

学 位 論 文 題 名

Histopathologic studies of DMBA-induced adenocarcinomas
in the submandibular glands of female Wistar rats.

DMBA 誘発雌性ラット顎下腺腺癌に関する病理組織学的研究

学位論文内容の要旨

緒 言

唾液腺の発癌実験の報告は多いが、その殆どが扁平上皮癌及び線維肉腫に関するものであり、腺癌の誘発実験は非常に少なく、それも偶発的に発生したものが多し。そのため唾液腺腺癌の発癌過程、進展などについては不明な点が少ない。これらの点を明らかにするために、DMBAによる顎下腺腺癌の誘発を試み、さらに、その形態および発癌過程を解明することを目的に本実験を行った。

材料および方法

7～9週齢の雌性ウイスターラット94匹を用い、以下の様に4群に分けた。1群（36匹）：エーテル麻酔下で前頸部皮膚を切開し、初回のみ顎下腺に径約2mmの外傷を加え、0.05mlの1%DMBAアセトン溶液を両側の顎下腺にそれぞれ注入した。DMBAの投与は隔週毎に6回行い、DMBA 6回投与後4、5、6、8週に誘発腫瘍を検索した。なお、18匹については、DMBA 6回投与後1、2、3週に腫瘍の発育過程を検索した。また、5匹のラットには顎下腺への外傷を加えてから1週後にDMBA投与を開始した。2群（18匹）：対照群としてアセトンのみを同様方法にて投与し、6回投与後4、5、6、8週に検索した。3群（25匹）：DMBA投与による顎下腺の経時的变化を検索するために、DMBAを1群と同様に投与し、DMBA 1～5回投与後1、2週に、それぞれについて検索した。4群（15匹）：3群の対照群として、アセトンのみを2群と同様に投与し、1～5回投与後1、2週に顎下腺を検索した。顎下腺は病理組織学的、組織化学的、免疫組織化学的に検索した。摘出腫瘍は10%中性緩衝ホルマリン固定後、通法に従いパラフィン包埋し薄切した。染色としてはHE染色、PAS染色、銀染色などを行った。なお、細胞増殖活性を検索するために、5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を屠殺1時間前に投

与し、抗BrdUモノクローナル抗体を用いて免疫染色を施した。

結 果

DMBA誘発顎下腺腫瘍は早いものでは、DMBA 6回投与後1週にみられたが、多くは、DMBA投与後4～8週に認められた。顎下腺腫瘍は結節状を示し、断面は灰白色で軟らかく、周囲は薄い線維性結合組織で囲まれていた。顎下腺腫瘍の組織像とその発生頻度については、腺癌は36例中24例（66%）で、そのうちの6例（1/4）に線維肉腫が合併し、扁平上皮癌は6例（16%）で、そのうち2例（1/3）に線維肉腫が合併していた。

組織学的に、腺癌細胞は低円柱状および立方形の細胞から成り、大きな明るい核あるいはクロマチンに富んだ核を有し、多くの細胞分裂像が認められた。その組織像は基本的には導管状および腺様構造を示し、時には、充実性、小管状、嚢胞状、篩状、乳頭状嚢腺腫様構造などが混在していた。BrdUの標識細胞は導管部および腺様部の双方にみられ、導管部細胞（ 17.66 ± 2.72 SD）は腺様部細胞（ 14.81 ± 5.68 SD）より高い標識率を示した。導管状および腺様構造を示す癌細胞巢は、それぞれ細い好銀線維束により囲まれていた。導管状構造の腔内にはPAS陽性の分泌物がみられた。種々に拡張した管状構造を示す組織の管腔壁は、単層ないし二層の明るい導管上皮細胞からなっていた。腫瘍内の嚢胞様構造の腔内には、多量のPAS陽性物質がみられた。腺癌は周囲の脂肪組織および結合組織へ浸潤していたが、検索した範囲においては、リンパ節および臓器への転移はなかった。

腺癌の発癌過程についての検索では、DMBA 6回投与後1週の残存顎下腺組織に近接して多数の小型の導管状構造の増生がみられ、BrdU陽性細胞も多くみられた。DMBA 6回投与後3週では、残存顎下腺組織に近接し、小導管様構造と混在して、異型増殖を示す種々の大きさの導管様構造が多数みられ、それら導管上皮細胞は部分的に多層化を示し、BrdU陽性細胞も多く認められた。

腺癌以外の腫瘍としては、角化傾向の著明な高分化型扁平上皮癌がみられ、それらは導管が拡張し嚢胞様構造を示す部分に認められた。線維肉腫は異型増殖を示す紡錘形細胞から成っていた。

DMBA 1～5回投与までの顎下腺組織の経時的変化についての検索では、DMBA 1回投与後1週の顎下腺内には、残存顎下腺組織に近接した肉芽組織中に多数の上皮細胞巢の増生がみられ、それらは小導管様および扁平上皮様構造を示し、BrdU陽性細胞も多く認められた。DMBA 2回投与後1週の顎下腺部には、残存した顎下腺組織に近接して、多数の導管様構造および少数の扁平上皮様構造を示す上皮細胞巢がみられた。DMBA 4回投与後1週の顎下腺部の組織像はDMBA 2回投与後1週の顎下腺部の組織像と一部同様であったが、小導管様構造を示す上皮に多層化がみられ、また、上皮細胞の索状増殖や、一部に管状ないし小導管様構造が認められた。DMBA 5回投与後1週の顎下腺部では異型増殖した上皮細胞

巢はやや大型になり、胞巢内には小導管様構造および小腔がみられた。

アセトンのみ1回投与1週後の対照群の顎下腺内には、顎下腺組織に近接した肉芽組織中に、小導管様構造を示す上皮細胞巢の増生がみられ、BrdU陽性細胞がわずかに認められた。

考 察

誘発顎下腺腺癌は、諸家の報告に比し高頻度に発生した。諸家の報告の実験方法と比較して、今回の実験では顎下腺に外傷を加えたことが相違しており、DMBA投与開始時期が外傷を加えた直後でも、1週後でも、腺癌の発生頻度に差異はなかった。これらのことから高頻度の顎下腺癌誘発に外傷が関与していた可能性も考えられた。

誘発顎下腺腺癌は細胞増殖活性が高いにも関わらず、局所浸潤性はみられるものの、転移はなかった。その理由は明かではないが、これらの所見は諸家の報告と一致していた。

腺癌の組織像は、基本的には導管状および腺様構造を示し、諸所にPAS陽性物質もみられ、細胞増殖活性が高く、また、部分的に、充実性、小管状、嚢胞状、篩状構造などが混在し、ヒトの腺癌との類似点がみられた。

腺癌の組織発生をDMBA投与による顎下腺組織の経時的変化から検討した。主な早期の変化は、腺房の消失痕部の肉芽組織中の扁平上皮様構造を示す上皮細胞巢と、小導管様構造の増生であり、DMBA投与回数が4、5、6回と増加するに従い、小導管様構造の増生が主体となり、それらは高い増殖活性を示した。また、DMBA6回投与後1～3週までの腺癌発生過程の検索では、残存顎下腺の多数の小型の導管様構造が、過形成を示す導管様構造に近接してみられ、その小導管様構造は介在部導管および一部は線条部導管に類似し、細胞増殖活性も高く、癌発育過程において、重要な役割を演じているものと思われる。

結 語

1. 雌性ラットの顎下腺へ外傷を加え、DMBAを反復直接投与することにより顎下腺癌が、諸家の報告に比し、高頻度に発生した。
2. 腺癌は組織学的には、導管状、腺様構造、充実性、嚢胞状、篩状、乳頭状嚢腺腫様構造などを示し、ヒトの腺癌との類似点がみられた。
3. 組織発生には過形成の導管上皮の異型的な増殖の関与が示唆された。
4. 本実験は、唾液腺腫瘍の研究に有効な動物モデルとなると思われる。

学位論文審査の要旨

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

学 位 論 文 題 名

Histopathologic studies of DMBA-induced adenocarcinomas
in the submandibular glands of female Wistar rats.

DMBA 誘発雌性ラット顎下腺腺癌に関する病理組織学的研究

唾液腺腺癌の誘発実験は非常に少なく、それも偶発的に発生したもので、そのため唾液腺腺癌の発生過程、進展様式などについては不明な点が少なくない。本実験では顎下腺腺癌の誘発を試み、その形態および組織発生について検索した。

実験には7～9週齢の雌性Wistar系ラット94匹を用い、以下の実験を行った。1) エーテル麻酔下で、初回のみ顎下腺に径約2mmの外傷を加え、0.05mlの1%9,10-dimethyl-1,2,-benz-anthracene (DMBA) アセトン溶液を、両側の顎下腺に隔週毎に6回注入した。注入開始時期を外傷を加えた直後あるいは1週後とした。DMBA 6回注入後8週までの各週に屠殺した。2) DMBA 1～5回注入後1、2週に検索した。顎下腺は病理組織学的、組織化学的、免疫組織化学的に検索した。なお、細胞増殖活性の検索のために5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)を用いて免疫染色を施した。

本実験により、顎下腺腺癌が従来 of 報告に比し高頻度に発生した。早いものでは、DMBA 6回投与後1週に見られたが、多くは投与後4～8週に認められた。顎下腺の誘発腫瘍のうち、腺癌は36例中24例 (66%) で、そのうちの1/4に線維肉腫を合併し、扁平上皮癌

は6例（16%）で、そのうち1/3に線維肉腫を合併していた。腺癌発生に外傷を加えた時期による差異はみられなかったが、高頻度の顎下腺癌誘発に外傷が関与していた可能性も考えられた。

腺癌は組織学的に基本的に導管状および腺様構造を示し、時には、充実性、小管状、嚢胞状、篩状、papillary cystic な構造などが混在し、ヒトの唾液腺癌との類似性が認められた。腺癌のBrdUの標識率は 16 ± 2 であった。腺癌は周囲組織へ浸潤していたが転移はなかった。

DMBA投与による顎下腺組織の早期変化についてみると、1回投与では、腺房の消失痕部の肉芽組織中に多数の小導管様および扁平上皮様構造の増生がみられ、多くのBrdU陽性細胞が認められた。2回投与では扁平上皮様構造が減少し、その後、投与回数の増加に伴い小導管様構造の増生が主体となり、一部に導管上皮の多層化、管状構造、索状増殖がみられた。

腺癌の発癌過程では、DMBA 6 回投与後1週では、残存顎下腺組織の過形成を示す導管様構造に近接して多数の小型の導管状構造の増生がみられ、BrdU陽性細胞も多く、投与後3週では、小導管様構造に多数の導管様構造の異型増殖が混在した。それら導管様構造は介在部導管および一部は線条部導管に類似し、細胞増殖活性も高く、顎下腺癌の組織発生には、小導管の過形成と導管上皮の異型増殖が関与するものと考察している。

本実験により、雌性ラットの顎下腺へ外傷を加え、DMBA を反復直接投与することにより組織学的に、ヒトの腺癌との類似性を示す顎下腺癌を、諸家の報告に比し、高頻度に発生させ得ることを明らかに示し、さらに、その組織発生には小導管の過形成と導管上皮の異型的な増殖が関与しているものと考察を加えている。

論文の審査は審査員全員により口頭で行われた。論文提出者に要旨を説明させた後、論文の内容、および関連事項について質問がなされ

たが、いずれについても明快な回答が得られた。

本研究は、ラットを用いその顎下腺に外傷を加えた後、DMBAを反復投与することにより、ヒト腺癌との類似性を示す唾液腺癌を、従来の報告に比し高頻度に発生させたこと、さらにその病理発生について詳細に検討し、発癌過程の一端を明らかにしたことが高く評価された。また、本研究は唾液腺腫瘍の研究に有用な動物実験系になり得るものと思われる。

以上のように、本研究業績は口腔病理学の分野のみならず、広く関連領域の発展にも寄与するところ大であり、博士（歯学）の学位授与に価するものと認められた。