



Title	形成途上のラット唾液腺筋上皮細胞の免疫組織化学的研究
Author(s)	山内, 忍
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41523
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	山 内 忍
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 5 4 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 11 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科歯学基礎系専攻
学 位 論 文 名	「形成途上のラット唾液腺筋上皮細胞の免疫組織化学的研究」
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 伊集院直邦 (副査) 教 授 栗栖浩二郎 助教授 大嶋 隆 講 師 北村 正博

論 文 内 容 の 要 旨

唾液腺腫瘍の組織形成における筋上皮細胞の役割を明らかにする上で、同細胞の発生に伴う蛋白質発現の詳細を知ることが必要不可欠であると考えられる。

筋上皮細胞は平滑筋細胞と上皮性細胞の特徴をあわせもち、その結果これらの細胞に特異的な蛋白質を同時に発現している。このうち α 平滑筋アクチン (α SMA) と h1 カルポニン (CP) は筋上皮細胞に、ケラチン 14 (K14) は筋上皮細胞に加えて導管基底細胞にも特異的であるとされているが、現在までのところ分化途上の筋上皮細胞におけるこれら蛋白質の発現については明らかではない。

多形性腺腫に代表される唾液腺腫瘍を構成する腫瘍性筋上皮細胞の多くが S-100 蛋白質 β サブユニット (S-100 β)、ビメンチン (VM)、グリア線維性酸性蛋白 (GFAP) といった成熟筋上皮細胞にはみられない蛋白質を発現するが、これらの蛋白質が分化途上の未熟な筋上皮細胞に発現されているかどうかについても明らかにされていない。

以上の理由から分化途上の筋上皮細胞による α SMA, CP, K14, S-100 β , VM, GFAP の発現を免疫組織化学的に検索した。検索対象動物としては唾液腺ならびに筋上皮細胞の発生の詳細が最も明らかにされているラットを用いた。その結果、CP と α SMA が分化初期の筋上皮細胞に発現されていたことから、これら蛋白質の免疫組織化学の臨床材料 (多形性腺腫) への応用の可能性についても検討した。

【材料及び方法】

1. ラット唾液腺筋上皮細胞の免疫組織化学

胎生 18-21 日、生後 0-35 日および成熟齢 (4-6 か月) の SD 系ラットを使用した。生後齢のものは全て雄を用いた。抱水クロラル (20mg/100g 体重) 麻酔を施した妊娠母親ラットから胎児を取り出し、その頭頸部を得た。また同麻酔下の生後齢ラットから耳下腺、顎下腺、舌下腺を得た。これらの材料は methacarn で室温 36 時間、あるいは 4% パラホルムアルデヒド (PFA) で 4℃ 一晚固定した。一部の生後齢ラットは PFA による灌流固定を行い、唾液腺を摘出した。摘出した唾液腺は PFA でさらに 4℃ 一晚固定した。methacarn 固定した臓器組織はパラフィン包埋標本とし、PFA 固定したものは OCT compound に包埋し凍結標本とした。各標本から切片を作製し、それぞれの蛋白質に特異的なモノクローナル抗体を用いて、酵素抗体法による光顕ならびに電顕免疫組織化学を行った。

2. 多形性腺腫の免疫組織化学

ホルマリン固定パラフィン包埋された正常唾液腺を含む多形性腺腫標本から切片を作製し、Curren と Gregory (1978), Shi ら (1991) あるいは Cattorette ら (1992) の方法で抗原賦活を試みた。抗原賦活後、酵素抗体法による免疫組織化学を行った。

【結果】

1. ラット唾液腺筋上皮細胞の免疫組織化学

すべての唾液腺において筋上皮細胞には α SMA, CP, K14 のみの発現が認められ、S-100 β , VM, GFAP の発現は認められなかった。

顎下腺と舌下腺では胎生19日に、耳下腺では胎生21日に初めて CP の発現が認められた。 α SMA の発現開始はすべての唾液腺で CP より一日遅れた。K14は舌下腺では胎生21日、耳下腺では生後5日で初めて一部の筋上皮細胞に発現が認められた。その後もK14の発現は一部の筋上皮細胞に限られたままであった。顎下腺では成熟ラットで初めて一部の筋上皮細胞にK14の発現が認められた。K14の発現は線条部および排泄導管の基底細胞にも見られ、これは舌下腺で胎生20日、顎下腺で胎生21日、耳下腺で生後3日から始まった。

さらに各唾液腺の形成に伴い筋上皮細胞の分布に変化がみられた。耳下腺と舌下腺では生後2-4週の離乳時に急激な腺房の増大がみられるが、これに伴って腺房周囲の筋上皮細胞は急速に減少した。この後腺房周囲の筋上皮細胞は耳下腺では消失したままであったのに対し、舌下腺では再び出現した。顎下腺では生後4週までの腺房-介在部導管構造の出現を待って後に腺房周囲に筋上皮細胞が出現しはじめた。

2. 多形性腺腫の免疫組織化学

唾液腺の染色結果から、 α SMA は抗原賦活を必要としなかったのに対し、CP は必要であった。CP の抗原賦活法としてはクエン酸緩衝液 (pH6.0) 中で10分のマイクロウェーブ加熱が最適であった。多形性腺腫組織では上皮性構造ならびに間葉性構造の腫瘍細胞の多くがCP陽性であったのに対し、 α SMA 陽性細胞はわずかであった。

【考察および結論】

1. 現在までラット唾液腺筋上皮細胞の分化の初期は電子顕微鏡によってのみとらえられており、顎下腺と舌下腺で胎生18日、耳下腺で胎生20日頃にその分化が始まり、顎下腺と舌下腺で胎生20-21日、耳下腺で生後1日頃にマイクロフィラメントの出現が明らかになる。本研究はこれらの時期の筋上皮細胞をそれぞれ CP と α SMA の免疫組織化学により、光顕レベルでとらえられることをはじめて示した。

2. 筋上皮細胞におけるK14の発現開始時期は、平滑筋細胞蛋白質より遅れ、その発現は筋上皮細胞では各唾液腺の腺房-介在部導管構造の確立する時期に、導管基底細胞では導管構造の確立する時期にほぼ一致し、さらに筋上皮細胞は heterogenous 細胞で、少数のK14陽性のものと多数のK14陰性のものの2種類あることが明らかになった。

3. 腫瘍性筋上皮細胞のマーカーとされている S-100 β , VM, GFAP は成熟した筋上皮細胞はもとより未熟な筋上皮細胞にも発現されなかったことから、これらの蛋白質は唾液腺腫瘍中の筋上皮細胞の同定には不適當であると考えられる。

4. 腺房の発達に伴い、従来知られていた耳下腺のみならず、すべての唾液腺で筋上皮細胞の分布にそれぞれ特有の変化がみられることが明らかになった。このことから、機能的に成熟した筋上皮細胞は、離乳期を過ぎた後に粘液腺や漿粘液腺の腺房に出現すると考えられる。

5. CP の免疫組織化学は抗原賦活法により通常の臨床材料で行うことができ、筋上皮細胞がその組織構築に主要な役割を担っていると考えられている多形性腺腫において腫瘍細胞の多くが陽性であった。今後本法は種々の唾液腺腫瘍の組織形成における筋上皮細胞の役割を明らかにする上で、有効な手段になることが期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究は、正常筋上皮細胞ならびに腫瘍性筋上皮細胞に特異的な蛋白質の分化途上の唾液腺筋上皮細胞による発現を免疫組織化学的に調べ、これにより得られた結果の臨床病理学への応用の可能性を検討したものである。

その結果、未熟な筋上皮細胞には α 平滑筋アクチンとh1カルポニンが分化初期から、ケラチン14が終末部分泌装置の確立時から発現した。これら筋上皮細胞は、各大唾液腺の発生に伴いそれぞれの唾液腺で特異的な分布を示した。また多形性腺腫における腫瘍性筋上皮細胞の多くがh1カルポニンを発現することが明らかになった。

本研究結果は従来電子顕微鏡でのみ可能であった分化初期の筋上皮細胞を光学顕微鏡でとらえることを可能にし、これにより唾液腺の発生に伴う筋上皮細胞の動態に関して新しい知見を与えるとともに、唾液腺腫瘍の臨床病理学的検討に有望な手段を提供した。

従って本研究者は博士（歯学）の学位を取得する資格があるものと認める。