博士（歯　学）　女　澤　史　恵

学位論文題名

唾液腺粘表皮癌の構成細胞の動態とエストロゲンレセプターの発現

学位論文内容の要旨

唾液腺腫瘍が女性に多く発生すること、また、乳癌と病理組織学的類似性を示すことから、唾液腺腫瘍においても発生、進展の過程で性ステロイドホルモンが関与すると考えられてきたが、明確な結論には達していない。そこで唾液腺腫瘍と性ステロイドホルモンとの関連性について明らかにするために、唾液腺粘表皮癌における estrogen receptor (ER) と progesterone receptor (PgR) の発現を検索し、さらに腫瘍構成細胞である粘液産生細胞、中間細胞、類表皮細胞における ER の発現様式と、病態との関連性を検討した。分化の方向や程度の指標として腫瘍構成細胞のサイトケラチン (CK) の発現パターンを検索し、MIB-1 の発現率を細胞増殖活性の指標とした。また、原発巣と転移巣での腫瘍細胞の ER と CK の発現様式の差異を検索し、ER の発現様式と腫瘍の動態との関連性を検討した。

【対象と方法】　対象は、1990 年から 1999 年までの間に、北海道大学大学院歯学研究科口腔病態学講座で粘表皮癌と診断された 19 例である。男性 12 例、女性 7 例で、平均年齢は 61 歳 (35-92 歳) であった。

病理組織学的分類は WHO の分類に基づき腫瘍構成細胞の割合により高分化型と低分化型の 2 群に分類し、さらにその分類に当てはまらないものを中間型とした。

生検組織を 10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定し、通法に従い 4μm の薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、ムチカルミン染色を施し、免疫組織化学的手法で ER, PgR, MIB-1, CK6、7、8、13、19 の発現を検索した。

【結果】　発生部位は耳下腺が 1 例、顎下腺が 2 例、小唾液腺が１６例であった。病理組織学的分類は 7 例が高分化型、2 例が中間型、10 例が低分化型に分類された。リンパ節転移は 5 例（男性 4 例、女性 1 例）に認められた。

ER の陽性反応は腫瘍細胞の核に限局し、19 例中 10 例で ER 陽性の腫瘍細胞が認められ、高分化型 7 例中 6 例、中間型 2 例中 2 例、低分化型 10 例中 2 例が ER 陽性であった。腫瘍構成細胞別にみると、中間細胞よりも類表皮細胞に多く、粘液産生細胞にはほとんど発現がみられなかった。リンパ節転移 5 例は全て頚部リンパ節にみられ、3 例で原発巣とリンパ節転移巣の両方に ER の発現が認められた。2 例では原発巣で ER の発現が認められなかったが、そのうち 1 例ではリンパ節転移巣で ER の発現が認められた。原発巣と転移巣の両方あるいはどちらかに ER の発現が認められたのはすべて男性であった 。

PgR の発現は核に限局してみられ、19 例中 11 例に認められ、高分化型 7 例中 6 例、中間型 2 例中 1 例、低分化型 10 例中 4 例が PgR 陽性であった。リンパ節転移を生じた 5 例のうち、原発巣とリンパ節転移巣で ER 陽性であった 3 例では PgR も同様に原発巣、転移巣ともに陽性反応を示した。原発巣で PgR 陰性であった 2 例ではリンパ節転移巣においても PgR の発現は認められなかった。

MIB-1 の発現は核に限局してみられ、MIB-1 陽性細胞の多くは充実性の胞巣の辺縁部に局在していた。粘液産生細胞では MIB-1 の発現はほとんど認められなかったが、多くの中間細胞で陽性反応が認められた。類表皮細胞では分化の程度により発現に相違がみられ、未分化なものほど高い傾向を示した。MIB-1 の発現率は低分化型で高く、腫瘍細胞の増殖活性は病理組織学的分類と相関する傾向を示した。

CK の発現様式は腫瘍構成細胞により相違がみられた。高分化型では粘液産生細胞や導管様構造構成細胞だけでなく類表皮細胞にも腺系マーカーである CK7, 8, 19 の発現が多く認められたが、低分化型では、類表皮細胞の多くは重層上皮のマーカーである CK13 を発現し CK7, 8, 19 の発現は少なく、CK6 は主に中間細胞や類表皮細胞に発現していた。

リンパ節転移症例において、原発巣とリンパ節転移巣で CK の発現様式を比較してみると、4 例（高分化型 1 例、低分化型 3 例）ではほぼ類似した発現様式を示した。残りの 1 例は低分化型で、原発巣では CK7, 19 がわずかに発現し、CK8 の発現は認められず、ER 陰性であったが、リンパ節転移巣では多くの類表皮細胞が CK7, 8, 19 を発現し、ER の発現も認められた。

【考察】 ER は男性症例の 4 割、女性症例の 7 割に発現し、高分化型に多く、病理組織学的分類と相関する傾向がみられ、腫瘍細胞の脱分化に伴い低下することが示された。また、腫瘍構成細胞別にみると、類表皮細胞で ER 発現率が高いことが示された。中間細胞は多能性細胞であり、粘液産生細胞および類表皮細胞への分化という点から、粘表皮癌の発生由来には中間細胞が関与しているとの報告がある。これらのことから粘表皮癌における ER の発現は腫瘍構成細胞の分化と関連していることが推測された。

PgR は ER 陽性症例に多く発現したが、ER 陽性/PgR 陰性あるいは ER 陰性/PgR 陽性の発現様式を示すものも存在した。PgR 遺伝子の転写はエストロゲンによって増幅され、ER の作用経路が機能しその結果 PgR が発現すると報告されている。ER 陽性/PgR 陰性あるいは ER 陰性/PgR 陽性の乳癌では、それぞれ ER 変異株が同定されており、唾液腺腫瘍においても乳癌と同様に ER 遺伝子の変異株が存在する可能性が考えられた。

MIB-1 の発現は低分化型で高く、腫瘍構成細胞別にみると、中間細胞や類表皮細胞に多く、粘液産生細胞や導管様構造構成細胞ではほとんど認められず、分化度が低くなるのに伴い増殖活性が高くなることが示唆された。また、ER と MIB-1 の発現する細胞が異なることから、ER の消失に伴い腫瘍細胞の増殖活性が高くなり、より未分化な細胞形態や形質を示すようになるもの思われた。

CK の発現様式から類表皮細胞には腺系マーカーを発現するタイプと重層扁平上皮マーカーを発現するタイプに分類され、腫瘍細胞の分化の方向や程度により CK の発現様式が異なることが示された。

リンパ節転移症例において、原発巣と転移巣で ER と CK の発現様式の相違が認められたことから、腫瘍の進展に伴い、腫瘍細胞の発現形質が変化することが示唆された。リンパ節転移を生じた症例は男性に多く、原発巣、転移巣ともに、または、転移巣のみ ER 陽性であったが、女性では原発巣、転移巣ともに ER の発現は認められなかった。このことから、ER の役割に性差がある可能性が推測さ

れた。

【結語】　唾液腺腫瘍において ER は腫瘍構成細胞の分化に関与していること、また、腫瘍の進展に伴い組織像や ER, CK などの発現様式が変化する可能性が示唆されたが、今後症例数を増やし、さらに検索を続ける必要があると思われる。

学位論文審査の要旨

主査　教授　向後隆男
副査　教授　福田　博
副査　教授　戸塚靖則

学位論文題名

唾液腺粘表皮癌の構成細胞の動態とエストロゲンレセプターの発現

審査は福田、戸塚および向後審査委員全員出席の下に、学位申請者に対して提出論文と関連した学科目について口頭試問の形式によって行われた。以下に、提出論文の要旨と審査の内容を述べる。

唾液腺腫瘍の発生が女性に多い傾向があること、また、乳癌と病理組織学的類似性を示すことから、唾液腺腫瘍においても性ステロイドホルモンが関与すると推察されてきたが、明確な結論には達していない。そこで唾液腺腫瘍と性ステロイドホルモンとの関連性について明らかにするために、唾液腺粘表皮癌における estrogen receptor (ER) と progesterone receptor (PgR) の発現を免疫組織化学的手法で検索し、さらに腫瘍構成細胞である粘液産生細胞、中間細胞、類表皮細胞における ER の発現様式と、病態との関連性を検討した。分化の程度の指標としてサイトケラチン (CK) の発現様式を検索し、MIB-1 の発現率を細胞増殖活性の指標とした。また、原発巣と転移巣での腫瘍細胞の ER と CK の発現様式の差異を検索し、ER の発現様式と腫瘍の動態との関連性を検討した。

病理組織学的分類は WHO の分類に基づき腫瘍構成細胞の割合により高分化型（粘液産生細胞が多い）と低分化型（類表皮細胞が多い）の2群に分類し、さらにその分類に当てはまらないものを中間型とした。

対象は、1990 年から 1999 年までの間に、北海道大学大学院歯学研究科口腔病態学講座で粘表皮癌と診断された 19 例である。男性 12 例、女性 7 例で、平均年齢は 61 歳であった。発生部位は耳下腺が1例、顎下腺が2例、小唾液腺が１６例であった。病理組織学的分類は高分化型7例、中間型2例、低分化型10例であった。リンパ節転移は5例（男性4例、女性1例）にみられた。

ER は男性症例の 4 割、女性症例の 7 割に発現し、高分化型に多い傾向がみられた。また、腫瘍構成細胞別にみると、類表皮細胞で ER 発現率が高いことが示された。中間細胞は多能性細胞であり、粘液産生細胞および類表皮細胞への分化という点から、粘表皮癌の発生由来に関与して

いるとの報告がある。これらのことから粘表皮癌における ER の発現は腫瘍構成細胞の分化と関連していることが推測された。

PgR は ER 陽性症例に多く発現したが、ER 陽性/PgR 陰性あるいは ER 陰性/PgR 陽性の発現様式を示すものも存在した。PgR 遺伝子の転写はエストロゲンによって増幅され、ER の作用経路が機能しその結果 PgR が発現する。ER 陽性/PgR 陰性あるいは ER 陰性/PgR 陽性の乳癌では、それぞれ ER 変異株が同定されており、唾液腺腫瘍においても ER 遺伝子の変異株が存在する可能性が考えられた。

MIB-1 の発現は低分化型で高く、腫瘍構成細胞別にみると、中間細胞や類表皮細胞に多く、粘液産生細胞や導管様構造構成細胞ではほとんど認められなかった。また、ER と MIB-1 の発現する細胞が異なることから、ER 発現の低下に伴いより未分化な細胞形態や形質を示すようになるもの思われた。

CK の発現様式は、高分化型では粘液産生細胞や導管様構造構成細胞だけでなく類表皮細胞にも腺系マーカーである CK7, 8, 19 の発現が多く認められたが、低分化型では、類表皮細胞の多くは重層上皮のマーカーである CK13 を発現していた。CK6 は主に中間細胞や類表皮細胞に発現し、腫瘍細胞の分化の程度により CK の発現様式が異なることが示された。

リンパ節転移症例において、原発巣と転移巣で ER と CK の発現様式を比較してみると、4 例ではほぼ類似した発現様式を示したが、残りの 1 例では相違が認められたことから、腫瘍の進展に伴い、腫瘍細胞の発現形質が変化することが示唆された。

唾液腺腫瘍において ER は腫瘍構成細胞の分化に関与していること、また、腫瘍の進展に伴い組織像や ER, CK などの発現様式が変化する可能性が示唆されたが、今後症例数を増やし、さらに検索を続ける必要があると思われる。

論文の審査にあたって、論文申請者による研究の要旨の説明後、本論文の内容に関連のある質問が行われた。いずれの質問についても、明快な回答が得られ、また将来の研究の方向性についても具体的に示された。本研究は、臨床材料を用い、ヒト唾液腺腫瘍における estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PgR)の発現が腫瘍細胞の分化に関与している可能性が推測されたことが評価された。さらに、本論文提出者は他の唾液腺腫瘍、正常唾液腺との比較実験を進めており、将来の展望も評価された。よって、学位申請者は博士（歯学）の学位授与にふさわしいものと認められた。