唾液腺多形性腺腫の組織化学的研究

岡 本 次 郎

Histochemical studies of enzymes in salivary pleomorphic adenomas

Jiro OKAMOTO

I. 緒 言

唾液腺の組織化学的研究はかなり古くからあり、多糖体、脂質、蛋白質、その他基本物質の証明が行われている。酵素組織化学の発達にともない、人および哺乳動物の唾液腺について多種類の酵素の分布が判明しており、succinate dehydrogenase と糸粒体、唾液腺、導管系の構造、alkaline phosphatase と筋上皮細胞との関係等、腺細胞の持つ酵素活性と腺機能との相関が討論されている。また人の唾液腺腫瘍についての酵素組織化学的研究は Chaune, Shklar, Brooks (1962)¹¹⁾, Murata, Miyaji (1966)⁶¹⁾, Bruce, Wersheimer (1967)⁶⁾, Mori, et al, (1968)⁵⁵⁾, Kaufman, Stiebitz (1969)²⁷⁾, Lim, Mori (1969)³⁸⁾, Mira, Vidi (1970)⁴²⁾ がある。

これらの報告においては多形性腺腫、腺様囊胞癌、腺癌、その他の唾液腺腫瘍について多種類の水解酵素や酸化酵素の組織化学的所見について述べている。本論文は唾液腺多形性腺腫の酵素について組織化学的分布を研究するとともに、正常腺組織または実験的唾液腺腫瘍のそれらと比較検討した。

II. 研 究 材 料

酵素組織化学的に研究した唾液腺多形性腺腫はすでに詳述した臨床的病理組織学的研究⁶³⁾と同一のものである。

組織化学的方法

1) 材料の保存

生検または手術による摘出材料は付着している血液を生理食塩水で流出しドライアイスで凍結し -20°C の低温ストッカーに保存した。

2) 切片の作製

-20°C クリオスタット中にいれ sliding microtome で約20枚の連続切片を作った。切片の厚さは 12μ であ

る。このような連続切片を以下のような5種類の水解酵素と9種類の酸化酵素(脱酸素酵素について組織化学的証明を行うとともにHE染色を行った。

3) 酵素の証明

水解酵素 hydrolytic Enzyme (hydrolase) の証明 alkaline phosphatase (ALP), acidphosphatase (ACP), non-specific esterase (EST), β -glucuronidase (β -Gase), aminopeptidase (AMP) の証明を行った。新鮮凍結切片を固定し、それぞれの酵素証明反応液中で反応させ、水洗、乾燥、バルサム封入を行った。

Alkaline phosphatase (ALP)

新鮮凍結切片を10%ホルマリン水で10分間固定し、次の基質液に 20°C 、15~20~45分間反応させる。Naphthol ASMX phosphate 5 mg DMF 1~2 ml に溶解、pH 9.2 の Clark, Lubs buffer 30 ml を加え、Fast Red Violet LB 30 mg を溶解する。使用直前に作る。酵素陽性部位は赤色となる。

Acid phosphatase (ACP)

新鮮凍結切片を10%ホルマリン水で10分間固定し、次の基質液に 37°C 、30~60~120分間反応させる。Naphthol AS-TR phosphate 5 mg を DMF に溶解、pH 5.8 の M/10, 0.17 Veronal acetate buffer 30 ml を加え、Fast Red Violet LB 30 mg を溶解する。酵素陽性部位は暗赤色となる。

Esterase (non-specific esterase) (EST)

新鮮凍結切片を冷アセトンで10分間固定し、次の基質液に 37°C 、30~60分間反応させる。Naphthol AS-Dacetate 5 mg を DMF に溶解し、pH の M/10 0.17 Michaelis buffer または Veronal buffer 30 ml を加え、Garnet GBC 30 mg を溶解する。酵素陽性部位は黄褐色より赤褐色となる。

β -Glucuronidase (β -Gase)

新鮮凍結切片を10%ホルマリン水で固定し、Post azo coupling 法で証明した。基質液は 6-bromo-2-naphthol- β -D-glucuronide 5 mg を methanol 5 ml に溶解し、pH 4.95 の M/10 phospho-citric buffer 20 ml および蒸留水 75 ml よりなる。この基質反応液に 37°C 6時間反応させ、水洗後 4°C で 0.02M phosphate buffer (pH 7.5) に Diazo blue B を 1 mg/1 ml の割合で溶解させた液

岐阜歯科大学口腔外科第一講座(主任:森 昌彦)
The First Department of Oral Surgery, Gifu College of Dentistry (Chief: Prof. M. Mori)
受付日:昭和51年12月10日

に浸けると青色のアゾ色素が形成される。

Aminopeptidase (AMP)

新鮮凍結切片を10%ホルマリン水で固定し次の基質液に37°C, 20~60分間反応させる。L-leucyl- β -naphthylamine hydrochloride 1.0 ml を pH 6.5 の 0.1M acetate buffer 10.0 ml に溶解, 0.85% 8.0 ml 2×10^{-2} M KCN (1.0 ml) を加え, Fast Blue B または Garnet GBC 1.0 mg

を溶解する。このままのアゾ色素は赤色系でグリセリン封入して観察することが可能であるが、このアゾ色素に 0.1M 硫酸銅を加え銅キレートとして観察してもよい。

酸化酵素(脱水素酵素)の証明

succinate dehydrogenase (SDH), lactate malate glucose-6-phosphate, isocitrate dehydrogenase (LDH, MDH, G 6 PDH, 1DH) および monoamine oxidase (M

写真 1, 2 (1384) 1. HE 染色 2. Alkaline phosphatase $\times 100$ 多形腺腫の腺管様構造を示す上皮細胞に強い ALP 活性が認められる。

写真 3, 4, 5 (1443)

3. HE 染色

4. Alkaline phosphatase

5. Acid phosphatase $\times 100$

多形性腺腫の腫瘍細胞に強い ALP 活性と ACP 活性を示す症例。

AO) の活性証明を行った, SDH 活性の著しい数例については cytochrome oxidase の証明をあわせて行った, すべての酸化酵素の証明には無固定の新鮮凍結切片をただちに 37°C で 30~60 分それぞれの基質液中で反応させた.

Succinate dehydrogenase (SDH)

次の基質液に 37°C 60 分間反応させた, 基質液は 0.2M Sodium succinate 5 ml pH 7.6 の 0.2M phosphate buffer 5 ml, Nitro BT (1 mg/1 ml) 10 ml よりなる, 反

応後 10% ホルマリン水で固定, 水洗, 乾燥, パルサム封入した.

Lactate dehydrogenase (LDH)

Malate dehydrogenase (MDH)

次の基質液に 37°C 30 分間反応させた, 基質液は 0.5M sodium lactate または 1.0 M sodium malate 4 ml, pH 7.4, 0.7 M phosphate buffer 11 ml, Nitro BT (5 mg/3 ml) 3 ml, NAD 2.5 mg よりなる.

写真 6, 7 (1873, 3008)

6. Alkaline phosphatase

7. Lactate dehydrogenase $\times 100$

腺管様または一部乳頭状増殖を示す多形性腫瘍. ALP 活性は間質の毛細血管にのみ陽性である. LDH 活性はすべての腫瘍細胞に陽性反応を示している.

写真 8, 9 (1386)

8, 9. Acid phosphatase $\times 100$

腫瘍間質に存在する組織球は強い ACP 活性を示す.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G 6 PDH)

Isocitrate dehydrogenase (IDH)

次の基質液に 37°C 60 分間反応させた。基質液は 0.02 M disodium glucose-6-phosphate 4 ml または 0.1 M trisodium isocitrate 4 ml, pH 7.6 の 0.1 M veronal acetate buffer 11 ml, Nitro BT (5 mg/3 ml) 3 ml, N⁺ADP 5 mg (G 6 PDH) または 2.5 mg (IDH), 0.5 M MnCl₂ 1.0 ml, 0.001 M MgCl₂ 1.0 ml よりなる。この

液は pH 7.2~7.4 に調整する。veronal buffer の代りに Tris buffer を利用することができる。

Monoamine oxidase (MAO)

次の基質液に 37°C 60 分以上反応させた。基質液は Triptamine hydrochloride 25 mg, pH 7.6 の 0.1 M phosphate buffer 5.0 ml, Nitro BT (1.0 mg/1.0 ml) 5.0 ml, 蒸溜水 15 ml, 硫酸ソーダ 4.0 g よりなる。

Cytochrome oxidase

写真 10, 11, 12, 13 (1169)

10. Alkaline phosphatase

11. Acid phosphatase

12. Lactate dehydrogenase

13. Glucose-6-phosphato dehydrogenase × 100

小腺管様配列を示す多形性腺腫で、腫瘍上皮の一部に ALP 活性を認め、大部分の線管上皮細胞に ACP 活性が陽性である。LDH 活性は全体的に最強度陽性で、活性は線管上皮の腫瘍細胞のみに陽性を示す。

次の基質液に20°C 60～120分間反応させる。基質液は p-aminodiphenylamine 10 mg, p-methoxy-p-aminodiphenylamine (Variamine Blue B) 10 mg を 0.5 ml エタノールに溶解, 蒸留水 35 ml, pH 7.5 の 0.2M Tris buffer 15 ml を加えたものである。(Burstone 法)

酵素組織化学的所見

唾液腺多形性腺腫の各種酵素の分布について記載する。

1. Alkaline phosphatase (ALP)

正常な3大唾液腺ならびに口腔粘膜に存在する小口腔腺において、ALP活性は腺房ならびに導管系上皮細胞には存在しない。筋上皮細胞と腺細胞間に分布する毛細血管が強い活性を示す。腺間の結合織は陰性である。大部分の多形性腺腫の腫瘍上皮細胞に本酵素反応を認めないが、小数例において腺管様構造を示す上皮細胞に強い活

性がある(写真1～4)。また腺腫の大部分にはALP反応を認めないが、腫瘍の一部において腺管上皮にのる活性反応を示すことがある(写真10)。囊胞様に拡大した上皮細胞にはALP反応は存在しない。多形性腺腫におけるALP活性は、その病理学的所見に関係なく一般に腫瘍間質に存在する毛細血管に強い活性を認め(写真6)、時により乳頭状増殖を示す上皮においても反応(写真14)がある。腫瘍間質におけるALPの活性はむしろ低い方であり、間質の粘液腺様または硝子化様の部位は認められない。

2. Acid phosphatase (ACP)

唾液腺腺房および線条部導管のACP活性は中等度であり、間質は陰性である。腺の種類(漿液性、粘液性)により活性に差異がある。多形性腺腫において一般にACP活性は間質に浸潤した組織球に陽性である(写

写真 14, 15, 16 (1450)

14. Alkaline phosphatase

15. Acid phosphatase

16. Succinate dehydrogenase × 100

細かい線管様増殖を示す多形性腺腫で、腫瘍細胞に弱いALP活性、間質中の毛細血管に強いALP活性が認められる。ACP活性は狭い間質中に存在する組織球が陽性である。SDH活性は腫瘍細胞全体に低い活性を示す。

写真 17, 18 (2193)

17. Succinate dehydrogenase

18. Lactate dehydrogenase $\times 100$

大小の腺管ないし導管様構造を示す多形性腺腫で、小さい腺管配列の腫瘍細胞は強い SDH 活性を示す。LDH 活性はすべての腫瘍上皮に強陽性で、間質も中等度の反応を示す。

写真 19, 20 (1140B)

19. Lactate dehydrogenase

20. Glucose-6-phosphate dehydrogenase $\times 100$

この形の腫瘍細胞は全般的に強度の LDH 活性、低い G 6 PDH 活性を示す。

3, 9), 腫瘍細胞における ACP 活性は非常に不規則であり、腺管構造に強く (写真 5, 11) 瀰漫性増殖細胞に活性が低いか陰性である。たとえば充実性の腺腫において腺管を形成する以外の瀰漫性増殖細胞の ACP 活性は

著しく低く、腺管構造上皮のみに強い反応が認められている (写真 11)。乳頭状腺腫の毛細血管と思われるものに強陽性反応を認めるが、このような所見は稀なものといえる (写真 15)。扁平上皮化形成のもので角化の著し

写真 21, 22, 23, 24 (779, 1361)

21. Acid phosphatase

22. Succinate dehydrogenase

23. Lactate dehydrogenase

24. Glucose-6-phosphate dehydrogenase $\times 100$

著しい扁平上皮化を示す多形性腺腫、扁平上皮化部は強い ACP 活性を示す、角質部は SDH, LDH, G 6 PDH の活性を認めない。LDH は一般に腫瘍細胞に最強度陽性、SDH は低い活性、G 6 PDH は中等の反応を示す。

い部位は強い ACP 活性を示している (写真 21)。

3. Esterase (EST)

正常唾液腺においては導管上皮の活性が腺房細胞より強い。腺組織間質の脂肪が強く染まることある。小口腔腺の活性は一般に低い。多形性腺腫においては充実形

のものは一般に陰性、乳頭状または腺管様増殖形のあるものにおいて中等度陽性である。扁平化部の部位は ACP と同様に強い Est 反応がある。間質において ACP 活性陽性の組織球は Est 活性を示すことがある。

4. β -Glucuronidase (β -Gase)

大唾液腺の β -Gase 活性は線条部を中心として強い染色性を認め、腺房細胞の反応は中等度以下である。口腔粘液腺は比較的強い活性を示す。腺腫においてはすべての形のものの上皮細胞に中等度以上の β -Gase 活性を認める。腺管系構造は嚢胞形を除き強い活性を示し、皮脂腺形のものは特に強く染まる。充実性のもので細胞が肉腫様の部位の活性は弱い。間質は活性が低いか、またはこれを欠き、粘液腺様の部位は陰性である。

5. Aminopeptidase (AMP)

正常腺組織はそれ程強い AMP 活性を示さない。口蓋粘液腺は強い AMP 活性を示すことがある。唾液腺多形性腺腫においては AMP は原則的に腫瘍上皮に認められず、間質に著しい反応を示すことが多い。しかし少数例の腺管形腺腫において腺管上皮細胞と間質に著しい AMP 活性を認める。間質の AMP 反応は一般に細胞浸潤に一致して出現するけれども、高度の浸潤部位が必ずしも強い AMP 活性を示すとは限らず、また必ずしも ALP 活性と相関関係を認めない。

6. Succinate dehydrogenase (SDH)

大唾液腺、小口腔腺ともに SDH の活性は導管系上皮細胞に著しい。導管のうちで線条部の細胞が最も高い SDH 活性を示す。漿液腺の細胞は粘液腺に比べ反応が強い。多形性腺腫においてはすべての形において原則的に低い SDH 活性を認める(写真 16, 17, 22, 25, 26)。

特に充実性、瀰漫性の構造においてはその腫瘍細胞の活性は軽度である。充実形の腺腫において小腺管部に一致して強い SDH の活性を認める(写真 17)。腺管系の腺腫において腺管上皮細胞の所々に著しく高い SDH 活性

写真 25, 26 (2145) Succinate dehydrogenase $\times 100$
腫瘍上皮の一部に極めて強い SDH 活性を示す細胞 (oncocyte) がある。

写真 27, 28 (2145)

27. Succinate dehydrogenase

28. Lactate dehydrogenase $\times 100$

多形性腺腫中の好酸性細胞。好酸性細胞は強い SDH, LDH 活性を示す特徴がある。

写真 29 (999, 1401) Lactate dehydrogenase $\times 100$
硝子様変性部の LDH 活性

を持った細胞が認められることがある (写真 25, 26)。充実形または腺管形の多形性腺腫のなかには、部分的に非常に強度の SDH 活性を保った細胞が存在している (写真 27)。これらの SDH 最強度陽性細胞は大唾液腺の線条部上皮、または小口腔腺の導管上皮細胞の SDH 活性に類似しており、腺腫の oncocytic changed cell (好酸性腺腫細胞) と考えられる。扁平上皮化成分において、角化の著明な部位は SDH 陰性である。間質はその活性が低く、特筆すべき所見を認めない。

7. Lactate dehydrogenase (LDH) および malate dehydrogenase (MDH)

すべての唾液腺の腺房細胞、導管上皮細胞ともに強い反応を示す。しかし導管上皮の SDH の染色性の方が LDH, MDH の染色性より強い。あらゆる組織形の多形性腺腫は強い LDH 活性を示すのを原則としている (写真 7, 12, 18, 19, 23, 28, 29)。特に充実形のものにおいては瀰漫性の腫瘍細胞よりも腺管系の細胞の LDH 活性が高い (写真 12, 18)。扁平上皮化成分の角化梁周囲の腫瘍細胞は強い LDH の染色性を認める (写真 23)。好酸性腫瘍細胞は著しい SDH 活性とともに最強度の LDH 反応が認められる (写真 28)。間質の線維性細胞は中等度以上の LDH 活性を示すが、硝子様間質においても線維成分は明らかな LDH 活性がある (写真 29)。粘液腫様間質は染まらない。多形性腺腫における MDH の分布とその活性は LDH のそれらに似

ている。

8. (Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) および isocitrate dehydrogenase (IDH))

唾液腺におけるこれらの NADP-dependent dehydrogenase の活性は軽度であり、SDH 活性のように特徴ある組織分布を示さない。多形性腺腫においては一般に G6PDH, IDH とともに、その活性が低く、特に瘦形、瀰漫性増殖を示す腫瘍細胞は低い反応を示すことが多い (写真 20)。しかし充実形の腺腫において、腺管構造の上皮細胞は著しい G6PDH の染色が認められる (写真 13)。扁平上皮化成分の扁平上皮に比較的に強い G6PDH 活性を認める。これは角質梁周囲の上皮細胞で扁平上皮の顆粒細胞層に一致する部位である (写真 23)。腺管充実形の腺腫において、著明な G6PDH と IDH 活性を認め、これらは SDH, LDH とは異なった分布を示している。SDH 強陽性の好酸性細胞において、これらの酵素活性は低い。間質結合組織および炎症巣の反応は低く、時に毛細血管が明らかな G6PDH 活性を示す。粘液腫様または硝子様間質の反応は非常に低いか、陰性である。

9. Monoamine oxidase (MAO)

大唾液腺および小口腔腺における MAO の分布は、腺房と導管系上皮細胞の染色性に明らかな差異を認めず、染色性は中等度または軽度である。一般に腺腫において、その活性は弱陽性であり、何ら特徴のある組織化学的所見を示さない。しかし腺管充実形の 1 例において、腺腫細胞全体が中等度ないし強度の MAO 活性を認めた。

10. Cytochrome oxidase

唾液腺における cytochrome oxidase の組織化学的分布は SDH のそれに一致する。すなわち線条部の上皮細胞が最強度の活性を示している。これは糸粒体の分布と関係がある。唾液腺多形性腺腫の全症例に cytochrome oxidase の染色を実施しなかったが、主として SDH 活性の強い腫瘍について行った。このなかで SDH 活性の著明な好酸性腺腫と考えられる症例において SDH 反応と cytochrome oxidase は分布と活性度において一致する。充実形、腺管系等の腺腫細胞は SDH 活性の強弱と同様に本酵素反応も出現する。

考 察

唾液腺の粘液多糖体の組織化学的研究は、古くから多くの研究者により報告されている。人または哺乳動物の大唾液腺の酵素組織化学的研究はかなり報告されているが^{4,7,9-11,13,22,28-31,33,34,36,63,76,77}、小口腔腺の報告はほとんど認められない。人または哺乳動物の唾液腺における酵素分布をまとめると表 1 のごとくなる。

この表 1 は水解酵素と酸化酵素の分布をまとめたもの

表 1

	Acini				Myo epithelium	Ducts			
	Serous cells		Mucous cells			Striated duct		Secretory duct	
Alkaline phosphatase	0		0		+4	0		0	
Acid phosphatase	+1	+3	+1		?	+1	+2	+1	+2
Non-specific esterase	+1	+2	+1	+2	?	+1		+1	
β -glucuronidase	+1	+3	+1	+2	?	+2		+1	
Aminopeptidase	$\pm$	+2	$\pm$		0	+2		+1	+2
Succinate dehydrogenase	+1	+2	+1		?	+4		+1	+2
Cytochrome oxidase	+1	+2	+1		?	+4		+1	+2
Lactate dehydrogenase	+2		+1	+2	+1	+3		+2	+3
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	$\pm$	+1	$\pm$	+1	?	+1	+2	+1	
Mono-amine oxidase	+1		$\pm$		?	+1	+2	+1	

であり、特徴的な所見は ALP が腺房細胞基底部にある筋上皮細胞^{1,30,36,39,67}）と毛細血管壁にのみ強陽性で、また糸粒体酵素が線条部を中心とした導管系上皮細胞に著しく強い活性を示すことである^{22,30,31,33,76,77}。

多形性腺腫における酵素の組織化学

Alkaline phosphatase (ALP) 本酵素は正常唾液腺においてはすでにのべた筋上皮細胞にのみ分布^{4,30,36,67})し、他の腺細胞には含まれない。本酵素は一般に炎症病巣、結合織や骨の再生時に強い活性が出現する。上皮性腫瘍において ALP 活性は多種類の腫瘍には出現せず、乳腺の腺腫または線維腺腫、乳癌のあるものに比較的出现率が高く他の腺癌、扁平上皮癌においては陰性のことが多い^{53,61,70}。今までに報告された唾液腺由来の腫瘍組織において ALP 活性はすべて陰性である^{6,27,38,41,55,60,61}。腫瘍組織における ALP 活性は間質結合織に認められ、これは炎症性反応と比例的な関係にある^{25,32,40,46})。唾液腺の多形性腺腫において、ALP 活性は一般に腫瘍上皮に陰性であるが少数の症例において陽性反応が認められたが、唾液腺良性腫瘍細胞における ALP 活性は一般的にみて陰性の症例が大部分を占めているものといえよう。筋上皮細胞は強い ALP 活性を示すが、これから出現したと考えられる筋上皮腫または筋上皮腺腫はそれ程強い ALP の活性を示さないといわれ、またこの方面の電子顕微鏡的組織化学的研究がある^{13,39}。

Acid phosphatase (ACP) と β -glucuronidase (β -G)。両酵素はライゾソーム酵素であり、一般に腺分泌細胞の退行性変化等に関係して出現するといわれ^{37,45})人の腫瘍細胞における ACP 活性は不特定かつ不規則な分布を示すといわれている^{14,17,37,45,65}。また一般に皮膚、粘膜上皮の角化現象と関係が深いことが報告されている。本腫瘍の扁平上皮化成熟した高度角化部位は ACP 活性が強い。腺組織由来の腫瘍において過度の角化部におけるこれらの酵素の分布は扁平上皮や扁平上皮癌のそれと一致するものである^{32,57}。多形性腺腫において間質の組織球が本

酵素陽性であったのはライゾソームの存在が考えられる。

Non-specific esterase. 腫瘍の esterase¹⁸⁾ の酵素組織化学的研究は比較的少なく¹²⁾、唾液腺腫瘍における esterase の組織化学的報告はほとんどみあたらない¹¹⁾。唾液腺の esterase は導管系上皮に存在することが認められているが、一般にこの酵素は消化管上皮や乳腺、甲状腺に強い反応が存在する。また胃、腸、肝、乳腺、卵巣等の良性または悪性腫瘍に軽度ないし高度の反応が認められる⁵³⁾。皮膚口腔食道粘膜等の扁平上皮において esterase は基底細胞層から顆粒度まで存在することが知られている。多形性腺腫の扁平上皮化成分に ACP と同様に強い esterase の活性が認められたが、これはこの部位が正常な扁平上皮と類似の性質を備えたものと考えられる。唾液腺腫瘍の間質において組織球が ACP 活性と同様に esterase 反応を示したが、腫瘍間質の esterase については、成熟した組織球は強い活性、線維芽細胞は少し弱い活性、形質細胞は種々の程度の酵素反応を示すという報告がある⁴⁷⁾。

Aminopeptidase (AMP)。腫瘍における本酵素の意義は局所における蛋白分解反応と線維形成との2つの作用を持つものと理解されている^{5,8,16,43,59,61,62)}。蛋白分解反応は腫瘍実質細胞の壊死現象時に認められるとともに、腫瘍増殖に対する腫瘍間質の反応 stromal reaction として出現するものと考えられている。他方線維形成ならびに組織の修復再生と関係して AMP が出現するが、この現象は骨折、創傷治療等において認められている。腫瘍細胞が増殖する場合、腫瘍細胞に接する間質は腫瘍の増殖に抵抗して線維形成と同時に局所の蛋白分解現象も出現するものと考えられる。このいわゆる間質反応については腫瘍の周囲間質と腫瘍間質と比較する場合、その反応の性格と意義に差異が認められる⁶²⁾。一般に良性腫瘍においては、周囲間質は腫瘍細胞の拡大性増殖に対して結合織性の被膜形成として出現し、悪性腫瘍にお

いては腫瘍細胞の浸潤性増殖に対して破壊性的な変化すなわち蛋白分解現象としてとらえられる。Braun-Falco等⁵⁾はこの腫瘍増殖に対する間質反応を悪性腫瘍の特質と考えている。腫瘍間質反応における退行性変化は良性腫瘍、悪性腫瘍ともに何らかの形として認められる共通所見であるが、必ずしも多くの例に AMP 活性が出現するとは限らない。一般に腫瘍間質反応はそこに存在する炎症反応と、腫瘍増殖に伴う栄養障害等に起因する受身的の変化があげられる。前者の例として強い ALP 活性と AMP 活性の出現があり、この両酵素反応は同時に同一部位へ出現するのが通常に認められる組織化学的所見である。唾液腺多形性腺腫においてこれらの所見が認められたが、間質の myxomatous または hyalinous な部位には何れの酵素活性も出現しなかった。

上皮性の腫瘍または病変で AMP の出現するものに、胃の腸上皮化生、乳腺の腺腫があげられる。唾液腺の上皮性腫瘍における AMP 活性についてはあまり報告がなく、比較検討できる資料がとばしいが、多形性腺腫の腫瘍上皮細胞に本酵素の強い活性が認められたことは興味がある。正常唾液腺においては、腺細胞、導管系細胞ともにそれ程強い AMP の活性を示さないが²⁸⁾、特定症例の腫瘍上皮に強い活性が出現したことは今後他の腫瘍と比較検討する必要がある。

唾液腺における SDH^{30,31,66,76,77)} や cytochrome oxidase^{22,23)} のとき糸粒体酵素は線条部を主とした導管系上皮細胞に存在する特徴がある。多くの種類の唾液腺腫瘍のうち Oncocytoma または好酸性細胞腫および Warthin 氏腫瘍 (papillary cystadenoma lymphomatosum) は正常な唾液腺の線条部と同様に著しい SDH と cytochrome oxidase の活性が認められる特徴がある^{1,2,15,19,20,21,68)}。唾液腺の腫瘍や老人の正常唾液腺の細胞の一部には好酸性の oncocyte が混入していることはすでに述べた⁶³⁾。最近の電子顕微鏡的観察によると唾液腺の oncocyte には多くの糸粒体の存在を認め^{72,73)}、著しい SDH 活性は糸粒体に原因していることが確認された^{24,26)}。好酸性の oncocyte は唾液腺以外に、甲状腺に認められるものを Askanazy cell^{23,75)} 上皮小体のものを Welsh cell と呼び^{1,74)}、これらの細胞も著しく高い SDH 活性を示す。これらの細胞は Hamperl のいういわゆる oncocyte 群に入るものと考えられる^{1,2,15,19)}。しかし何故 oncocyte に糸粒体が多量に存在するかは明らかでない。

エナメル上皮腫において稀に好酸性の顆粒細胞が認められることがあり、これを顆粒細胞性エナメル上皮腫 granular cell ameloblastoma と称えているが、この顆粒細胞は ACP β -Gare 等のライゾソーム酵素群の活性が高く、酸化酵素の活性が低い。エナメル上皮腫の顆粒細胞はある種の退行性変化の結果出現したもので、唾液腺またはこの腫瘍中に出現する oncocyte とは生物学的性格を異にしている⁵⁸⁾。

一般に腫瘍細胞における SDH 活性は低下し、LDH 活性は増強されることが知られているが^{44,49,52,53,70)}、唾液腺の多形性腺腫においても大体この原則が適応される。唾液腺多形性腺腫においては組織形態の項目で詳述したごとく腫瘍細胞の形態と配列ならびに間質の性質等により同一腫瘍組織においても部位により脱水素酵素の反応が異なることが多い。この所見は腫瘍細胞の分裂増殖が部位により異なるためと考えられ、特に大きい腫瘍の中央病巣はしばしば壊死等の退行変性におちいり、この場合脱水素酵素反応は減弱または著しく低下しているが、周囲の増殖しつつある腫瘍細胞は明らかな反応を示す。正常な唾液腺の SDH 活性と腫瘍細胞のそれを比較する場合、前述の oncocyte を除いて、すべての多形性腺腫の細胞は唾液腺導管の最強反応より著しく減弱している。唾液腺の腫瘍発生に関して導管系上皮細胞が組織由来であろうという説があるが、酵素組織化学的にみて、ほとんどの唾液腺腫瘍は正常腺組織の線条部に類似した所見をとらない。

腫瘍細胞における NADP-dependent な脱水素酵素、たとえば G6PDH や IDH は腫瘍細胞の増殖の著しい場合増強されるか (悪性の示標)、またはステロイド分泌機構と関係して出現する^{35,44,50,51,53,54,56,64,70,71,78)}。たとえばステロイド分泌組織である卵巣の沱胞と黄体^{25,54,64,71,78)}、精巣の間質細胞⁵⁴⁾、副腎皮質⁵⁴⁾等は強い G6PDH 活性があり、これらから発生したいわゆる functioning tumors も強い酵素活性を示す。しかし唾液腺の良性の多形性腺腫においては、NADP-dependent な脱水素酵素の反応は弱く特徴ある分布や活性は示さなかった。

唾液腺の腫瘍の一部が著しく扁平上皮化を示す症例がある。この場合の酵素パターンは正常な扁平上皮に類似していることはすでに述べた。一般に重層扁平上皮における脱水素酵素の組織化学的分布は3つのパターンに大きく分けられる^{48,57)}。すなわち基底細胞に存在する SDH 活性、角質層を除く全層に分布する LDH および MDH また、角化傾向の強くなると出現する G6PDH の分布で、これらの上皮各層における酵素の分布形式は、この腫瘍の扁平上皮化成分においても同様に認められた。

結 論

唾液腺の多形性腺腫 pleomorphic adenoma (以下腫瘍と記載する) 34例について酵素の組織化学的所見につき以下の結論を得た。多形性腺腫は部位により組織学的構造が著しく異なるため、この所見の記載は特殊な構造または細胞は除き一般的の病理学的所見に対する酵素組織化学的成績とした。

1. Alkaline phosphatase は大部分の腫瘍組織におい

て、上皮性細胞に陰性、間質の線維成分浸潤細胞、毛細血管壁に陽性である。一部の限られた症例においては腫瘍上皮に陽性のことがある。

Acid phosphatase と β -glucuronidase は腫瘍上皮に中等度の反応を示し、間質の組織球は強陽性である。

Esterase は腫瘍細胞に強い活性を示す症例はなく、間質の組織球が強陽性のことがある。

Aminopeptidase は大部分の症例の腫瘍細胞は陰性か弱陽性であるが、少数例において強い活性が腺管様構造に出現していた。間質においては一般に陽性で、Alkaline phosphatase と相関関係が存在した。

Succinate dehydrogenase と cytochrome oxidase は大部分の腫瘍細胞に弱陽性である。好酸性細胞 (oncocyte) は著しく高い本酵素活性を示し、その活性は正常唾液腺の線条部に類似している。

Lactate dehydrogenase (LDH) は一般に腫瘍細胞に強い活性を示し間質の線維成分も比較的強い本酵素反応を示す。Malate dehydrogenase の活性と分布は LDH に類似していた。これらの染色性は正常な唾液腺に比べ同様にわずかに強い程度であった。

Glucose-6-phosphate dehydrogenase は一般に腫瘍細胞に弱い活性を示し、強い反応を示した症例はなかった。間質の細胞成分も著しい反応は示さず、毛細血管壁が陽性のことがある。Isocitrate dehydrogenase は G6PDH とよく類似した分布を示すが、染色性はさらに低かった。

Monoamine oxidase は大部分の症例に弱い反応を示した。腫瘍上皮細胞における染色性は正常な唾液腺の腺房細胞よりも低下していた。

多形性腺腫の間質において、粘液腫様変性部位 myxomatous および硝子様変性部位 hyalinous は水解酵素も脱水素酵素の活性も認められない。

本論文の要旨は第31回日本癌学会総会 (名古屋) 昭和47年10月において発表した。

本研究費の一部は文部省科学研究癌特別研究費によった。

本研究を長期にわたり御指導頂いた大阪大学歯学部川勝賢作教授および岐阜歯科大学口腔外科第1講座森昌彦氏に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Balogh, K. Jr., Cohen, R.B.: Oxidative enzymes in the epithelial cells of normal and pathological human parathyroid glands, A histochemical study, Lab. Invest., 10: 345, 1961.
- 2) Balogh, K. Jr., Roth, S.I.: Histochemical and electron microscopic studies of eosinophilic granular cells (oncocytes) in tumors of the parotid gland, Lab. Invest., 14: 310, 1965.
- 3) Barka, T., Anderson, P.J.: Histochemistry, Theory, Practice and Bibliography, Hoeber Med. Div., 1963.
- 4) Bogart, B.I.: The fine structural localization of alkaline and acid phosphatase activity in the rat submandibular gland, J. Histochem. Cytochem., 16: 572, 1968.
- 5) Braun-Falco, O.: Histochemische Aminopeptidase Darstellung in normaler Haut, bei Psoriasis, Dermatitis, Basaliom. Spinozellularen karzinom und Mollusum sebaceum, Derm. Wschrft., 134: 1341, 1959.
- 6) Bruce, B.A., Wertheimer, F.W.: Enzyme histochemistry of adenoid cystic carcinoma of minor salivary glands, 25: 30, 1967.
- 7) Burstone, M.S.: Esterase of the salivary glands, J. Histochem. Cytochem., 4: 130, 1956.
- 8) Burstone, M.S.: Histochemical demonstration of proteolytic activity in human neoplasms, J. Nat. Cancer Inst., 16: 1149, 1956.
- 9) Chauncey, H.H., Quintarelli, G.: Histochemical localization of hydrolytic enzymes in human salivary glands, J. dent. Res., 38: 961, 1959.
- 10) Chauncey, H.H., Quintarelli, G.: Localization of acid phosphatase, nonspecific esterase, and β -D-glucuronidase in parotid and submandibular glands of domestic and laboratory animals, Am. J. Anat., 108: 263, 1961.
- 11) Chauncey, H.H., Shklar, G., Brooks, R.: Histochemistry of human salivary gland tumors, Oral Surg. Oral Med. Oral Path., 15: 950, 1962.
- 12) Cohen, R.B., Nachlas, M.M., Seligman, A.M.: Histochemical demonstration of esterase in malignant tumors, Cancer Res., 11: 709, 1951.
- 13) Cutler, L., Chaudhry, A.P., Montes, M.: Alkaline phosphatase activity associated with the nuclear pore in normal and neoplastic salivary gland tissue, J. Histochem. Cytochem., 22: 1113, 1974.
- 14) Fishman, W.H., Baker, J.R., Borges, R.F.: Localization of β -glucuronidase in some human tumors, Cancer, 12: 240, 1959.
- 15) Fisher, R.: Über den histochemischen Nachweis oxydativer Enzyme in Onkocyten Verschiedener Organe, Virchows Arch Path. Anat., 334: 445, 1961.
- 16) Glenner, G.G., Burstone, M.S., Meyer, D.B.: A study of aminopeptidase activity in the stroma of neoplastic tissue with comparison of histochemical techniques, J. Nat. Cancer Inst., 23: 857, 1959.
- 17) Gomori, G.: Distribution of acid phosphatase in tissue under normal and under pathologic

- conditions, *Arch. Path.*, 32: 189, 1941.
- 18) Gomori, G.: Histochemistry of human esterases, *J. Histochem. Cytochem.*, 3: 479, 1955.
 - 19) Hamperl, H.: Oncocytes and so-called Hürthle cell tumor, *Arch. Path.*, 49: 563, 1950.
 - 20) Hamperl, H.: Onkocyten und Onkocytome, *Virchow Arch. Path. Anat.*, 335: 452, 1962.
 - 21) Hamperl, H.: Onkocytome der Speicheldrüsen. *Z. Krebsforsch.*, 64: 427, 1962.
 - 22) Hannibal, M.J., Nachlas, M.M., Seligman, A.M.: Histochemical localization of cytochrome oxidase in human tissues and neoplasms, *Cancer*, 13: 1008, 1960.
 - 23) Heimann, P., Lijunggren, J.G., Lowhagen, T., Hijern, B.: Oxyphilic adenoma of the human thyroid, *Cancer*, 31: 246, 1973.
 - 24) Hubner, G., Klein, H.J., Sehumelfeder, N.: Zur Ultrastruktur der Onkocytome, *Klin. Wochensh.*, 43: 798, 1965.
 - 25) Kabat, K., Furth, J.: A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues, *Am. J. Path.*, 17: 303, 1941.
 - 26) Kay, S., Still, W.J.S.: Electron microscopic observations on a parotid oncocytoma, *Arch. Path.*, 96: 186, 1973.
 - 27) Kaufmann, F., Stiebitz, R.: Zur Enzymhistochemie solider und tubularer Basalzelladenoma der Speicheldrüsen, *Deut. Zahn-Mund Kieferheil.*, 52: 237, 1969.
 - 28) Kawakatsu, K., Mori, M., Mizushima, T., Murakami, M.: Histochemical observations on aminopeptidase activity in normal salivary gland, *Arch. hist. jap.*, 19: 509, 1960.
 - 29) Kawakatsu, K., Mori, M., Fukuda, K., Deguchi, S.: Histochemical studies of normal salivary glands. VI. Distribution and localization of β -glucuronidase, β -galactosidase, and β -glucosidase in the major salivary glands of experimental animals, *Arch. hist. jap.*, 19: 533, 1962.
 - 30) Kawakatsu, K., Mori, M.: Histochemical study of enzyme patterns in the human submaxillary gland, *Histochemie*, 2: 293, 1962.
 - 31) Kawakatsu, K., Mori, M., Mizushima, T., Koizumi, K.: Histochemical studies of salivary glands, IX. Histochemical localization of succinic dehydrogenase and triphosphopyridine nucleotide diaphorase activity, *Z. Zellforsch.*, 56: 641, 1962.
 - 32) Kawakatsu, K., Mori, M.: Histochemical evaluation of enzymatic activities in human squamous cell cancer, *Cancer Res.*, 23: 539, 1963.
 - 33) Kawakatsu, K., Mori, M., Mizushima, T., Makino, H.: Histochemical demonstration of oxidative enzymes in human salivary glands, *Arch. hist. jap.*, 24: 247, 1964.
 - 34) Kawakatsu, K., Mori, M., Mizushima, T., Makino, H.: Histochemical localization of cytochrome oxidase in salivary glands, *Arch. hist. jap.*, 24: 427, 1964.
 - 35) Koudstaal, J., Bossenbrock, B., Hardonk, M. J.: Ovarian tumors investigated by histochemical and enzyme histochemical methods, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 102: 1004, 1968.
 - 36) Leeson, C.R.: Localization of alkaline phosphatase in the submaxillary gland of the rat, *Nature*, 178: 858, 1956.
 - 37) Lemon, H.M., Davison, M.M., Asimov, I.: Acid phosphatase activity in normal and neoplastic human tissues, *Cancer*, 7: 92, 1954.
 - 38) Lim, D.J., Mori, M.: Enzyme histochemical observations of adenoid cystic carcinoma "A report of 4 cases and their histochemical findings" *Ann. histochem.*, 14: 299, 1969.
 - 39) Luna, M.A., Mackay, B., Gamez-Araujo J.: Myoepithelioma of the palate, Report of a case with histochemical and electron microscopic observations, *Cancer*, 32: 1429, 1973.
 - 40) Manheimer, L.H., Seligman, A.M.: Improvement in the method for the histochemical demonstration of alkaline phosphatase and its use in a study of normal and neoplastic tissues, *J. Nat. Cancer Inst.*, 9: 181, 1948.
 - 41) Matsumura, T.: Enzyme histochemistry of experimentally induced tumors in the mouse submaxillary and sublingual glands during carcinogenesis, *Gann.*, 57: 251, 1966.
 - 42) Mira, E., Vidi, I.: A histochemical study on the histogenesis of the mixed tumors of the human salivary glands, *Acta. histochem.*, 36: 389, 1970.
 - 43) Monis, B., Nachlas, M.M., Seligman, A.M.: Study of leucine aminopeptidase in neoplastic and inflammatory tissues with a new histochemical method, *Cancer*, 12: 601, 1959.
 - 44) Monis, B., Nachlas, M.M., Seligman, A.M.: Histochemical study of 3 dehydrogenase systems in human tumors, *Cancer*, 12: 1238, 1959.
 - 45) Monis, B., Banks, B.M., Rutenburg, A.M.: β -Glucuronidase activity in malignant neoplasms of man; a histochemical study, *Cancer*, 13: 386, 1960.
 - 46) Monis, B., Rutenburg, A.M.: Alkaline phosphatase activity in neoplastic and inflammatory tissues of man, *Cancer*, 13: 538, 1960.
 - 47) Monis, B., Weinberg, T.: Cytochemical study of esterase activity of human neoplasms and stroma macrophages, *Cancer*, 14: 369, 1961.

- 48) Mori, M., Mizushima, T., Koizumi, K.: A comparative histochemical evaluation of various dehydrogenases in the oral squamous epithelium, *Histochemie*, 3: 111, 1962.
- 49) Mori, M., Mizushima, T., Oka, R., Okamoto, Y., Takita, Y.: Histochemical observations of succinic, malic and lactic dehydrogenases in oral tumors, *Oral Surg. Oral Med. Oral Path.*, 17: 352, 1963.
- 50) Mori, M., Sugimura, M., Matsumura, T., Kawashima, H.: Histochemical study on the localization of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human tumors, *Gann.*, 54: 433, 1963.
- 51) Mori, M., Matsumura, T., Sugimura, M., Kawashima, H.: Histochemical study on the localization of isocitric dehydrogenase in human tumors, *Gann*, 55: 117, 1964.
- 52) Mori, M., Yoshikawa, K., Matsumura, T., Fukui, A., Kawakatsu, K.: Histochemical studies of oxidative enzymes in human oral tumors, *J. Osaka Univ. Dent. Sch.*, 4: 17, 1964.
- 53) 森 昌彦: 腫瘍酵素組織化学, 医学書院, 1966.
- 54) Mori, M.: Histochemical evaluation of NADP-dependent glucose-6-phosphate and isocitrate dehydrogenases in steroid producing organs and tumors, *Arch. hist. jap.*, 28: 45, 1967.
- 55) Mori, M., Yoshimura, Y., Morimoto, Y., Kawamoto, T.: Histochemical observation of adenocarcinoma in the oral cavity, *Brit. J. Oral Surg.*, 5: 230, 1968.
- 56) Mori M., Morishita, M., Matsuura, H.: Histochemical observations of NADP-linked glucose-6-phosphate and isocitric dehydrogenases in human neoplasia, *Acta. histochem. Cytochem.*, 1: 154, 1968.
- 57) Mori, M.: Methods for the early diagnosis of oral tumors, *Histochemistry, Int. dent. J.*, 18: 724, 1968.
- 58) Mori, M.: Histochemical evaluation of enzymes in ameloblastic tumors Acanthomatous and granular-cell ameloblastoma, *J. Oral Surg.*, 28: 825, 1970.
- 59) Mottet, N.K.: Histochemical observations on the role of stromal aminopeptidase activity following neoplastic cell invasion, *Am. J. Path.*, 39: 17, 1961.
- 60) Murata, I., Miyaji, T.: Histochemical evaluation of enzymatic activities in pleomorphic salivary adenoma, *Oral Surg. Oral Med. Oral Path.*, 22: 82, 1966.
- 61) Murata, I., Kawashima, A., Mori, M.: Histochemical study on alkaline phosphatase activity in human neoplasms, *Gann*, 57: 513, 1966.
- 62) Okamoto, Y.: Stromal response in relation to invading forms of tumors: A histochemical and histopathological study, *Gann*, 57: 563, 1966.
- 63) 岡本次郎, 森 昌彦: 多形性腺腫の臨床的, 病理学的研究, 日口外誌.
- 64) Pfeleiderer, A. Jr., Teufel, G.: Incidence and histochemical investigation of enzymatically active cells in stroma of ovarian tumors, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 102: 997, 1968.
- 65) Reiner, L., Rutenburg, A.M., Seligman, A. M.: Acid phosphatase activity in human neoplasm, *Cancer*, 10: 563, 1957.
- 66) Rutenburg, A.M., Gofstein, R., Seligman, A. M.: Preparation of a new tetrazolium salt which yields a blue pigment on reduction and its use in the demonstration of enzymes in normal and neoplastic tissue, *Cancer Res.*, 10: 113, 1950.
- 67) Shear, M.: The structure and function of myoepithelial cells in salivary glands, *Arch. Oral biol.*, 11: 769, 1966.
- 68) Shklar, G., Chauncy, H.H.: Papillary adenoma lymphomatosum, a developmental malformation: histochemical evidence, *J. Oral Surg.*, 23: 222, 1965.
- 69) Sugimura, M., Kawakatsu, K.: Histochemical studies of enzymatic patterns during carcinogenic process in the mouse parotid gland, *Arch. Oral Biol.*
- 70) 武内忠男, 小川和朗, 宇尾野公義: 病態酵素組織化学, 朝倉書店.
- 71) Taki, I. et al.: Histochemical studies of steroid 3 β -01 dehydrogenase of the human ovaries, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 98: 107, 1967.
- 72) Tandler, B.: Fine structure of oncocytes in human salivary glands, *Virchows Arch. Path. Anat.*, 341: 317, 1966.
- 73) Tandler, B., Hutter, R.V.P., Erlandson, R.A.: Ultrastructure of oncocytoma of the parotid gland, *Lab. Invest.*, 23: 567, 1970.
- 74) Tremblay, G., Pearse, A.G.E.: A cytochemical study of oxyphilic cell and their functional significance, *Brit. J. Exp. Path.*, 40: 66, 1959.
- 75) Tremblay, G., Pearse, A.G.E.: Histochemistry of oxidative enzyme systems in the human thyroid, with special reference to Askanazy cell, *J. Path. Bact.*, 80: 353, 1960.
- 76) Walker, D.G.: A survey of dehydrogenases in various epithelial cells in the rat, *J. Cell Biol.*, 17: 255, 1963.
- 77) Walker, D.G., Seligman, A.M.: Formalin fixation in the cytochemical demonstration

- of succinic dehydrogenase of mitochondria, J. Biophy Biochem. Cytol., 9: 415, 1961.
- 78) Willighagen, R.G.J., Thiery, M.: Enzyme histochemistry of ovarian tumors, Am. J. Obstet. Gynecol., 100: 393, 1968.
-