

氏名	新 谷 悟		
学位(専攻分野)	博 士(歯 学)		
学位授与番号	博 甲 第 1011 号		
学位授与の日付	平成 4 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 4 条第 1 項該当)		
学位論文題目	実験的舌癌形成に関する研究 第 1 編 段階的発癌の検討 第 2 編 細胞動態ならびに癌遺伝子産物に関する免疫組織化学的 検討		
論文審査委員	教授 松村 智弘	教授 永井 教之	教授 岸 幹二

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

発癌過程が、複数の質的に異なる段階からなるという多段階説は認容されている。口腔粘膜とくに舌の発癌には、従来から齶歯の鋭縁、不適合義歯などによる慢性の刺激や、喫煙、飲酒といった物理的、化学的な刺激が、深く関与していると言われており、また、白板症などの前癌病変が存在することから、口腔癌においても段階的発癌が示唆されてきた。しかし、従来の口腔領域における発癌実験は、イニシエーションとプロモーションの両作用をもつ単一の強力な発癌剤の連続的な投与によるもので、イニシエーションならびにプロモーションといった段階的な発癌過程を意識した実験は見あたらない。従って、前癌病変あるいは早期の癌に対する検討は困難であった。そこでハムスターの舌における段階的発癌の検討を行い、その発癌過程での細胞動態ならびに癌遺伝子産物の変化について免疫組織化学的に検討を行った。

【材料ならびに方法】

1. 実験動物ならびに実験群

実験動物は5週齢の雄ゴールデンハムスターを使用し、イニシエーションとしては9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン(DMBA)を1週間塗布、またプロモーションとしては非発癌剤である12-0-テトラデカノイルホルボールエステル(TPA)を長期塗布するという方法で、以下の6群に分け発癌を試みた。なお、薬剤の塗布は自作の器具にて機械的刺激を加えた直後に行い、A群:DMBA塗布後、TPA塗布群、B群:DMBA

単独塗布群, C群: TPA単独塗布群, D群: DMBA塗布後, アセトン塗布群, E群: DMBA塗布後, 放置群, F群: 放置群とした。

2. 組織学的, 免疫組織化学的検索

一定期間終了後, 屠殺1時間前に細胞動態の解析のためプロモデオキシウリジン (BrdU) を *in vivo* 標識し, 屠殺後直ちに舌を摘出, 10%中性緩衝ホルマリンにて固定した。通法に従いパラフィン包埋した薄切々片に対し, ヘマトキシリン・エオジン染色ならびに, ペルオキシダーゼーアンチペルオキシダゼ法, アビジン-ビオチン法による免疫組織化学染色を行った。なお, 細胞動態の解析には抗BrdU抗体を用い, 1000個以上の有核上皮細胞に対する陽性細胞数の比を, labeling index (L.I.) として算定し検討した。また, 癌遺伝子産物の検索は, 核結合蛋白群としてc-fos, c-myc蛋白, 情報伝達に関与すると考えられているH-ras蛋白, 受容体として機能していると考えられているc-erbB1蛋白 (上皮性成長因子受容体, EGF-R), c-erbB2蛋白に対する抗体を用いて行った。

【結果ならびに考察】

段階的発癌の検討

C, D, E, F群では癌の発生を認めなかったが, A群では高率に扁平上皮癌の形成を認め, TPAがハムスターの舌においてプロモーターとして作用することが示唆された。さらに従来からのB群では, 処置部以外にも腫瘤形成が認められ, 組織学的にも肉腫などの併発が認められたのに対し, A群では, イニシエーションされたと考えられる舌にのみ腫瘤形成を認め, 組織学的にも肉腫などの併発は認められなかった。これらのことから, 本実験系は, 発癌過程の解析をより単化する上で有用であると思われた。

細胞動態の検討

正常上皮や上皮性異形成を示さない肥厚上皮においてはBrdU標識細胞は, 基底細胞層に存在したが, 上皮性異形成を示す上皮, 扁平上皮癌とその異形成が増すにしたがってL.I.の増加を認め, その範囲もより上層の方へと拡大する傾向を認めた。扁平上皮癌においては, 多くの標識細胞を認め, 分化度の高いものでは標識細胞が癌巣の周辺部に局在する所見を認めた。以上のことからL.I.の算定ならびに標識細胞の局在が上皮性異形成における悪性化への潜在能を知る客観的な指標となると考えられた。

癌遺伝子産物の検討

c-fosならびにc-myc蛋白は, 正常上皮では基底細胞層から有棘細胞層の細胞の核に陽性所見を示したが, 発癌過程において上皮性異形成を示す上皮や扁平上皮癌では, 核や細胞質に陽性を認める細胞が混在するなど多様性を示すようになり, 悪性化にともない本蛋白の細胞内の局在に変化が生じていると考えられ, このことが前癌病変の指標になる可能性が示唆された。H-ras蛋白は, 正常上皮において有棘細胞層より上層の細胞質に均一な陽性所見を示したが, 悪性化にともない染色性は弱くなる傾向があり, 扁平上皮癌では弱陽性細胞をわずかに認める程度であった。また, EGF-Rは, 正常舌粘膜では散在性に陽性所見を認める程度であったが, イニシエーション直後には上皮層全層に陽性所見を認め,

その後上皮性異形成の程度に従い、その発現を増す所見を認めた。以上のことから、これらの蛋白の発現が前癌病変や、早期の癌などの識別を含めた悪性化の指標となることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

口腔領域では白板症、紅斑症など前癌病変が存在し、上皮性異形成に関する診断が重要視されているが、客観的な指標はない。本研究は、上皮性異形成に関する客観的な指標を得る目的で、ハムスター舌における段階的発癌を試み、その発癌過程における細胞動態の解析ならびに癌遺伝子産物の変化について免疫組織化学的に検討を行ったものである。

ハムスター舌縁に、イニシエーターとして9-10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン、プロモーターとして12-O-テトラデカボイルホルボールエステルを使用し、高率に扁平上皮癌の形成を認め段階的発癌を示唆する実験系を得た。その系を用いて、細胞動態の検討を行った結果、DNA合成期細胞は正常上皮や上皮性異形成を示さない肥厚上皮では基底細胞層に存在するが、上皮性異形成を示す上皮および扁平上皮癌ではその異形成が増すにしたがって、その割合が増加し、局在範囲もより上層へと拡大する傾向を認め、このことが上皮性異形成における悪性化への潜在能を知る客観的な指標となると考えられた。また、癌遺伝子産物の検討では、c-fosならびにc-myc蛋白は悪性化にともない細胞内の局在に変化が生じること、H-ras蛋白は上皮異形成の程度が進むに従い染色性の低下を認めること、EGF-Rが発癌過程の比較的早期から、その発現を増すなどの所見を認め、これらの遺伝子産物の消長が前癌病変の識別を含めた悪性化の指標となることが示された。

本研究は段階的発癌系を用い、その過程における細胞動態および癌遺伝子産物の検索から、上皮性異形成および悪性化前後の上皮における客観的な診断指標の解明に寄与した点で価値のある研究であり、本論文は博士（歯学）学位論文として価値のあるものと認めた。