舌の早期癌性変化に関する実験的研究（予報）

藤田浄秀・賀来 亨・黒木信雄・早津良和・陳元徳・佐々木元賢

Experimental studies on early cancerous conditions of the tongue : A preliminary report

Kiyohide FUJITA・Tohru KAKU・Nobuo KUROKI・Yoshikazu HAYATSU
YenTeh CHEN・Motomasa SASAKI

はじめに

悪性腫瘍の治療成績を向上させるためには早期診断ならびに早期治療が必要とされる。口腔癌にあっても早期診断は治療の重要な第一歩であるが、その早期診断は必ずしも容易とは限らない¹⁾。

口腔癌に関し、以前の生検診断では癌の確診がなされなかったが、長期間の経過観察の後に明らかに癌と診断しうるに至る症例のあることが報告されており、また良性悪性境界病変を有する症例のとりあつかいは臨床的にしばしば問題となることが指摘されている¹⁾。

このような症例のとりあつかいに関する判断のよりどころは、多くの症例の観察を積重ね、その予後追求の経験にもとづいて導き出されねばならないが、口腔癌においては経験される症例数が余り多くない。

そこでわれわれは、ヒトの口腔癌の早期像に関する知見を補うために、われわれの作り上げた舌癌の実験モデル^{2)~9)}が応用出来ないか否かを検討したので、ここに報告する。

実験材料ならびに方法

実験動物は、生後約2カ月の雄ハムスター (*Mesocricetus auratus*) 25匹で、固型飼料 (オリエンタル NMF) と水を常時与えた。

発癌剤は、9,10-dimethyl-1,2-benzanthraceneの0.5%アセトン溶液で、毎週3回、エーテル麻酔下に、舌の1/3側縁中左部に歯科用クレンザー (ピアス製, No. 1) で数回擦過すると同時に塗布した。

実験動物を3群に分け、第I群15匹は実験開始後第14週目で、第II群5匹は実験開始後第17週目で、第III群5匹は実験開始後第20週目で、それぞれ発癌剤の塗布を中

止し、その後第50週目まで経過を観察した。

実験経過中、適宜肉眼写真を撮り、また症例によっては1回を限度として生検を行った。肉眼的に明かに癌と思われる症例ならびに全身衰弱の著明な症例は断頭屠殺した。実験開始後第50週目まで生き残っていた動物は、癌と思われなかったが断頭屠殺した。全実験動物に組織学的検索を行った。

実験結果

1 各群の実験経過

1) 第I群(15匹)：実験開始後第14週目まで塗布

実験開始後第5週目から第11週目までの間に実験動物の全例において実験部位に小腫瘤の形成が認められた。これらの小腫瘤は次第に増大し、早い例では第10週目頃より肉眼的に癌を思わせた。

第11週目(症例1)と第14週目に各1匹を断頭屠殺した。第14週末日で発癌剤の塗布を中止したが、この時点では残り13匹の実験動物の腫瘤は、大きくて表面がやや壊死傾向を示して癌が疑わしい症例からまだ小さくて全く癌とは思われない症例まで種々認められた。

発癌剤の塗布を中止した後も腫瘤の多くは徐々に増大を続けた。その後に癌を思わせるに至ったので、実験開始後第20週目までに3匹、第25週目に5匹をさらに断頭屠殺し、また、癌とは思われなかったが第24週目に全身衰弱の著明となった1匹(症例2)を断頭屠殺した。この時点で、残り4匹では腫瘤は小さく、壊死傾向もなく、癌を思わせる所見は全くなかったが、経過観察を続けているうちに1匹に第30週目頃から腫瘤表面に壊死傾向があらわれ、それが次第に広がり、第36週目には潰瘍型の舌癌が認められるに至ったので断頭屠殺した(症例3)。

残り3匹は、さらに第50週目まで観察したが、組織学的にも癌性変化は認められなかった(症例4…3匹のうち1匹)。

以上のごとく、実験開始後第14週目まで発癌剤を塗布

札幌医科大学口腔外科学教室 (主任：佐々木元賢教授)
Department of Oral Surgery, Sapporo Medical College.
(Chief: Prof. Motomasa Sasaki)
受付 昭和49年8月2日

写真 1 実験開始後第11週目。舌の後方に肉眼的に癌と思われる腫瘍の形成が認められる。

写真 2 組織像。実験開始後第11週末日。写真1と同一例。扁平上皮癌と診断された。H-E染色, $\times 3$

写真 3 実験開始後第14週目。舌側縁中1/3部に腫瘍の形成が認められる。

写真 4 実験開始後第17週目。写真3と同一例。腫瘍はさらに増大している。

写真 5 実験開始後第20週目。写真3, 4と同一例。腫瘍はさらに増大している。矢印部分より生検用組織片が採取された。

写真 6 組織像。実験開始後第20週目。写真5の生検。癌性変化は認められない。H-E染色, $\times 3$

写真 7 実験開始後第22週目。腫瘤は咽頭を閉塞する程に増大している。

写真 8 組織像。実験開始後第24週目。写真7の2週間後。外向性腫瘤の大部(A)分には癌性変化は認められないが、一部分(B)には癌性変化が認められる。H-E染色, $\times 3$

写真 9 組織像。写真8のA部分の拡大。癌性変化は認められない。H-E染色, $\times 30$

写真 10 組織像。写真8のB部分の拡大。扁平上皮癌の組織像を呈する。H-E染色, $\times 80$

写真 11 実験開始後第14週目。舌側縁中1/3部に腫瘤の形成が認められる。

写真 12 実験開始後第36週目。写真11と同一例。舌側縁は潰瘍状を呈し、肉眼的に癌を思わせる。

し、その後放置観察した群では、実験動物15匹中12匹に舌癌の形成が認められた。そのうち1匹(症例3)は、特に長期間の経過観察の後にはじめて癌性変化が明らかとなった症例であった。

以下に、第1群の代表的症例を示す。

症例1: この例では、実験開始後第6週目に実験部位に小腫瘤の形成が認められた。この小腫瘤は次第に増大し、第10週目には腫瘤の表面が壊死に陥り、肉眼的に癌を思わせた(写真1)。第11週目に断頭屠殺し、舌の組織学的検索を行ったところ、扁平上皮癌の組織像が認められた(写真2)。すなわちこの例では、実験開始後第10～11週という短期間に舌癌が形成された。

症例2: この例では、実験開始後第6週目に実験部位に乳頭腫様小腫瘤の形成が認められた。この小腫瘤は次第に増大し、第14週末日には写真3の状態になった。その後発癌剤の塗布を中止して経過を観察したところ、腫瘤は自律的に増大を続けた(写真4, 5)。実験開始後第20週目に腫瘤の一部(写真5の矢印部分)を生検に供し

たが、癌性変化は認められなかった(写真6)。腫瘤はその後も増大を続け、咽頭を閉塞する程になった(写真7)。全身衰弱が著明となって来たので第24週末日に断頭屠殺し、組織学的検索を行ったところ、外向性腫瘤の外表面に一部癌性変化が認められた(写真8～10)。さきに生検を行ったと思われる部分には癌性変化が明らかでなかった。

症例3: この例では、実験開始後第14週目には肉眼的に癌とは考えられにくかった(写真11)。その後経過を観察していたところ、この腫瘤は徐々に増大したが、余り大きくならず第30週目頃から腫瘤表面に壊死が認められて来た。第36週目までに腫瘤は壊死で消失し、その部分は潰瘍状となり、癌を思わせるに至ったので(写真12)断頭屠殺し、組織学的検索を行ったところ、舌筋内に広汎な浸潤を示す舌癌が認められた(写真13, 14)。すなわちこの例は、長期間の経過観察の後に癌性変化が明らかとなった症例である。生検は行わなかった。

症例4: この例では、実験開始後第10週目に実験部位

写真13 組織像。実験開始後第36週末日。写真12と同一例。舌筋内に腫瘍組織の広汎な浸潤が認められる。H-E染色, $\times 3$

写真14 組織像。写真13の一部拡大。扁平上皮癌の組織像を呈する。H-E染色, $\times 30$

写真15 実験開始後第20週目。舌側縁に1/3部に腫瘤の形成が認められる。

写真16 実験開始後第50週目。写真15と同一例。腫瘤はやや増大しているが、肉眼的に癌は思わせない。舌背に4～5個の白色～灰白色の外向性小腫瘤の形成が認められる。

に腫瘤の形成が認められた。この小腫瘤は次第に増大したが、第20週目に至っても癌を思わせなかった(写真15)。その後実験開始後第50週目まで経過観察を行ったところ、腫瘤はやや増大し、舌背に4～5個の白色ないし灰白色の外向性小腫瘤の形成が認められたが、肉眼的に癌を思わせるに至らなかった(写真16)。組織学的にも癌性変化は認められなかった。

因みに、第50週目まで観察された3匹のうちの残り2匹もこの例とはほぼ同様の経過をとり、舌背にはやはり数個の外向性小腫瘤の形成が認められた。また、組織学的にも癌性変化は認められなかった。

2) 第Ⅱ群(5匹): 実験開始後第17週目まで塗布

実験開始後第6週目から第12週目までの間に実験動物の全例において実験部位に小腫瘤の形成が認められた。これらの小腫瘤は次第に増大し、早い例では第15週目より肉眼的に癌を思わせた。

第16週目に1匹を断頭屠殺した。第17週末日で発癌剤の塗布を中止したが、その後経過観察を行ったところ、順次肉眼的に癌を思わせるに至ったので、実験開始後第28週末日までに残り全例を断頭屠殺した。

組織学的検索の結果、全例に扁平上皮癌が認められた。

3) 第Ⅲ群(5匹): 実験開始後第20週目まで塗布

実験開始後第5週目から第12週目までの間に実験動物の全例において実験部位に小腫瘤の形成が認められた。これらの小腫瘤は次第に増大し、早い例では第15週目頃より肉眼的に癌を思わせた。

第16週目と第19週目に各1匹を断頭屠殺した。第20週末日で発癌剤の塗布を中止したが、その後経過観察を行ったところ、残り3匹中2匹が肉眼的に癌を思わせるに至ったので、第23週目と第26週目に断頭屠殺した。

これら4匹には、組織学的に扁平上皮癌が認められた。しかし、残り1匹は実験開始後第50週目まで観察したが、組織学的にも癌性変化は認められなかった。

II 生検用組織片の採取

腫瘍組織が、メスを加える操作によって何らかの影響を受けるのを恐れて、生検は症例によっては1回を限度にして行った。舌側縁中1/3部では、歯科用クレンザーの擦過と発癌剤の塗布とにより、通常外向性腫瘤が形成される¹⁰⁾。生検用の組織片は、この腫瘤の一部をわずかの量採取してえた。

肉眼的に壊死や潰瘍が認められず、未だ癌とは思われない腫瘤では、メスを加える操作で大きな影響は受けないように観察されたが、壊死や潰瘍を生じて肉眼的にもすでに癌と思われる腫瘤では、メスを加える操作で潰瘍がさらに拡大する症例が観察された。しかし、メスを加える操作を契機として腫瘤が急速に増大した症例や腫瘍が急速に舌筋中に浸潤を示した症例は観察されなかった。

考按ならびに総括

以上の実験結果が示すように、発癌剤の塗布を中止した後にも、徐々にではあるが腫瘤が自律性に増大し、長い経過の後に肉眼的にも明らかな癌に至る症例が観察された。これらの症例の中には、塗布を中止した時点ですでに肉眼的に癌のはじまりであろうと推測された例がその後明らかな癌に至る症例もあるが、塗布を中止した時点には肉眼的には癌を思わせず、しかも生検によっても癌の確診がなされなかったが、長期間の経過観察の後に肉眼的にも組織学的にも明らかに癌と診断しうるに至る症例も少数認められた。後者のような症例において、当初の所見と長い経過の後に明らかになった癌との関連は、

① 塗布中止時には、未だ癌化していなかったが、その後の経過で癌化した

② 塗布中止時に、すでに腫瘤の一部が癌化していたにもかかわらず、生検用組織片は非癌部から採取された

③ 塗布中止時に、すでに腫瘤は癌化しており、しかも生検用組織片はこの部から採取されたが、たまたま組織学的に癌と診断されなかった

などが概念的に考えられる。

①に関して、良性腫瘍が長い経過の間に悪性化するものが知られているので、われわれの症例の中にもこれに相当する例があるかも知れない。しかし、ある良性腫瘍と考えられる例が、長く良性のままに留まるか、それとも将来悪性化するかを前もって知ることは現在のところ不可能であるし、われわれの症例のretrospektivな検討でもこれに対する解答は全くえられなかった。しかも、生検で悪性所見が全く認められないのに、長期の経過観察の後に明らかな癌の認められる症例があったとしても、生検では腫瘤の全体を調べることが出来ず、悪性変化が腫瘤のいずれの部位にもなかったとはいききれず、したがって①に相当する症例を確認することは出来ない。しかし、さきにわれわれが報告した舌側縁中1/3部における舌癌形成過程の組織学的研究¹⁰⁾によれば、実験開始後第15～16週目の早期に少数の例では癌性変化が認められるが、残りの多数の例では組織学的に癌と診断されえないことも多かった。それにもかかわらず、本研究で第14週末日で発癌剤の塗布を中止した15匹中12匹(80%)に長期の経過観察の後に癌性変化が認められたのは、この時点で組織学的には悪性とは考えられない症例の多くに将来癌化するための何らかの変化がすでに起きているのかも知れない。これらの変化を知るには、通常の組織学的手段だけでは不可能で、生化学的、組織化学的あるいは電顕的手段など他の研究方法によらねばならないと考えられる。

症例2では、発癌剤の塗布中止後も腫瘤が増大を続け、咽頭を閉塞するまでに至った。生検では癌性変化が認められなかったが、断頭屠殺後の組織学的検索では腫瘤の

一部に癌性変化が認められた。しかも、さきに生検を行ったと思われる部分には癌性変化は認められなかった。このことから、生検時にはまだ癌性変化が起きていなかったのか、それともすでに腫瘍の一部に癌性変化が起きていたが、生検組織片がたまたま非癌部から採取されたのかは明らかでない。すなわち、症例 2 が①に相当する例か②に相当する例かは不明である。

しかし、以前に生検を行ったと思われる部位から離れた他の部位に癌性変化が認められたので、むしろ②に相当する可能性が大であると推察される。

症例 2 のように、腫瘍の一部分にのみ悪性変化が認められる場合、その早期癌性変化が腫瘍のどのような部分にまず認められるのかを検討することは重要な課題と思われる。もしこれを知りうれば、どのような部位に生検を試みれば高い率で早期癌性変化が見出されることもある程度明らかになるはずであり、癌の早期診断に役立つと思われる。もしこれを知りえないならば、肉眼的に特に癌を疑わせる部位を有しない腫瘍でごく早期の癌性変化を生検で診断するには、腫瘍の異なった部位から数多くの組織片を採取するか全摘出するかしない限り、早期癌の発見は困難ではないかと思われる。しかし、舌側縁中 1/3 部における舌癌の形成過程¹⁰⁾で、時期が進むと腫瘍の一部に出血や壊死、潰瘍などが認められるようになるが、このような時期では、これらの壊死潰瘍部分を含めて生検用組織片を採取した場合に最も高い率で癌を発見しうる。すなわち、同一の腫瘍で、壊死潰瘍部分を含めた組織片では癌と診断されながら、他の部位の組織片では癌性変化が見出されないことがあるのをわれわれは経験している。

③に関して、生検では細胞異型性ならびに構造異型性の程度から癌と診断されなかったが、生検時の組織像と断頭屠殺後の組織像とに差異がなく、しかも後者では浸潤像や転移が認められることから、生検用組織片がすでに癌組織であったと考えざるをえない症例は、前述のように概念的には考えられたが、われわれの実験例では癌組織を癌と診断しえなかった症例は全くなかった。

細胞の分化度が高く、腫瘍組織の下方増殖の傾向が認められてもなお粘膜下組織にとどまり、いまだ浸潤性増殖が明らかでない場合には、良性悪性の判断の困難なことがあるといわれている¹⁾。さきの報告のとおり¹¹⁾、舌背部における舌癌では細胞の分化度も高く、下向性増殖を示すために、早期の癌性変化の診断が困難なことが多い。しかし、本実験で③に相当する症例が認められなかったのは、舌側縁中 1/3 部における舌癌では特に分化度の高い例が多くなく、腫瘍は外向性増殖を示し、舌背部における舌癌とは異った形成過程をとるためと思われる。

さて、腫瘍の生検にさいして問題となることの 1 つは、生検のためにメスを加える操作によって腫瘍が急性増悪を示し、転移も高まるのではないかと恐れられているこ

とである。本実験でも、この点を考慮に入れて実験経過中の生検は 1 回を限度に行ったわけであるが、実際に生検のためにメスを加える程度の操作で腫瘍の増悪や転移の増加が認められるかどうかは疑問である。Shklar¹²⁾は、ハムスターの頬嚢に形成した扁平上皮癌では、メスを加えたり、いじったりした群と対照群とを比べても腫瘍細胞の悪性度や下部組織への浸潤の程度、転移の率などに全く差異を認めないと報告している。われわれも、今までに行ってきた実験²⁾³⁾¹⁰⁾や本実験を通して、特に生検組織片の採取を契機として腫瘍が増悪したと考えられる例は経験していない。むしろ、肉眼的にも明らかに癌と思われる腫瘍にメスを加えた場合には、感染も加わるためか、腫瘍は壊死に陥り、腫瘍が縮小ないし消失することの多いことを認めている。すなわち、少なくとも実験舌癌では数少ない生検操作で腫瘍の急性増悪は認められないように思える。

なお、今までのわれわれの実験で最も早期に舌癌が認められたのは、実験開始後第 14 週目であったが¹⁰⁾、今回の実験において第 I 群の 1 例に実験開始後第 11 週目という早期に舌癌が確認された。

以上のように、ヒトの口腔癌におけると同様に、実験的舌癌形成においても生検診断では癌の確診がなされないが長期間の経過観察の後に癌性変化が明らかとなる症例が認められた。このような症例を積重ねることにより、ヒトの口腔癌の早期像に関する知見も少なからず補われるのではないかと思われる。このことから、われわれの作り上げた実験モデルが早期癌性変化に関する研究に十分応用出来るのではないかと考えている。ただし、今回は動物数も少ないのでわれわれの実験モデルの応用性を予報として述べるにとどめ、生検による早期癌性変化診断上の問題点について若干の考按を加えた。

文 献

- 1) 田代英雄：口腔癌様相に関する臨床的病理学的研究。口科誌 22：176～198 1973。
- 2) Fujita, K., Kaku, T., Sasaki, M. and Onoe, T. : Experimental production of lingual carcinomas in hamsters by local application of 9,10-dimethyl 1,2-benzanthracene. J Dent Res 52：327～332 1973。
- 3) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢, 小野江為則：舌癌の実験的形成に関する研究 第 1 編 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene の塗布による舌癌の実験的形成。口科誌 21：999～1012 1972。
- 4) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢, 小野江為則：舌癌の実験的形成に関する研究 第 3 編 実験動物の月令差が舌癌の形成におよぼす影響。日口外誌 18：486～489 1972。
- 5) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢：舌癌の実験的形成に関する研究 第 4 編 舌癌形成の部位的差異に関する研究。口科誌 22：362～374 1973。
- 6) Fujita, K., Kaku, T., Sasaki, M. and Onoe,

- T. : Experimental production of lingual carcinomas in hamsters : tumor characteristics and site of formation. J Dent Res 52 : 1176~1185 1973.
- 7) 賀来 亨, 藤田浄秀, 佐々木元賢 : 舌癌の実験的形成に関する研究 第5編 各種発癌剤による舌癌の実験的形成. 日口外誌 19 : 254~258 1973.
- 8) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢 : 舌癌の実験的形成に関する研究 第6編 実験動物の性差ならびに発癌剤の塗布頻度の差が舌癌の形成におよぼす影響. 日口外誌 19 : 259~265 1973.
- 9) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢, 小野江為則 : 舌癌の実験的形成に関する研究. 北海道歯科医師会誌 28 : 5~14 1973.
- 10) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢, 小野江為則 : 舌癌の実験的形成に関する研究 第2編 舌癌形成過程の組織学的研究. 口科誌 22 : 64~75 1973.
- 11) 藤田浄秀, 賀来 亨, 佐々木元賢 : 舌癌の実験的形成に関する研究 第7編 舌背部における舌癌形成過程の組織学的研究. 口科誌 22 : 550~562 1973.
- 12) Shklar, G. : The effect of manipulation and incision on experimental carcinoma of hamster buccal pouch. Cancer Res 28 : 2180~2182 1968.
-