腺様嚢胞癌 5 例の免疫組織化学的検討

佐野 和生・荒木正弘・井口次夫・高橋 弘*

Immunohistochemical investigation on 5 cases of adenoid cystic carcinomas

KAZUO SANO・MASAHIRO ARAKI・TSUGIO INOKUCHI
HIROSHI TAKAHASHI*

Abstract: Normal salivary glands and 5 cases of adenoid cystic carcinomas were examined by immunohistochemical staining with the antibodies to S-100 protein, neuron-specific enolase (NSE), glial fibrillary acidic protein (GFAP), carcinoembryonic antigen (CEA), and immunoglobulin A (IgA) to speculate the differentiation of the tumor cells of adenoid cystic carcinoma. The myoepithelial cells of normal salivary glands were stained positively by the antibodies to S-100 protein and NSE. In adenoid cystic carcinomas, tumor cells of tubular areas were intensely stained and those of cribriform areas showed positive reaction to the anti-S-100 protein antibody. A little reaction was identified at the solid areas. These findings suggested that most of S-100 protein positive tumor cells might show a functional differentiation from the myoepithelial cells. NSE showed similar localization as S-100 protein, and the latter showed more intensive and extensive reactions than the former. No distribution of GFAP was shown in the normal salivary glands and adenoid cystic carcinomas. CEA was observed in the luminal surface of normal salivary glands, while IgA in the duct epithelial cells. Intraluminal contents of tubular areas were stained positively by the antibodies to CEA and IgA, which suggested intensive secretory activities at tubular areas in adenoid cystic carcinomas.

Key words: Immunohistochemistry, Adenoid cystic carcinoma

緒 言

唾液腺腺様嚢胞癌については、超微形態の面から^{1,2)}、あるいは最近著しく発展した免疫組織化学的手法を用いて、組織発生などの検索が行われているが^{3,4)}、なお不明

な点も多い。そこで、著者らは peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法⁵⁾により、正常唾液腺、腺様嚢胞癌の免疫組織化学的染色を行い、腫瘍組織の機能的分化について検討を加えてみた。

対象ならびに方法

1. 対 象

腺様嚢胞癌 5 症例を対象とした(表 1)。年齢は 38～66 歳にわたり、性別では男性 4 例、女性 1 例であった。部位については、顎下腺 2 例、頬粘膜、下顎歯肉、上顎洞各 1 例であった。治療法は、症例 4 を除き、化学療法と手術を併用し、症例 5 では術前放射線療法を行った。

予後についてみると、症例 1 は局所再発、肺転移がみられ、初回手術より 7 年後に腫瘍死の転帰をとった。症例 2、3 は、再発、転移なく生存中である。症例 4 は 2 次症例で局所再発が認められるが、手術不能なため、経

長崎大学歯学部口腔外科学第 2 講座

(主任・井口次夫教授)

* 長崎大学歯学部口腔病理学講座

(主任：岡邊治男教授)

Second Department of Maxillofacial and Oral Surgery, Nagasaki University, School of Dentistry (Chief: Prof. Tsugio Inokuchi)

* Department of Oral Pathology, Nagasaki University, School of Dentistry (Chief: Prof. Haruo Okabe)

受付日・昭和 61 年 6 月 9 日

表 1 臨床所見および組織学的所見

	症 例 1	症 例 2	症 例 3	症 例 4	症 例 5
年 齢 ・ 性	48, ♀	38, ♂	47, ♂	66, ♂	64, ♂
初 診 年 月 日	1978. 2. ■	1979. 3. ■	1983. 10. ■	1984. 5. ■	1984. 10. ■
部 位	頬粘膜	下顎歯肉	顎下腺	顎下腺	上顎洞
治 療 法	C + S	C + S	C + S		C + R + S
局 所 再 発	+	-	-	+	-
転 移	+(肺)	-	-	不明	+(肺)
予 後 (1986. 1.)	死	生存	生存	生存	生存
組織学的所見	篩状部>腺管部	腺管部>篩状部 >充実部	篩状部>腺管部 >充実部	腺管部>充実部	腺管部>充実部 >篩状部

C：化学療法 S：外科療法 R：放射線療法

写真 1 症例 3 H-E 染色所見 (×100)

過観察中である。症例 5 は、肺転移を認めるが生存中である。

組織学的所見では、5 症例のいずれも、腺管部、篩状部、充実部の混在がみられる (写真 1)。症例 1 では篩状部が腺管部より多いが、症例 2, 4 では腺管部が大部分を占めていた。症例 3 では篩状部が、症例 5 では腺管部が他の 2 者に比し多く認められた。

2. 方 法

上記 5 症例の 10% フォルマリン固定、パラフィン包埋を行った組織標本について、3.5 μ の薄切片を作製し、脱パラフィンの後、PAP 法による免疫組織化学染色を行った。S-100 蛋白、neuron-specific enolase (NSE)、immunoglobulin A (IgA) は、DAKO 社の、glial fibrillary acidic protein (GFAP)、carcinoembryonic antigen (CEA) は ORTHO 社の抗血清を使用した。また、末梢神経を S-100 蛋白、NSE、GFAP の免疫染色の対照に用いた (写真 2)。

写真 2 末梢神経の免疫染色所見 (×50)

S-100 蛋白：強陽性 (上段)
NSE：弱陽性 (中段)
GFAP：陰 性 (下段)

結 果

表 2 に正常唾液腺、腺様嚢胞癌における染色結果を示した。

1. 正常唾液腺における免疫組織化学的所見

S-100 蛋白 (写真 3, 上段), NSE (写真 3, 中段) は筋上皮細胞に陽性を示し、GFAP (写真 3, 下段) は陰性であった。CEA は腺房細胞の腺腔面に線状の強陽性

写真 3 正常唾液腺の免疫染色所見 (×200)

筋上皮細胞は S-100 蛋白：陽性 (上段)
NSE：陽性 (中段)
GFAP：陰性 (下段)

写真 5 腺管部における S-100 蛋白陽性像を示す。
(×50)

写真 6 篩状部における S-100 蛋白陽性像を示す。
(×50)

写真 4 腺様嚢胞癌の腺管形成細胞の免疫染色所見
(×200)

S-100 蛋白：強陽性 (上段)
NSE：弱陽性 (中段)
GFAP：陰性 (下段)

写真 7 腺腔内の分泌物の CEA 陽性像を示す。
(×100)

表 2 正常唾液腺、腺様嚢胞癌における免疫組織化学的染色結果

			S-100 蛋白	NSE	GFAP	CEA	IgA
正 常 唾 液 腺			筋上皮細胞 ++	筋上皮細胞 +	—	腺房細胞の腔面 +	導管上皮細胞 +
腺様嚢胞癌	細胞質	腺管部	++	+	—	±	+
		篩状部	++	±	—	±	+
		充実部	+	±	—	—	+
	腔内 内容物	腺管部	—	—	—	+	+
		篩状部	—	—	—	—	±

++：強陽性 ++：中等度陽性 +：陽性 —：陰性

像を呈し、IgAは導管上皮細胞に陽性を示した。

2. 腺様嚢胞癌における免疫組織化学的所見

1) 腫瘍細胞の染色性について

腺管形成細胞の連続切片におけるS-100蛋白(写真4, 上段), NSE(写真4, 中段), GFAP(写真4, 下段)の染色結果を示した。S-100蛋白は腫瘍細胞の細胞質および核に強陽性像を認め、NSEでは陽性細胞が減少し、GFAPでは陰性であった。

腫瘍組織の種々の増殖巣とS-100蛋白陽性細胞の出現頻度との関連についてみると、腺管部では腺腔に面するやや大型の多角形細胞が強陽性を示し(写真5)、篩状部(写真6)や充実性の部分では、小型でクロマチンに富む核を有する腫瘍細胞が陽性像を呈していた。

CEAは細胞質については陰性であり、IgAは腫瘍細胞の細胞質において陽性像を示した。

2) 腺腔内、嚢胞腔内の内容物の染色性について

S-100蛋白、NSE、GFAPはいずれも陰性であった。CEAは腺腔の多くで陽性像を呈し、嚢胞腔内は陰性であった(写真7)。IgAについてもCEAと同様な所見を呈した。

考 察

免疫組織化学の進歩により、腫瘍病理学の分野において、腫瘍の機能的分類や組織由来の推測などが可能になってきた^{6,7)}。唾液腺腫瘍においても種々の抗体が使用され^{2-4,6)}、その局在について検討が行われてきた。

今回、著者らは免疫組織化学的染色により、S-100蛋白、NSE、GFAP、CEAおよびIgAの正常唾液腺、腺様嚢胞癌における局在について検討を加えた。

S-100蛋白は、Moore⁹⁾により牛の脳から抽出されたCa結合性を有する酸性蛋白で、神経組織、皮膚の色素細胞、Langerhans細胞などにみられ、正常唾液腺では

筋上皮細胞にその局在が確認されている¹⁰⁾。

NSEは、神経細胞、神経線維、パラニューロンなどに分布するenolaseのisoenzymeで¹¹⁾、神経内分泌腫瘍に高率に認められるほか、肺原発の腺癌の一部にも分布している¹²⁾。

GFAPは、グリア細胞にみられるグリア線維の大部分を構成するポリペプチドであるが¹³⁾、Nakazatoらは、正常唾液腺、唾液腺腫瘍について検索した結果、多形性腺腫のみにその局在を観察している¹⁴⁾。

CEAの癌、非癌組織における観察は主として大腸を中心に消化器において行われてきたが⁹⁾、近年、全身諸臓器におけるCEAの局在が明らかになるにつれて、CEAは癌胎児性抗原というよりむしろ、secretory component(SC)¹⁵⁾やケラチン¹⁶⁾などと同様、上皮細胞のマーカーあるいは分化抗原として病理組織診断や細胞生物学的研究に広く利用されてきている¹⁷⁾。正常唾液腺においては、腺房細胞の腺腔面に分布が認められる¹⁸⁾。

IgAは、唾液、涙液などの外分泌液の免疫グロブリン組成では主要な分画であり¹⁹⁾、自験例の正常唾液腺組織においては、導管上皮細胞の細胞質において陽性であった。

本研究において、S-100蛋白、NSEは正常唾液腺の筋上皮細胞に局在していた。腺様嚢胞癌では、S-100蛋白は腫瘍細胞の細胞質と核に局在がみられた。腺管形成部では正常唾液腺の筋上皮細胞と同様の陽性像を示し、つづいて、篩状部、充実部の順に反応性の低下がみられた。NSEはS-100蛋白の染色態度に類似するが、S-100蛋白に比し、その反応性は弱かった。GFAPは正常唾液腺、腺様嚢胞癌ともに陰性で、Nakazatoら¹⁴⁾の報告と同様な結果を示した。

以上の結果から、腺様嚢胞癌において、S-100蛋白陽性細胞が種々の程度にみられ、正常唾液腺の筋上皮細胞の染色態度に近似しているという所見は、同部の腫瘍細胞の筋上皮細胞への機能的分化を示すように思われた。Kahnら²⁰⁾も唾液腺腫瘍の免疫組織化学的検討を行い、腺様嚢胞癌と筋上皮細胞との関連性について考察している。しかし、充実部、篩状部で認められたクロマチンに富む核を有する小型腫瘍細胞と同様に、腺管部における腺管形成細胞がS-100蛋白強陽性を示した点に関しては、筋上皮細胞との関連性で今後、検討の余地があるものと思われた。

一方、充実部と篩状部ではS-100蛋白陽性細胞の出現頻度が腺管部に比べて減少する傾向を示した。これは、Perzinら²¹⁾の腺管状構造を示すものが、本腫瘍のなかで最も分化した組織型であるとする結果と大きな関連性を有するものと考えられる。

次に腺腔および嚢胞腔内の分泌物についてみると、多くの腺腔内の分泌物がCEA、IgAともに強陽性を示し、これは腫瘍細胞から構成されている腺腔内に、CEAお

よび IgA 強陽性の分泌物が存在することを意味しており、腫瘍組織の分化度を示すひとつの指標であろうと思われる。

結 語

免疫組織化学的染色を用いて、正常唾液腺、腺様嚢胞癌における S-100 蛋白、NSE、GFAP、CEA および IgA の局在について検討した。

1) S-100 蛋白、NSE は正常唾液腺の筋上皮細胞に分布がみられた。

2) 腺様嚢胞癌においては、S-100 蛋白は腺管部の腫瘍細胞に強陽性を示し、節状部で中等度陽性、充実部で陽性像の減少を認めた。

3) NSE は S-100 蛋白と類似の反応性を示したが、その程度はより弱陽性であった。

4) GFAP は、正常唾液腺、腺様嚢胞癌のいずれにおいてもその局在は認められなかった。

5) 腺様嚢胞癌の腺腔内の分泌物は CEA、IgA とともに強陽性を示した。

以上の免疫組織化学的結果より腺管を構成する腫瘍細胞における S-100 蛋白の局在と腺腔内分泌物における IgA、CEA の局在との間に機能的な面で関連性のあることが示唆された。

本論文の要旨は、第39回日本口腔科学会総会で発表した。

引 用 文 献

- 1) Hübner, G., Klein, H.J., et al.: Role of myoepithelial cells in the development of salivary gland tumors. *Cancer* 27: 1255-1261 1971.
- 2) Chomette, G., Auriol, M., et al.: Adenoid cystic carcinoma of minor salivary glands. Analysis of 86 cases. Clinico-pathological, Histochemical and Ultrastructural studies. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 395: 289-301 1982.
- 3) McDicken, I.W. and Scott, J.: The presence and distribution of carcino-embryonic antigen in human minor salivary glands. *J Oral Pathol* 10: 296-303 1981.
- 4) Caselitz, J., Seifert, G., et al.: Tumor antigens in neoplasms of the human parotid gland. *J Oral Pathol* 11: 374-386 1982.
- 5) Sternberger, L.A., Hardy, P.H., et al.: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horser-

adish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem* 18: 315-333 1970.

- 6) 渡辺慶一, 中根一穂編集: 酵素抗体法, 改訂版, 学際企画, 東京, 1985, 186-211頁.
- 7) Schlegel, R., Schlegel, S.B., et al.: Immunoperoxidase localization of keratin in human neoplasms. A preliminary survey. *Am J Pathol* 101: 41-49 1980.
- 8) Caselitz, J., Jaup, T., et al.: Lactoferrin and lysozyme in carcinomas of the parotid gland. A comparative immunocytochemical study with the occurrence in normal and inflamed tissue. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 394: 61-73 1981.
- 9) Moore, B.W.: A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Comm* 19: 739-744 1965.
- 10) Kahn, H.J., Marks, A., et al.: Role of antibody to S-100 protein in diagnostic pathology. *Am J Clin Pathol* 79: 341-347 1983.
- 11) Schmechel, D., Marangos, P.J., et al.: Neuron-specific enolase is a molecular marker for peripheral and central neuroendocrine cells. *Nature* 276: 834-846 1978.
- 12) 中島 孝: 神経組織特異蛋白 (S-100 ならびに NSE 蛋白) による腫瘍の免疫組織化学的検索とその診断への応用. *病理と臨床* 1: 115-124 1983.
- 13) Dahl, D. and Bignami, A.: Glial fibrillary acidic protein from normal and gliosed human brain: Demonstration of multiple related polypeptides. *Biochem Biophys Acta* 386: 41-51 1975.
- 14) Nakazato, Y., Ishida, Y., et al.: Immunohistochemical distribution of S-100 protein and glial fibrillary acidic protein in normal and neoplastic salivary glands. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 405: 299-310 1985.
- 15) 浅井俊夫, 名倉 宏, 他: 大腸腫瘍の免疫組織化学的研究——secretory component, IgA を中心に——. *日消会誌* 78: 1388-1398 1981.
- 16) Schlegel, R., Schlegel, S.B., et al.: Immunohistochemical localization of keratin in normal human tissues. *Lab Invest* 42: 91-96 1980.
- 17) 名倉 宏, 堤 寛: 癌胎児性抗原 (2) Carcinoembryonic Antigen (CEA). *病理と臨床* 2: 1544-1553 1984.
- 18) Itoiz, M.E., Lanfranchi, H.E., et al.: Immunocytochemical detection of carcinoembryonic antigen in salivary gland tumors. *Int J Oral Surg* 12: 340-343 1983.
- 19) Tomasi, T.B.: The Gamma A Globulins: First line to Defence. In *Immunobiology*, eds. Good,

- R.A. and Fisher, D.W. Sinauer Associates Inc, Stamford, 1972, p 76-83.
- 20) Kahn, H.J., Bauman, R., et al.: Myoepithelial cells in salivary gland tumors. Arch Pathol Lab Med 109: 190-195 1985.
- 21) Perzin, K.H., Gullane, P., et al.: Adenoid cystic carcinomas arising in salivary glands. A correlation of histologic features and clinical course. Cancer 42: 265-282 1978.