

氏名	若 狭 亨
学位の種類	歯 学 博 士
学位授与番号	博 甲 第 918 号
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 28 日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文題目	DMBA誘発ハムスター舌扁平上皮癌に対する放射線照射効果と TPAの動態に関する免疫組織化学的研究
論文審査委員	教授 岸 幹二 教授 永井教之 教授 西嶋克巳

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【 緒 言 】

近年, Tissue Porlypeptide Antigen (TPA) は, 悪性上皮性腫瘍の治療効果判定に利用されているが, その免疫組織化学へ応用した報告は少ない。また, TPAはケラチン様物質として知られ, 特に, モノクローナル抗サイトケラチン抗体 PKK-1 の免疫組織化学的な局在は, 癌化や悪性進行度と関連があり, TPA・B1 抗体と組織内での分布が類似している。しかし, 両者の関連性に関して詳細な報告はない。本研究は, 舌癌放射線照射において TPA・B1 抗体を用い, その染色性の変化に関して詳細な観察を免疫組織化学的に行なうとともに, 扁平上皮癌における TPA・B1 抗体と PKK-1 との関連性を明らかにしようとしたものである。

【材料と方法】

1. 研究材料の作製法

1) 材料と発癌実験

生後 8 週齢雄ゴールデンハムスター 70 匹に対し, エーテル麻酔下で左側舌縁中 1 / 3 部位をクレンザーにて数回擦過すると同時に 1 % dimethyl-benzanthracene (DMBA) アセトン溶液を塗布する操作を週 3 回繰返し, 発癌を確認した 40 匹を実験群とした。

2) 放射線照射方法

発癌照射群 20 匹に対し, 麻酔下で, 固定具に舌を縫合糸により牽引突出させた状態で固定し, 局部照射を行った。舌表面における吸収線量 20 Gy の 1 回照射とし, 照射 7 日後に屠殺した。

3) 血清の採取方法

ハムスター頸静脈より, 26.5 ゲージ注射針を用いて採血し, 遠心分離後, 凍結保存

した。

4) 分析試料および組織標本の作製法

各群に対し、屠殺10分前に5-Bromo-2'-deoxyuridineを腹腔内に注射した。免疫組織染色には3 μ mのホルマリン固定、パラフィン包埋切片を作製し、生化学的検索のために組織を凍結した。

2. 血中TPA値の測定

血中TPA値測定にはTPAキット第一Ⅱを用い、immunoradiometric assay法にて行ない、B/F分離には2抗体法を用いた。

3. 組織中におけるTPAとサイトケラチンの相関性の検討

1) 生化学的検出法

生化学的検出は、摘出した組織の上皮部分を下部結合組織より剥離し、サイトケラチン抽出操作を行なった試料に、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、転写を行ない、TPA・B1抗体、PKK-1をABC法にて反応させて行った。

2) 免疫組織化学的検出法

発癌照射群に対し、TPA・B1抗体、PKK-1をABC法にて反応させ、DABにて発色させた。

4. 放射線照射後のTPA・B1抗体、PKK-1、抗BrbU抗体による免疫組織染色法

発癌照射群についてTPA・B1抗体と抗BrbU抗体との2重染色およびPKK-1の免疫染色をABC法によって行った。

【結 果】

1. TPAの血清学的検出

ハムスターにおける血中TPA値は、癌発生に伴い増加する傾向にあったが、照射後の動態は一定の傾向を示さなかった。

2. TPA・B1抗体とPKK-1の相関性の検討

1) 生化学的検出結果

生化学的検出法では、正常舌組織、舌癌細胞のいずれにおいてもPKK-1、TPA・B1抗体はケラチンサブユニットNo.18(45kd)を認識し、正常組織に微量に存在し、発癌後に増加した。

2) 組織化学的所見

組織化学的所見において、正常舌上皮の基底細胞層、高分化型扁平上皮癌の辺縁部、分化度の低い扁平上皮癌の癌胞巣全域でPKK-1、TPA・B1抗体は陽性を示し、癌胞巣先端部や、間質への癌細胞浸潤部で強陽性であった。

3. 照射後の癌組織のTPA・B1抗体、PKK-1、抗BrbU抗体による免疫組織染色所見

照射を受けた癌細胞において、TPA・B1抗体とPKK-1による陽性部位と抗BrbU抗体による陽性部位とは一致した。両者は、放射線照射によって生じた癌胞巣壊死組織には陰性であったことから、TPA・B1抗体、PKK-1陽性部位は癌増殖能と極めて強い相関性

が示唆された。

【考 察】

以上の本研究の結果から、TPA・B1抗体とPKK-1は扁平上皮癌組織において認識する抗原が同一と考えられ、TPA・B1とケラチンサブユニットNo.18は扁平上皮癌組織中で相互に密接に関連しながら存在すると考えられた。

また、TPA・B1抗体は、扁平上皮癌の放射線照射効果をあらわす血清学的なマーカーであるとともに、同一抗体を用いた免疫組織化学染色法においても放射線照射後の病理組織変化を知る上で極めて有用な方法と考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はDMBA誘発ハムスター舌扁平上皮癌に対する放射線照射効果と悪性上皮性腫瘍の腫瘍マーカーとして用いられるTissue Polypeptide Antigen (TPA)の動態を関連づけて免疫組織化学的研究を行ったものである。

癌組織においてTPA・B1抗体による陽性部位と抗BrbU抗体による陽性部位は一致し、放射線照射によって生じた癌巣壊死組織ではともに陰性で、TPA・B1抗体陽性部位は癌組織増殖能と極めて強い相関性があることが示唆された。さらにTPA・B1とサイトケラチンNo.18が同一の抗原活性を共有し、密接に関連しながら扁平上皮癌組織中に存在することを明らかにした。

本研究は扁平上皮癌の放射線照射後の病理組織変化に関して有用な方法を開発し、新知見を得たものとして、価値ある業績であると考えられる。よって、本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。