舌癌の実験的形成に関する研究

第12編 舌背部における発癌剤の単純塗布による舌癌形成過程の組織学的研究

賀 来 亨・藤田 浄秀*・小田島哲世・早 津 良 和**

玄 番 涼 一**・今 井 頼 子**・鈴 木 明 人**

Studies on experimental production of carcinoma of the tongue

XII. Histological changes in the carcinogenesis of the midportion
of the dorsum of the tongue by DMBA painting alone.

Tohru KAKU・Kiyohide FUJITA*・Tetsuyo ODAJIMA・Yoshikazu HAYATSU**

Ryo-ichi GENBA**・Yoriko IMAI**・Akito SUZUKI**

はじめに

われわれは、ハムスターの舌側縁中1/3部に機械的損傷を加えると同時に0.5% 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (以下DMBAと略)アセトン溶液を反復塗布する方法によって、従来困難と考えられていた舌癌を短期間に、しかも高率に形成しうることを見出すとともに、歯科用クレンザーで擦過することによって粘膜に機械的損傷を与えながら発癌剤を塗布すると、単に発癌剤の塗布のみを行う(単純塗布)よりも有意の差をもって早期に舌癌が形成されることを認めた^{1,2)}。その後われわれは、この早期に舌癌が形成されるという理由から、“歯科用クレンザーで擦過すると同時に発癌剤を塗布する方法”によって舌癌を形成し、舌癌の形成に影響を及ぼす諸因子の検討、あるいは舌の種々の部位における舌癌形成過程の組織学的観察などの一連の研究を行ってきた³⁻¹⁴⁾。

しかし、口腔粘膜癌の実験的形成において、この機械的損傷が、腫瘍の形成に要する期間を短縮するほかに、形成される腫瘍の肉眼的形態や組織像にいかなる影響を及ぼすものなのかを検討する必要がある。このため今回は、舌側縁中1/3部において発癌剤の塗布のみを行った場合の舌癌形成過程を観察し、これと同じく舌側縁中1/3部において機械的損傷を与えながら発癌剤を塗布した場合の舌癌形成過程と比較検討することにより、いわゆる“機械的刺激”の意義について考察した¹⁴⁾。

今回は、舌背中央部において発癌剤の塗布のみを行った場合の舌癌形成過程を組織学的に観察し、その観察結果を同じく舌背中央部において機械的損傷を与えながら発癌剤の塗布を行った場合の舌癌形成過程⁹⁾と比較してみた。

実験材料ならびに方法

実験動物は、生後約2か月の雄ハムスター (*Mesocricetus auratus*) で、固型飼料と水を常時与えた。発癌剤は0.5% DMBA アセトン溶液とし、毎週3回、エーテル麻酔下に、舌背中央部に発癌剤の塗布のみを行った。

使用したのべ動物数は約60匹であった。
得られた舌は矢状断で組織学的観察を行った。

実験成績

肉眼所見

ハムスターの正常な舌背面は、舌乳頭を有する厚い粘膜でおおわれている。舌乳頭は舌背中央部では最も著明に認められるが、舌尖部付近や舌根部では、あまり著明でない。実験部位として選んだ舌背中央部は、肉眼的に

札幌医科大学病理学教室 (主任: 小野江為則教授)

* 横浜市立大学口腔外科学教室 (主任: 大谷隆俊教授)

** 札幌医科大学口腔外科学教室 (主任: 小浜源郁教授)

Department of Pathology, Sapporo Medical College (Chief: Prof. Tamenori Onoé)

* Department of Oral Surgery, School of Medicine, Yokohama City University (Chief: Prof. Takatoshi Ohtani)

** Department of Oral Surgery, Sapporo Medical College (Chief: Prof. Gen-iku Kohama)

受付日: 昭和52年10月28日

最も舌乳頭の発達している部分である。

実験開始後第9週目までは、塗布部位の粘膜にはほとんど変化が認められない(写真1)。

第10週目ごろから、塗布部位の個々の舌乳頭が増大してめだってくる。第17週目ごろから、塗布部位に一致して個々の舌乳頭が肥大したような小腫瘍が認められるようになり、しかも小腫瘍は通常多発性に形成される(写真2)。さらに発癌剤の塗布を反復するに従って、これらの小腫瘍は徐々に大きさを増していき、互いに癒合するようにになる(写真3)。

反復塗布を続けるうちに、粘膜は白色調と粗糙性を増し(写真4, 5, 9)、実験開始後第43週目ごろより、小腫瘍は大きさを増して明らかな外向性の腫瘤を形成してくる(写真6, 7, 10, 11)。しかし、舌側縁中1/3部に認められたような大きな外向性腫瘤¹⁴⁾は形成されることはなく、実験開始後第54週目ごろより腫瘤表面がびらんを呈するようになり、癌を思わせるにいたる(写真12)。腫瘤が外向性にあまり大きく形成されないので、時期がすすんで上皮性成分が豊富になってくると、腫瘍組織は舌筋内に下向性内向性に増殖していくようにみえてくる。外向性腫瘤が全く形成されずに、癌性変化がはじめるから潰瘍として始まったと思われる例は認められなかった。

組織学的所見

ハムスターの正常な舌背面は、糸状乳頭を有する厚い粘膜でおおわれている。この糸状乳頭は舌背中央部で最もよく発達している。糸状乳頭の尖端は舌根部の方向に傾き、凸面は舌尖部の方向に、凹面は舌根部の方向に面している。角化層は厚く、基底層は乳頭に一致して凹凸が著明である。舌粘膜と舌筋との間に少量の結合組織が認められる。

単純塗布による舌癌の形成過程は、塗布部位に一致して筋層内に脂肪浸潤が認められ、次第に粘膜下組織が厚さを増し、その後、多数例においては糸状乳頭が不規則となり、互いに癒合して乳頭腫様の外向性腫瘤を形成する過程で癌性変化が明らかとなり、少数例においては上皮が下向性に増殖する過程で、癌性変化にいたると思われる所見を得た。そこで、舌背中央部における舌癌の形成過程を、1)初期、2)糸状乳頭肥大期、3)乳頭腫形成期または下向性増殖期、4)癌形成期の4期に分け、以下に記載することとする。

1) 初期: 実験開始から塗布部位に一致して粘膜下結合組織の幅が増し、筋層には脂肪浸潤が認められるまでの期間で、だいたい実験開始後3週間である。この期には、粘膜上皮には組織学的に明らかな変化は認められない。

2) 糸状乳頭肥大期: 実験開始後第4週目から第32週目までであり、塗布部位に一致して筋層内に脂肪浸潤が認められ、糸状乳頭は形が不規則になり、基底層は規則

的な凹凸を失い、乳頭層の結合組織や粘膜下結合組織の幅が増加するようになる。塗布を続けていくうちに、幅を増した結合組織の中に2次乳頭が形成されたり、さらに基底膜の凹凸が不規則となり、クロマチンの豊富な細胞が多くなる(写真13, 14)。

3) 乳頭腫形成期または下向性増殖期: 塗布部位に小腫瘍が形成されてから癌性変化が認められるまでの期間で、だいたい実験開始後第33週目から第53週目までである。

この期に認められる小腫瘍は、乳頭の結合組織の中に上皮が深く侵入し、明らかに乳頭腫の組織像を呈するものである(写真15, 16)。肉眼的に小腫瘍が認められても、組織学的には乳頭の結合組織の幅が増しているだけで、まだ上皮の侵入の認められないものは糸状乳頭肥大期に含まれる。

乳頭腫の上皮の層構造は次第に乱れを示し、細胞の大小不同や細胞の異型性が顕著となり、乳頭状突起より第2次の突起が周辺に簇出する像が認められるようになる(写真17, 18)。

少数例においては、肉眼的には粘膜面は粗糙であるが、乳頭腫の形成は認められず、上皮は筋層を圧排するように内向性下向性に増殖し、上皮の細胞密度は高くなり、細胞異型性が顕著となる(写真19~22)。しかし、この下向性内向性増殖はむしろ軽度で、機械的損傷を与えながら発癌剤を塗布した場合⁹⁾のように、筋層内に非常に深くまで侵入しないようである。

4) 癌形成期: 癌は実験開始後第54週目以後に認められる。

基本的には、乳頭腫の組織像の一部に上皮性細胞が結合組織中に浸潤性に増殖している部分、あるいは細胞密度の高い部分が認められ、層構造の乱れと細胞異型性が明らかとなり、さらに筋層内に腫瘍細胞が浸潤している組織像などが認められるようになる(写真25~30)。

形成された舌癌の分化度は種々であるが、分化度の高いものが多く、極端に低いものは認められなかった。

腫瘍組織が舌の後方部や口底部にまで広汎に浸潤した例は、認められなかった。

考 按

以上の肉眼的ならびに組織学的観察から明らかなように、ハムスターの舌背中央部に0.5% DMBA アセトン溶液の塗布のみ(単純塗布)を行っても舌癌が形成される。この舌癌の形成過程は、組織学的に、1)初期、2)糸状乳頭肥大期、3)乳頭腫形成期または下向性増殖期、4)癌形成期の4期に大別される。

まず、単純塗布を行った本研究の舌癌形成過程を、同じく舌背中央部において機械的損傷を与えながら、発癌剤の塗布を行った場合の舌癌形成過程と比較してみる。

表 1 舌側縁中 1/3 部と舌背中央部における実験方法の違いと舌癌形成過程との関係

実験方法	実験部位	舌 癌 形 成 過 程				備 考
		第Ⅰ期	第Ⅱ期	第Ⅲ期	第Ⅳ期	
単純塗布法	舌側縁中 1/3 部	初 期	びまん性増生期	乳頭腫形成期 または 表面増殖期	癌形成期	両部位における舌癌形成過程の差異は少なく、基本的にはほぼ一致する。
	舌背中央部	初 期	糸状乳頭肥大期	乳頭腫形成期 または 下向性増殖期	癌形成期	
併用塗布法	舌側縁中 1/3 部	初 期	びまん性増生期	乳頭腫形成期	癌形成期	両部位における舌癌形成過程の差が大きい。
	舌背中央部	初 期	びまん性増生期	下向性増殖期	癌形成期	

実験開始から舌癌が認められるまでの期間は、単純塗布では54週であるが、機械的損傷を与えると同時に発癌剤を塗布した場合は23週で⁹⁾、機械的損傷を与えた場合のほうがはるかに短いといえる。

肉眼的形態は、単純塗布では通常、多発性に小腫瘍が形成され、この小腫瘍が癒合して徐々に大きさを増していく過程で癌を思わせるようになる。これに対して、機械的損傷を与えた塗布では、基本的には外向性腫瘍は形成されず、舌癌は肉眼的には潰瘍として認められた⁹⁾。両者は、この点で大きく異なる。

組織像に関しては、単純塗布では多数例において、はじめ糸状乳頭の結合組織の幅が増し、また粘膜下結合組織の幅が増し、この結合組織中に上皮性成分が侵入するように増殖して乳頭腫を形成し、これを基盤に悪性変化が認められ、少数例においては上皮性成分が下向性内向性に増殖する過程で、悪性変化が認められる。これに対して、機械的損傷を与えた塗布では、基本的には上皮性成分が下向性内向性に増殖する過程、悪性変化が認められた⁹⁾。両者は組織像に関しても、その形成過程は大きく異なる。しかし、角化の程度は、両者とも分化度の高い舌癌がむしろ多く、大きな差異はないようである。

次に、同じく単純塗布によって舌癌を形成した舌側縁中 1/3 部における形成過程と舌背中央部における形成過程と比較してみると、もちろん両者は種々の点で異なるが、基本的には両者とも多発性に小腫瘍が形成され、それらが増大し癒合する過程で乳頭腫を形成し、これを基盤にして舌癌が形成されるという点では一致する(表 1)。

部位が異なり、いままでの研究結果¹⁻¹⁴⁾からは全く異なった形成過程で、舌癌が形成されたと考えられた舌側縁中 1/3 部と舌背中央部との両部位が、単純塗布では基本的に乳頭腫の組織構造を基盤として舌癌が形成されるという事実は、まことに注目すべきことである。

はじめに述べたように、われわれは、“歯科用クレンザーで擦過すると同時に発癌剤を塗布する方法”によって舌癌を形成して一連の研究¹⁻¹⁴⁾を行ってきた。その研

究結果から、舌側縁中 1/3 部では全例に乳頭腫様腫瘍が形成され、これを基盤にして舌癌が形成され⁹⁾、舌背中央部では乳頭腫様腫瘍はほとんど認められず、粘膜上皮が下向性に増殖する過程で舌癌が認められる⁹⁾と考えられたわけだが、舌側縁中 1/3 部と舌背中央部の単純塗布による形成過程といままでの研究結果とを総合的に考えてみると、この差異は、機械的損傷を与えながら塗布したために、発癌剤に対する反応のほかにその機械的損傷に対する組織反応なども加わって、これらの部位における本来の形成過程が大きく修飾された結果であると思われる。

以上から、舌背中央部における舌癌の形成過程に及ぼす機械的損傷の意義は、

- 1) 舌癌の形成に要する期間を短縮する。
- 2) 粘膜上皮の増殖に際し、下向性内向性に増殖する方向に修飾する。

その結果、舌癌は肉眼的には“潰瘍”として始まり、endophytic の舌癌を多く形成する。と要約されると思われる。

また、機械的損傷に対する反応は、舌側縁中 1/3 部と舌背中央部とは大きく異なることが知られた^{3,9)}。その組織構造の類似性から推測して、ヒトの口腔癌にあっても頬粘膜・舌下面のごとき lining mucosa や歯肉・口蓋粘膜のごとき masticatory mucosa あるいは specialized mucosa¹⁵⁾ など、部位によって、いわゆる“機械的刺激”に対する反応は大きく異なると考えられる。今後、この点をも解明していきたいと考える。

結 語

ハムスターの舌背中央部において、発癌剤の単純塗布による舌癌の形成過程を組織学的に観察し、以下の結論を得た。

- 1) 組織学的に、舌癌の形成過程は、①初期、②糸状乳頭肥大期、③乳頭腫形成期または下向性増殖期、④癌形成期の 4 期に分かつことができる。

2) 早期舌癌は乳頭腫の組織構造を基盤として形成されと考えられる。

3) 単純塗布による舌癌の形成過程と機械的損傷を与えると同時に発癌剤を塗布した場合の形成過程の比較から、機械的損傷が舌背中央部における舌癌の形成過程に及ぼす影響は、

①舌癌の形成に要する期間を短縮する。

②粘膜上皮の増殖に際し、下向性内肉性に増殖する方向に修飾する。

この2点に要約される。

掲筆するに際し、御校閲をいただいた札幌医科大学病理学小野江為則教授に感謝の意を表する。

なお、本研究は、佐々木元賢教授が札幌医科大学口腔外科学講座に在職中に行われたものである。ここに記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) 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 1973.
- 2) 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 1972.
- 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2編 舌癌形成過程の組織学的研究. 口科誌 22: 64 1973.
- 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 実験動物の月齢差が舌癌の形成におよぼす影響. 日口外誌 18: 486 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 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 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 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 1973.
- 9) 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 1973.
- 10) 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8編 舌下面部における舌癌形成過程の組織学的研究. 口科誌 23: 47 1974.
- 11) 賀来 亨, 藤田浄秀, 小田島哲世, 佐々木元賢: 舌癌の実験的形成に関する研究 第9編 舌尖部における舌癌形成過程の組織学的研究. 口科誌 23: 644 1974.
- 12) 藤田浄秀, 賀来 亨, 小田島哲世, 佐々木元賢: 舌癌の実験的形成に関する研究 第10編 舌側縁前1/3部における舌癌形成過程の組織学的研究. 日口外誌 21: 250 1975.
- 13) 藤田浄秀, 賀来 亨, 黒木信雄, 早津良和, 陳元徳, 佐々木元賢: 舌の早期癌性変化に関する実験的研究(予報). 日口外誌 20: 418 1974.
- 14) 藤田浄秀, 賀来 亨, 小田島哲世, 早津良和, 鈴木明人, 玄番涼一, 佐々木元賢: 舌癌の実験的形成に関する研究 第11編 舌側縁中1/3部における発癌剤の単純塗布による舌癌形成過程の組織学的研究. 日口外誌 22: 259 1976.
- 15) Harry Sicher: Orban's histology and embryology. ed 51 C.V. Mosby Co, St Louis, 1966, p 220.

- 写真 1：実験開始後9週目
肉眼的には、ほとんど変化が認められない。
- 写真 2：実験開始後17週目
塗布部位に一致して、舌乳頭の肥大が認められる。
- 写真 3：実験開始後29週目
塗布部位に一致して、舌乳頭の肥大がさらに顕著になる。
- 写真 4：実験開始後33週目
粘膜は白色調を増し、小腫瘍の多発が認められる。
- 写真 5：実験開始後36週目
小腫瘍は癒合して、やや大きな腫瘍を形成している。
- 写真 6：実験開始後43週目
不規則な形の腫瘍形成が認められる。

写真 7 : 実験開始後44週目

粗糙で白色調の強い粘膜部分に腫瘤形成が認められる。

写真 8 : 実験開始後59週目

写真 7 の15週後の状態で腫瘤は大きさを増し、表面は凹凸不平となっている。

写真 9 : 実験開始後40週目

粘膜は粗糙で白色調を増し、塗布部位の中央が陥凹している。

写真 10 : 実験開始後44週目

写真 9 の 4 週後の状態で、腫瘤形成が認められる。

写真 11 : 実験開始後50週目

写真10の6週後の状態で、腫瘤は大きさを増している。

写真 12 : 実験開始後54週目

写真11の4週後の状態で、腫瘤はさらに大きさを増し、表面は潰瘍状を呈している。

写真 13：実験開始後17週目

写真2の組織像。塗布部位に一致して、粘膜下結合組織の幅を増し、筋層内に脂肪浸潤が認められる。H-E 染色， $\times 20$ 。

写真 14：実験開始後29週目

写真3の組織像。糸状乳頭は大きさを増し、不規則な形を呈している。H-E 染色， $\times 20$ 。

写真 15：実験開始後33週目

写真4の組織像。乳頭腫の組織像を呈する。H-E 染色， $\times 30$ 。

写真 16：実験開始後35週目

乳頭腫の組織像を呈する。H-E 染色， $\times 30$ 。

写真 17：実験開始後36週目

写真5の組織像。乳頭腫の形成が認められる。上皮性成分が間質に比べて豊富である。H-E 染色， $\times 30$ 。

写真 18：写真17の一部拡大

細胞が密に増殖している。しかし、ミトーゼは認められず、いまだ癌性変化は明らかではない。H-E 染色， $\times 200$ 。

写真 19：実験開始後35週目

粘膜上皮が下向性内向性に増殖している。H-E 染色，×20.

写真 20：写真19の一部拡大

基底細胞の増殖が認められる。H-E 染色，×80.

写真 21：実験開始後43週目

写真6の組織像。粘膜上皮は下向性内向性に増殖している。筋層内に脂肪浸潤が認められる。H-E 染色，×20.

写真 22：写真21の一部拡大

舌筋を圧排するように粘膜上皮が下向性内向性に増殖している。H-E 染色，×80.

写真 23：実験開始後53週目

粘膜上皮が下向性内向性に深く入り込んでいる部位が認められる。H-E 染色，×20.

写真 24：写真23の一部拡大

粘膜上皮が舌筋を圧排するように、下向性内向性に増殖している。H-E 染色，×80.

写真 25 : 実験開始後54週目

写真12の組織像。舌背に腫瘤形成が認められる。H-E 染色, $\times 7$ 。

写真 26 : 写真25の一部拡大

扁平上皮癌の組織像を示している。ミトーゼも多数認められる。H-E 染色, $\times 80$ 。

写真 27 : 実験開始後59週目

写真8の組織像。舌背に腫瘤形成が認められる。H-E 染色, $\times 7$ 。

写真 28 : 写真27の一部拡大

扁平上皮癌の組織像を示している。H-E 染色, $\times 80$ 。

写真 29 : 実験開始後60週目

舌背に腫瘤形成が認められる。H-E 染色, $\times 7$ 。

写真 30 : 写真29の一部拡大

角化傾向の強い扁平上皮癌の組織像を呈している。腫瘍組織が下向性内向性に筋層内に浸潤している。H-E 染色, $\times 30$ 。