 章

学位論文題名

DMBA 誘発ハムスター舌癌に及ぼす

Hydrocortisone の影響

審査は審査担当者全員が一堂に会して行われた。まず、論文提出者より、以下のような論文内容の説明を受けた。

グルココルチコイド（GC）が口腔粘膜癌に及ぼす影響に関する研究は少なく、発育を促進するとする報告と抑制するとする報告がある。また、転移に関しては、顎下リンパ節への転移が増加するという報告があるが、統計学的な有意差は認められないという。本論文提出者はGCが舌扁平上皮癌の発育と浸潤に及ぼす影響を明らかにする目的で本研究を行った。

《研究方法》

実験動物として4週齢の雄ゴールデンハムスターを用いた。発癌剤として9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene（DMBA）の1%アセトン溶液を用い、週3回、エーテル麻酔下に左側舌縁粘膜中央1/3部を歯科用クレンザーで擦過後、発癌剤を塗布した。GCとしてはヒドロコルチゾン（HC）を用い、体重1kgあたり100mgを、週3回、4週間、腹腔内に投与した。

動物は発癌群と対照群、発癌群はさらにグループ1とグループ2にわけた。グループ1は5、10、15、20週間発癌処置を行った。グループ2は20週間発癌処置を行ったものを1週間放置後、HCを投与する群と投与しない群にわけた。対照群も21週間無処置で放置したものをHCを投与する群と投与しない群にわけた。

各群とも放置終了後、ただちに屠殺し、下顎骨と一塊にして舌を取り出し、通法に従って、10%中性ホルマリン固定し、10%EDTAで脱灰後、パラフィン包埋し、連続切片を作製した。また、上皮細胞の細胞動態を検索するために、屠殺の1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine（BrdU）を体重1kgあたり25mg腹腔内に投与し、抗BrdUモノクローナル抗体を用いてABC法により免疫染色した。さらに、HCおよびDMBA投与が免疫能に及ぼす影響を、発癌群と対照群について、足蹠試験により細胞性免疫能を、直接プラーク形成法により液性免疫能を評価した。

《実験結果と結論》

1. 5週間の発癌処置によって舌粘膜上皮に異形成上皮が発生した。
2. 15週間以上の発癌処置により、すべての動物に舌扁平上皮癌が発生した。
3. DMB Aによって誘発された舌扁平上皮癌の多くは、肉眼的に外向性の腫瘤を形成した。
4. HC投与発癌群では、HC非投与発癌群に比べ、腫瘤の増大傾向は弱く、多くは潰瘍形成を伴っていた。病理組織学的には、WHOの分類で30例中2例が gradell、他は gradel であった。
5. HC投与により腫瘍細胞に著名な変化は認められなかったが、腫瘍の進展範囲に変化がみられ、オトガイ舌骨筋にまで浸潤しているものも認められた。また、間質のリンパ球、形質細胞を主とした炎症性細胞浸潤の減少傾向が認められた。
6. HC投与発癌群に腫瘍の顎下リンパ節転移が3例認められたが、それらは最も深部のオトガイ舌骨筋に浸潤した症例であった。
7. HC投与は正常舌粘膜上皮細胞の BrdU の標識率に直接の影響を及ぼさなかった。
8. HC投与発癌群では、内向性発育を示した腫瘍は外向性発育を示した腫瘍に比べて BrdU の標識率が高くなる傾向がみられた。
9. 免疫学的にはHC投与ならびにDMB Aによる発癌操作によって、足趾試験法では低値を示し、直接ブランク法では溶血斑数の減少があった。

以上より、グルコルチコイドはDMB A誘発ハムスター舌癌に対して腫瘍の浸潤を促進する可能性が示唆され、また、この要因として全身的な免疫能の抑制が関与している可能性が示唆された。

続いて、審査担当者より、研究内容、引用文献、GCの薬理作用、今後の展望などについて試問された。これらの質問に対し論文提出者よりそれぞれ適切な解答が得られ、本論文提出者が本研究内容および関連分野に関して十分な理解と知識のあることが認められた。

舌癌は口腔癌の約 1/3 を占め、早期から筋組織内に浸潤しやすく、転移もきたしやすい。また、癌との鑑別が困難な種々の口腔粘膜病変の治療のため、あるいは、癌の放射線治療および化学療法にしばしば併発する副作用を軽減する目的でGCが投与されることがあり、GCが口腔癌に及ぼす影響については臨床的にも関心が高く、本研究は基礎医学的観点からはもちろん臨床的観点からも評価される。

以上、本論文提出者は博士（歯学）の学位授与に値するものと認められた。