

氏名	野 島 鉄 人
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博乙第 3506 号
学位授与の日付	平成12年9月30日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者（学位規則第4条第2項該当）
学位論文題名	口腔粘膜悪性黒色腫におけるメラノゾームの性状に関する 病理組織学的・電顕的研究
論文審査委員	教授 山本敏男 教授 永井教之 教授 松村智弘

## 学位論文内容の要旨

### 【緒言】

悪性黒色腫は、口腔内では扁平上皮癌に比べ、発生頻度は低い。しかし悪性度が高く、5年生存率が低いことから、早期発見と鑑別診断は極めて重要である。

近年、皮膚の悪性黒色腫における前癌病変の存在が確認されているが、口腔粘膜における初期病変および病理発生については不明の点が多い。口腔粘膜悪性黒色腫の発生母細胞は粘膜上皮基底層に存在するメラノサイトとされているが、口腔粘膜のメラノサイトは皮膚に見られるメラノサイトと機能的差異のあることが報告され、皮膚悪性黒色腫の分類とは区別して扱うべきであるという。悪性黒色腫の病理診断においてメラニン顆粒の存在は重要な意味をもっている。メラニン色素にはユーメラニンとフェオメラニンの2種類が存在し、その割合により生体各部のそれぞれの色を決定している。ユーメラニン、フェオメラニンはその形成初期の反応に共通の化学反応を有するが、ドーパキノン形成した後では、ユーメラニンは自動酸化により5,6ジヒドロキシインドールなどの中間代謝産物を経て合成され、フェオメラニンはドーパキノンにシステインが結合し、5-S-システニールドーパ (5-S-Cysteinyldopa; 5-S-CD) を形成し生合成される。悪性黒色腫に於いてフェオメラニンの中間代謝産物である5-S-CDが増加することが知られ、5-S-CDの血清および組織での検出は新しい診断法として提案されている。最近電顕的にも生理的なユーメラニンとフェオメラニンは区別できることが示されている。ユーメラニンの形態は長楕円形で、NaOHで消化されずSを含んでいないが、フェオメラニンでは円形でNaOHで消化されやすくSを含んでいると言われている。メラノサイト由来病変のメラノゾームがいかなる性状を示しているかの検討は無い。

そこで今回、口腔粘膜の良性病変であるメラニン沈着症および悪性黒色腫を用いて、各疾患の病態とメラニン顆粒の形状と性状の関係について、5-S-CD検出のための蛍光法と共に電顕的、分析電顕的に検討した。

## 【材料および方法】

### 1. 材料

本研究で使用した検査材料は岡山大学・歯学部附属病院病理検査室で扱ったメラニン沈着症3例，上皮内悪性黒色腫1例，浸潤性悪性黒色腫4例である。

### 2. 固定と観察方法

・光顕的観察法：すべての生検および手術材料は10%緩衝ホルマリン液にて固定し，通法に従いパラフィン包埋後，H・E染色標本を作成した。一部の材料で骨・歯牙組織を含む場合は10%ギ酸脱灰液にて脱灰後同様にパラフィン標本とした。

・免疫組織化学染色法：パラフィン標本は，S100蛋白抗体を用い免疫組織化学的染色を施した。

・5-S-CDの蛍光観察：ホルマリン固定・パラフィン標本を，脱パラフィン，乾燥して蛍光顕微鏡（カールツァイスMPM400）で観察した。

・電顕的観察および分析電顕法：材料の一部は2%グルタルアルデヒドと2%パラホルムアルデヒド混合液にて再固定した。再固定後1%OsO<sub>4</sub>液にて後固定を施し，エポン包埋としH800透過型電顕試料とした。超薄切片の一部は観察後0.5N NaOH溶液にて1時間処理を施し再観察した。また，2%グルタルアルデヒドと2%パラホルムアルデヒド混合液にて固定した試料の一部はOsO<sub>4</sub>後固定をせずにエポン包埋を施し，超薄切片を作成，Leo912分析電顕（カールツァイス）にて観察した。S元素の検出には2 windows methodを用いた。

・メラノゾームの長径測定と頻度分布：正常歯肉粘膜のメラノサイト部位，メラニン沈着症のメラノサイト部位，上皮内悪性黒色腫病変の異形メラノサイト部位，浸潤性悪性黒色腫の腫瘍細胞部位の各3検体について，H800型透過電子顕微鏡により2万倍で撮影した。各症例の10万倍電顕写真5枚を用いてメラノゾーム各200個の長径を定量解析し，各症例の平均値によりヒストグラムを作成した。

## 【結果および結論】

口腔粘膜の良性病変，メラニン沈着症及び上皮内悪性黒色腫，浸潤性悪性黒色腫を用いてその病理発生とメラノゾームの形状と性状との相関について電顕的，分析電顕的に検討した結果，次のことを明らかにした。

- 1) 口腔歯肉粘膜に見られるメラニン沈着症はユーメラニンが多く，ユーメラニンの過剰産生とケラチノサイトへの移送現象が病変の本態である。
- 2) 上皮内悪性黒色腫では産生されるメラノゾームは多形の長楕円形が多く，アルカリ溶出性で，多くがS分布を示し，フェオメラニン様のメラニンが増加している。
- 3) 浸潤性悪性黒色腫では産生されるメラノゾームは不正な楕円形，卵円形を示し，アルカリ溶出性で大部分がS分布を示すことから，多くはフェオメラニン様のメラノゾームが増加していた。
- 4) 上皮内悪性黒色腫及び浸潤性悪性黒色腫で産生されるメラノゾームは，部分的にユーメラニンとフェオメラニンの混在するMixed melanosomeが増加していた。
- 5) メラノゾームの形状と性状の差は口腔粘膜のメラノサイト由来の黒色病変の内，メラニン沈着症と上皮内悪性黒色腫，浸潤性悪性黒色腫の重要な鑑別点であり，特に前癌病変の解析に重要な意義を有すると考えられた。

## 論文審査結果の要旨

悪性黒色腫は、口腔内では扁平上皮癌に比べ、発生頻度は低い。しかし悪性度が高く、5年生存率が低いことから、早期発見と鑑別診断は極めて重要である。本研究は口腔粘膜の良性病変、メラニン沈着症及び上皮内悪性黒色腫、浸潤性悪性黒色腫を用いて、悪性黒色腫の病理発生とメラノゾームの形状と性状が悪性黒色腫の鑑別に利用できるか否かを調べることを目的として、5-SCDの蛍光法、透過電顕的、分析電顕的に検討した結果、次のことを明らかにした。

1) 口腔歯肉粘膜に見られるメラニン沈着症はユーメラニンが多く、ユーメラニンの過剰産生とケラチノサイトへの移送現象が病変の本態であった。

2) 上皮内悪性黒色腫では産生されるメラノゾームは外形の不規則な長楕円形が多く、アルカリ溶出性で、多くがイオウ(S)分布を示し、5-SCD 蛍光を示すことからフェオメラニン様のメラノゾームが増加していた。

3) 浸潤性悪性黒色腫では産生されるメラノゾームは不正な楕円形、卵円形を示し、アルカリ溶出性で、Sが増加し5-SCD が蛍光を示すことから、フェオメラニン様のメラノゾームであり、その数が増加していた。

4) 上皮内悪性黒色腫及び浸潤性悪性黒色腫で産生されるメラノゾームは、部分的にユーメラニンとフェオメラニンの混在する Mixed melanosome が増加していた。

5) いわゆる無色素性悪性黒色腫は電顕的には小数のメラノゾームが個別に存在することから、光顕的メラニン沈着は電顕的には Compound melanosome と考えられた。

6) メラニン沈着症と上皮内悪性黒色腫、浸潤性悪性黒色腫のメラノゾームの形状と性状の差は口腔粘膜のメラノサイト由来の黒色病変の内、重要な鑑別点であり、特に前癌病変の解析に重要な意義を有すると考えられた。

以上の研究結果は、口腔粘膜の黒色病変、メラニン沈着症例及び悪性黒色腫の病理発生及び鑑別診断の重要な所見として評価出来る。よって本申請論文は学位論文の価値に足るものと認める。