口腔外科領域における腺リンパ腫の組織化学的検討

水野 智之

Histochemical investigation on adenolymphoma of oral area

Tomoyuki Mizuno

Abstract: Investigation to elucidate the histochemical characteristics of adenolymphoma using normal salivary gland tissue as control, was carried out in immunohistochemical and mucushistochemical technique and the following findings were obtained: Localization of IgA, LF and SC in normal salivary gland tissue, suggesting the defence of acinus unit, was the pertinent finding for the tissue defence mechanism which supported the presence of SC-transport mechanism and local immune system. Localization of Keratin in tumor tissue, suggesting the characteristic picture of densely staining epithelial basal cell skin to excretory duct, is the finding strongly implicating the excretory duct epithelial origin. The fall in positive rate associated with tumorigenesis of LZ implicated involvement of LZ in tumorigenesis. Acid mucus is dominant in productive mucus in normal salivary gland tissue and sialomucin is dominant in tumor tissue. Though the presence of glycosaminoglycan was confirmed by performing enzyme digestion method in normal salivary gland tissues, the evidence of glycosaminoglycan was not observed and involvement of myo-epithelial cell in tumorigenesis was negatively supported. In double stain of each antibody and mucus, the tendency toward dissociation was observed in all antibodies. Its when the cell with mucus producing potential was considered as the cell relatively well-differentiated in terms of function, the possibility, that CEA, SC, IgA, K, LF, LZ were localized in the cells relatively poorly differentiated, was implicated. The localization of CEA in particular was suggested to be the possible index of cell dedifferentiation toward fetal tissue.

Key words: immunohistochemistry (免疫組織化学), mucushistochemistry (粘液組織化学), enzyme digestion method (酵素消化処理)

緒 言

唾液腺腫瘍は全身の見地からすれば比較的にまれな腫瘍に属するし、口腔外科領域の疾患としても重要なものの一つである。そしてその組織学的病像は複雑多彩な様相を呈するものが多く、かつ生物学的態度もまた一様でないなどその組織発生由来や腫瘍特性についてこれまでの多くの研究にもかかわらず、不明の点がなお多く残されている。

本研究は近年急速に発達、普及した免疫組織化学的検索手法と技術的に著しく向上、多様化した粘液に関する組織化学的技法を駆使することにより唾液腺腫瘍の中でも古くから特異な組織像を呈することによって知られている腺リンパ腫について腫瘍組織とその母組織と考えられる原発部位に相当する正常唾液腺組織の組織学的観察成績の対比によっていまだ十分に解明されていない組織発生由来および腫瘍特性に関して考究せんとしたものである。

材料および方法

1. 検索材料

東京医科大学病院病理部に集積された腺リンパ腫17例および対照例20例、計37例を対象とした。なお対照

東京医科大学口腔外科学教室
(主任：内田安信教授)
Department of Oral Surgery, Tokyo Medical
College (Chief: Prof. Yasunobu Uchida)
受付日：昭和63年11月25日

例は唾液腺疾患を有さない新鮮剖検例より採取した正常唾液腺組織である。

2. 研究方法

検索に用いた組織はすべて10~20%ホルマリンで固定し、パラフィン包埋されたものである。

1) 一般光顕の観察

通法に従い厚さ 3μ の薄切片を作製後 Hematoxyline-Eosin 染色の他、必要に応じて、Azan, Elsticavan Giesen 染色、鍍銀法などの常用特殊染色を施した。

2) 免疫組織化学的検索

ホルマリン固定パラフィン切片を用い、Hsu ら¹⁾ によって開発された ABC (Avidin-Biotin-Peroxidase Complex) 法にて行った (図1)。すなわち、パラフィンブロックより薄切した厚さ 3μ の切片はキシロールで脱パラフィン後 pH 7.6 の 0.01 M 磷酸緩衝生食水 (以下 PBS) に15分間浸漬し、さらに、内因性ペルオキシダーゼ活性阻止のため 0.3% 過酸化水素水添加99%メタノール液中に30分間浸漬した。次に非特異的吸着反応を除去する目的で10倍希釈の正常家兎血清を用いて湿箱中で20分間室温にて incubate させた後、一次抗体を 4°C 湿箱中で over night で反応させた。反応終了後、PBS にて5分間3回洗浄し、Biotin 化二次抗体を30分湿箱中、室温で反応させ、再び PBS で5分間ずつ3回洗浄、次に Avidin-Biotin-Peroxidase Complex 溶液を室温湿箱中で60分間反応させた。反応終了後、流水中にて10分間水洗し、0.05% 3.3 Diaminobenzidine (SIGMA 社 USA) および 30% 過酸化水素水添加の 0.05 M トリス緩衝液 (pH 7.6) で呈色反応を行った。すなわち、抗原部にペルオキシダーゼが特異的に結合することにより diaminobenzidine が酸化され、茶褐色を呈することを確認した。その後、蒸留水洗で反応を停止させ Mayer の Hematoxylin で対比核染色、脱水、透徹を行い、60% HSR 液 (国際試薬社) 製で封入した。ABC 法は Vector Laboratories 社 (USA) 製 Vectastain ABC kit (anti-rabbit Ig kit) を用いた。使用した一次抗体は DAKO 社 (Copenhagen Demmark) の poly-clonal antibody (rabbit) であり、その希釈倍率はおのおの次のとおりである。Carcinoembryonic antigen (以下 CEA) 1:400, Secretory Component (以下 SC) 1:300, Lactoferrin (以下 LF) 1:300, Lysozyme (以下 LZ) 1:600, Keratin (以下 K) 1:200, IgA (1:500) とした。なお各抗体の negative control はすべて正常家兎血清を用いた。

3) 粘液組織化学的検索

ホルマリン固定パラフィンブロックより厚さ 3μ の薄切片を作製し、Periodic-Acid-Shiff (以下 pH), PAS after Diastase degestion (以下 D-PAS), pH 2.5 Alcian-Blue (以下 AB), Colloidal-Iron (以下 CI), High-Iron-Diamine (以下 HID) の各染色および PAS-

パラフィンブロックより厚さ 3μ の薄切片作製
 ↓
 脱パラフィン キシロール 1) 10分 キシロール 2)
 ↓
 10分
 ↓
 100% メタノールに浸漬
 ↓
 0.3% H_2O_2 添加メタノールに浸漬 室温にて30分
 ↓
 100% メタノールに浸漬
 ↓
 100% エタノールに浸漬
 ↓
 90% エタノールに浸漬
 ↓
 80% エタノールに浸漬
 ↓
 70% エタノールに浸漬
 ↓
 水洗後, PBS 1) 5分...PBS 2) 5分
 ↓
 10% NGS...室温にて20分間反応
 ↓
 一次抗体... 4°C over night にて反応
 ↓
 PBS 洗 5分ずつ各3回
 ↓
 Avidin-Biotin-Peroxidase Complex 溶液にて45分間
 反応
 ↓
 PBS 洗 5分ずつ各3回
 ↓
 水洗後, DAB にて呈色反応
 ↓
 蒸留水にて反応停止後, Hematoxyline で核染色
 ↓
 水洗後, 脱水, 透徹, 封入

図1 酵素抗体法 (ABC 法)

AB, HID-AB 重染色を施し、粘液物質の検索を行った (図2)^{2,3)}。すなわち PAS 反応, AB 染色を各々行い、さらに HID, AB 染色を行いこれらの組み合わせにより中性ムチン、酸性ムチンに分類し、Spicer の方法⁴⁾に準じて HID 染色を行い surfomucin を検出した。また消化酵素処理を行うことにより上皮性細胞の中に含まれるムコ多糖群の同定を試みた。用いた酵素消化法はヒアルロン酸を特異的に消化する Streptomyces hyaluronidase 消化法、ヒアルロン酸、コンドロイチン、コンドロイチン硫酸 A, C を特異的に消化する Testicular-hyaluronidase 消化法である (図3)⁵⁾。

i) Streptomyces hyaluronidase 消化法

パラフィンブロックより薄切した厚さ 3μ の切片を通法に従い脱パラフィンし、水中に浸漬する。さらにこれを Streptomyces hyaluronidase (生化学工業社製) を 100 TRU/ml の活性濃度で含む 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 5.0) に $40\sim 50^{\circ}\text{C}$ で4時間浸漬後水洗し、pH 2.5 Alucian-Blue 染色を施した。

ii) Testicular hyaluronidase 消化法

脱パラフィン後の薄切片を Testicular hyaluronidase (Sigma Chem. Co 製) を 0.1% (W/V) の濃度で含む

図 2 ムコ物質の組織化学的解析

- i) Streptomyces hyaluronidase 消化法
パラフィンブロックより厚さ 3 μ の薄切片作製
通法に従い脱パラフィン…キシロール 1(10分)…キシロール 2(10分)
水中に浸漬
Streptomyces hyaluronidase を 100 TRU/ml の活性濃度で含む 0.1 M PBS (pH 5.0) に 40~50°C で 4 時間浸漬
水洗
pH 2.5 Alcian-Blue 染色
- ii) Testicular hyaluronidase 消化法
パラフィンブロックより厚さ 3 μ の薄切片作製
脱パラフィン…キシロール 1(10分)…キシロール 2(10分)
Testicular hyaluronidase を 0.1% (W/V) の活性濃度で含む 0.1 M PBS (pH 5.5) に 37°C で 4 時間浸漬
水洗
pH 2.5 Alcian-Blue 染色

図 3 酵素消化法

0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 5.5) 中に 37°C で 4 時間浸漬後水洗し、pH 2.5 Alcian-Blue 染色を施した。

研究結果

1. 症例の概要

年齢は最高齢 76 歳，最低齢 38 歳，平均年齢 59 歳であり，年代別では 50 代が 7 例と最も多かった。性別では男性 15 例，女性 2 例であった。腫瘍の発生部位は，右側 6 例，左側 11 例，両側性に発生したものはみられなかった。これらはすべて外科的に全摘手術の行われたものである (表 1，2)。

2. 一般光顕的所見

腫瘍は好酸性細胞顆粒状胞体を有する高円柱状のいわゆる oncocytic な二層性または多列様配列を示す上皮細胞成分よりなる実質と胚中心の形成を伴うリンパ組織成分よりなる間質からなっており，これらは基底膜により隔てられている。上皮成分のうち特に管腔に面する細胞は高円柱状を呈し，基底膜に接する細胞は立方状を呈し，規則正しく配列している。この腫瘍のリンパ組織成分にはリンパ球の他，組織球，マスト細胞，形質細胞などが含まれる。Seifert らにより⁶⁾，本腫瘍はリンパ組織成分と上皮組織成分の腫瘍内における割合による上皮組織成

表 1 腺リンパ腫の性別および側性別発生率

	性 別				側 別						合計		%
	男 性		女 性		左 側		右 側		両側性				
	例	%	例	%	例	%	例	%	例	%			
腺リンパ腫	15	88.2	2	11.8	11	64.7	6	35.0	0	0	17	100	

表 2 腺リンパ腫の年齢階級別分布

	0～20歳		20～39歳		40～59歳		60～79歳		80歳以上		計	
	例	%	例	%	例	%	例	%	例	%	例	%
腺リンパ腫	0	0.0	1	5.9	7	41.2	9	52.9	0	0	17	100

写真 1 腺リンパ腫 (H-E 染色)

写真 3 腺リンパ腫 (CEA ABC 法)

写真 2 正常唾液腺組織 (CEA ABC 法)
腺房細胞 導管上皮細胞

分優勢型，間質成分優勢型，中間型の三型に分類されているが本検索例においては上皮組織成分優勢型3例，間質組織成分優勢型3例，中間型11例，であった。また，本検索症例では扁平上皮化生を示すものは見られなかつ

た(写真1)。
3. 免疫組織化学的検索所見
1) CEA について

正常唾液腺組織では，その染色性は腺房細胞および介在部導管上皮細胞で高度陽性，排泄部導管上皮細胞および腺条部導管上皮細胞で軽度陽性であった(写真2)。腫瘍組織では検索例の64.76%で管腔側上皮細胞において中等度ないし高度陽性であった(写真3)。

2) Lactoferrin について
正常唾液腺組織では，腺房細胞および介在部導管上皮細胞，排泄部導管上皮細胞ともに高度陽性を示し(写真4)，腫瘍組織では，管腔側上皮細胞において検索例の41.47%で高度陽性であった(写真5)。

3) Secretory component について
正常唾液腺組織中では，排泄部導管上皮細胞に高度陽性，介在部導管上皮細胞，腺条部導管上皮細胞に中等度陽性を示し(写真6)，腫瘍組織では，検索例の70.58%において管腔側上皮細胞で軽ないし中等度の陽性であった(写真7)。

写真 4 正常唾液腺組織 (LF ABC 法)

腺房細胞 | 導管上皮細胞

写真 7 腺リンパ腫 (SC ABC 法)

写真 5 腺リンパ腫 (LF ABC 法)

写真 8 正常唾液腺組織 (K ABC 法)

腺房細胞 (線状部) | 導管上皮細胞

写真 6 正常唾液腺組織 (SC ABC 法)

腺房細胞 | 導管上皮細胞

写真 9 腺リンパ腫 (K ABC 法)

4) Keratin について

正常唾液腺組織では、排泄部導管上皮細胞の基底側で高度陽性、腺条部導管上皮細胞管腔側で中等度陽性を示した(写真8)。腫瘍組織では、すべての症例で管腔

側上皮細胞基底側を中心として高度の陽性であった(写真9)。

4) IgA について

正常唾液腺組織では介在部導管上皮細胞、腺条部導管

写真 10 正常唾液腺組織 (IgA ABC 法)

腺房細胞 | 導管上皮細胞

写真 11 腺リンパ腫 (IgA ABC 法)

写真 12 正常唾液腺組織 (LZ ABC 法)

上皮細胞で中等度の陽性を示し、排泄部導管上皮細胞で中等度ないし高度の陽性を示しており (写真10)、腺房細胞では、軽度陽性または陰性であった。腫瘍組織では、検索例の 70.58% で管腔側上皮細胞に軽度ないし中等度の陽性を示すものがあつた (写真11)。

5) Lysozyme について

正常唾液腺組織では、介在部導管上皮細胞、線条部導

表 3 正常唾液腺組織における各抗原の局在

1. Carcino-embryonic antigen:	腺房細胞 (漿液細胞) (++)
	介在部導管上皮細胞 (++)
	線状部導管上皮細胞 (+)
	排泄部導管上皮細胞 (+)
2. Keratin:	腺房細胞 (漿液細胞) (++)
	排泄部導管上皮細胞 (+)
	線状部導管上皮細胞 (+)
3. Secretory Component:	腺房細胞 (漿液細胞) (++)
	排泄部導管上皮細胞 (++)
	線状部導管上皮細胞 (+)
	介在部導管上皮細胞 (+)
4. Lactoferrin:	腺房細胞 (漿液細胞) (++)
	介在部導管上皮細胞 (++)
	排泄部導管上皮細胞 (++)
5. IgA:	介在部導管上皮細胞 (+)
	線状部導管上皮細胞 (+)
6. Lysozyme:	介在部導管上皮細胞 (++)
	線状部導管上皮細胞 (+)
	腺房細胞 (漿液細胞) (+)

表 4 腺リンパ腫における各抗原の局在

1. Carcino-embryonic antigen:	管腔側上皮細胞 (+~++)
	細胞膜
2. Secretory component:	管腔側上皮細胞 (±~+)
3. Keratin:	管腔側上皮細胞
	(基底側細胞を中心に+)
4. Lactoferrin:	管腔側上皮細胞 (+~++)
5. IgA:	管腔側上皮細胞 (±~+)
6. Lysozyme:	管腔側上皮細胞 (++)

管上皮細胞に強い抗原性を示し、腺房細胞に中等度陽性を示しており (写真12)、排泄部導管上皮細胞は陰性であつた。腫瘍組織では、明らかな局在は示さなかつた (表3~5)。

4. 粘液組織化学的検索所見

正常唾液腺組織では、胞体内に PAS 反応陽性の顆粒がみられ (写真13, 14)、このうち PAS 反応陽性粘液はジアスターゼ処理を施しても完全には陰性化することなく AB-PAS 重染色で AB 陽性の酸性ムチン優位を示すものが16例、80% (写真15)、AB, PAS 共に同程度の陽性を示すもの4例、20%であり、PAS 陽性の中性ムチン優位を示すものは見られなかつた。さらに酸性粘液は HID-AB 染色で sialomucin と sulfomucin に染めわけられるが正常唾液腺組織では sialomucin 優位を示

表 5 腺リンパ腫の免疫組織化学的解析

症例番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	total	%
Carcinoembryonic antigen	+	+	+	±	+	+	±	+	+	+	+	±	±	±	+	±	+	11/17	64.6
Keratin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	17/17	100.0
Secretory Component	-	±	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	±	12/17	70.58
Lactoferrin	-	+	+	-	+	+	-	±	-	-	-	-	±	+	+	±	+	7/17	41.17
IgA	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+	±	-	+	12/17	70.58
Lysozyme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/17	0.00

写真 13 正常唾液腺組織 (PAS 染色)

写真 15 正常唾液腺組織 (AB-PAS 染色)

腺房細胞 | 導管上皮細胞

写真 14 正常唾液腺組織 (D-PAS 染色)

写真 16 正常唾液腺組織 (HID-AB 染色)

すもの14例, 70% (写真16), sialomucin, sulfomucin と
も, 同程度の陽性所見を示すもの6例, 30%, sulfomucin
優位を示すものは見られなかった (表6)。また腫瘍組
織では管腔を形成する二層性ないし多列様構造を示す上
皮細胞において表層に配列するほとんどのものが PAS
反応に陽性を示す線毛を被う surface coat, cytoplasmic
substance, intratubular substance を有しており (写真17,
表7), これらはジアスターゼ処理を行うことにより陰
性化する傾向を示したことから PAS 反応物質の多くが

グリコーゲンを主体としていることが考えられた (写真
18)。また CI-AB 染色についても陽性を示す surface-
coat, cytoplasmic substance, intratubular substance を
有する細胞が比較的小数ながら見られ (写真19), HID-
AB 染色では AB 陽性の sialomucin 優位の性格を示し
ていた (写真20, 表8)。またヒアルロン酸, コンドロ
イチン硫酸などの glycosaminoglycan (以下 GAG) に
ついてはこれらに streptomyces hyaluronidase, testicular
hyaluronidase の各消化試験を施しても陰性化すること

写真 17 腺リンパ腫 (PAS 染色)

写真 20 腺リンパ腫 (HID-AB 染色)

写真 18 腺リンパ腫 (D-PAS 染色)

写真 19 腺リンパ腫 (CI 染色, AB 染色)

なく上皮性粘液の性格を示していた。

なお、これらの各抗体と粘液の重染色についての観察を行ったが腫瘍組織においては管腔内以外にはそれぞれの抗体と粘液との染色陽性部位の重複の見られるものは少なかった。

表 6 正常唾液腺における粘液組成の検討

症例番号	粘液染色		HID-AB	
	AB	PAS	Si	Su
1	++	+	++	++
2	+++	+	+	+
3	++	+	++	++
4	+++	++	+	—
5	++	+	++	—
6	+	+++	+	—
7	+	++	++	—
8	++	+	++	—
9	+++	+	+	+
10	++	+	++	+
11	+	+++	+	—
12	++	+	+	+
13	++	+	++	—
14	+++	+	+	—
15	+	+++	+	—
16	++	+	+	—
17	+++	+	++	+
18	++	+	+	+
19	++	+	+	—
20	+++	++	+	+

AB>PAS 80% Si>Su 70%
AB=PAS 20% Si=Su 30%

考 按

嚢胞状の腺腔構造を形成する上皮組織成分と間質を占めるリンパ組織成分よりなる特徴ある組織像を示す腺リンパ腫は1910年 Albrecht らがリンパ節内に発生した乳頭状嚢腺腫として報告し、その後、1929年 Warthin

表 7 腺リンパ腫の粘液組織化学的解析

症例番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	計	%
Surface coat	+	+	+	—	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	14	82.4
Intratubular substance	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	17	100
PAS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	17	100
D-PAS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	17	100
AB	+	+	+	+	—	+	+	+	—	+	—	+	+	—	+	+	+	13	76.5
AB after SHD	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	0	0
AB after THD	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	0	0
CI	+	—	—	+	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	—	+	12	70.6
HID	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	4	23.5
Cytoplasmic substance	—	—	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	8	47.1
PAS	—	—	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	8	47.1
D-PAS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	17	100
AB	—	—	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	7	41.2
AB after SHD	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0
AB after THD	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	0	0
CI	—	—	—	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+	+	—	7	41.2
HID	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	3	17.6

SHD: Streptomyces-hyaluronidase digestion
THD: Testicular-hyaluronidase digestion

表 8 腺リンパ腫における粘液組成の検討

症例番号	粘液染色	AB-PAS			HID-AB	
		mucus	AB	PAS	Si	Su
1	+	+	++	++	++	+
2	+	+	+	++	+	—
3	+	+	+	++	—	—
4	+	+	++	++	+	—
5	—	—	—	—	—	—
6	+	+	++	++	++	++
7	+	+	++	++	++	++
8	+	+	++	+	+	—
9	+	+	+	++	++	+
10	—	—	—	—	—	—
11	+	+	++	+	+	—
12	+	+	+	++	++	+
13	+	+	+	++	+	—
14	+	+	+	++	++	++
15	+	+	++	++	+	+
16	+	+	++	++	++	+
17	+	+	++	++	++	+

AB>PAS 47.05%
AB<PAS 41.17%
AB=PAS 10.00%

Si>Su 64.70%
Si<Su 35.29%

によって乳頭状囊腺リンパ腫 (papillary cystadenoma lymphomatosum)として改めて命名され、これ以後一般的には Warthin 腫瘍と呼称されるようになってきた。このうちのリンパ組織成分に含まれるリンパ球は、T-cell, B-cell それぞれのマーカーを有しているものからなっていることが知られているが、いずれが優位を示すかはまだ統一された見解は得られていない。WHO では、1972年唾液腺腫瘍の分類を行うにあたって腺リンパ腫の名称を採用している。本腫瘍の発生頻度は全唾液腺腫瘍の2～10%前後とする報告が多く、壮年期以後の男性に多く発生するとされている⁶⁾。

組織発生由来についてはリンパ節内に迷入残存した腺組織に起源を求めるものや、成熟した唾液腺組織の導管上皮に由来し、リンパ組織の増殖も併せて生じるとするものがあるが、まだ統一された見解は得られていない。

ところで腫瘍細胞は、その起源細胞が分化の過程でなんらかの要因によりその分化が途中で阻止され transform した形で現れてくるものとする説が現在広く認識されている。本研究では腫瘍化した細胞においても原則的には腫瘍化以前の細胞の形質がなんらかの形で保持されているであろうとする腫瘍総論の見地から正常組織の腫瘍化に至る間の各抗原の局在分布様式の変化および、細胞の機能表現としての産生粘液の組成の変化を組織化学的に観察することにより腫瘍化に際しての生物学的特

性的変化を考究することを目的とした。さらに光顕形態学的に唾液腺組織の導管上皮に類似した腫瘍上皮成分に着目し、これを腫瘍マーカー、分泌タンパク、細胞骨格関連抗原の各種抗原物質の局在を酵素抗体法を用いて比較し、また産生粘液の組成の変化を組織化学的に追求することによりその分化方向への位置付けを求めようとした。

1. 免疫組織化学的検索について

本研究では1966年、Nakane ら⁷⁾により開発され今日では日常的病理組織診断に頻用される酵素抗体法(ABC法)¹⁾を用いて、K, CEA, SC, IgA, LF, LZの各抗原物質の局在を検索した。ABC法は、Sternberger ら⁸⁾によって開発されたPAP(Peroxidase-antiperoxidase method)法にくらべて感度がよく、過剰抗原時に偽陰性(false negative)の生じる危険がなく、操作性に優れておりパラフィン切片における使用に特に適しているといわれている。

2. Kについて

細胞骨格(cytoskeleton)の第三構成要素として知られる中間径線維(intermediate filament)の一つであるkは、X線回折で α -ヘリックス構造を示し、電顕的検索ではトノフィラメントにあたる事が知られている⁹⁾。これは上皮細胞に多く含まれている不溶性のタンパク質群で今日までにさまざまな方法でその抽出が試みられ、その性状について検討がなされてきた。そしてこれらはSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(sodium-dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)上、分子量40,000~70,000 KDのポリペプチドよりなっていることが知られている¹⁰⁾。

これらは分子量と等電点の違いから現在19種類のサブユニットが確認されており、さらに毛髪や爪、皮膚などの付属器に含まれるいわゆるhard keratinをも含めると合計30種類のサブユニットが見い出されている¹¹⁾。そして今日これらはおのおの検索する部位によって異なったタイプのkとして見出されることが明らかにされている¹²⁾。

正常唾液腺組織におけるkの局在については内山¹³⁾がPAP法を用いて生検例および剖検例より得られた正常唾液腺組織について報告しており、粘液腺、漿液腺にはいずれも染色を認めず、小葉内外の導管上皮細胞に強い染色性を認めているものの、その染色性の相違や詳細な部位については言及していない。著者の検索では排泄部導管上皮細胞の基底側を中心として強い染色性を示しており、線条部導管上皮細胞では自由縁細胞膜に中等の陽性像を認めているが、腺房細胞にはその存在が明らかではなかった。腫瘍組織においては、管腔を形成する二層性の上皮細胞の基底側の細胞の胞体内に特徴的な強い染色性を認めたが、これは正常唾液腺組織における排泄部導管上皮細胞に見られた染色態度にきわめて類似し

たものと思われた。

3. LFについて

1939年、Sørensen ら¹⁴⁾によって、ウシの乳汁中に見い出され、1951年、はじめてヒト乳汁中より分離されたLFは、鉄イオン結合能によるとされるbacteriostasisを有する分子量約75,000から80,000の鉄結合性糖蛋白質で、母乳、とくに初乳に多量に含有されていることが知られている。Bullen ら¹⁵⁾によれば、この静菌能力はLFが2つの可逆的な鉄結合部位を有し、鉄飽和されないapoproteinの状態で分泌されるため、分泌後、鉄イオンをキレートし、鉄要求性の強い微生物と競合するためと考えられているが、この外の生物学的意義についてはなお不明点が多い。このLFは、血清中にはほとんど見出されず、涙、尿、唾液、気管分泌液や好中球の二次顆粒に多量に存在することが知られ、乳腺、唾液腺、気管支腺などの外分泌腺細胞や白血球において産生されていることが知られている。またT-cell依存性にcolony-stimulating factorを抑制し¹⁶⁾、顆粒球系の抑制をなしているということや、炎症時の貧血にも関与しているという報告¹⁷⁾があるが、これは、生体における防御系の一要素であることを示唆するものとして知られている。

正常唾液腺組織においては、Reitamo ら¹⁸⁾やKorsrud ら¹⁹⁾の漿液性腺房細胞や介在部導管上皮細胞および線条部導管上皮細胞に局在を示したという報告や、Caselitze ら²⁰⁾やTourville ら²¹⁾のように導管上皮細胞にはまったく局在を認めなかったという報告がある。また綿谷ら²²⁾のように導管上皮細胞にはLFの局在を認めたが、腺房細胞には、まったく見られなかったとしている報告もある。さらに、Masson ら²³⁾やTourville ら²¹⁾は漿液性腺房細胞、粘液性腺房細胞ともにLFの局在を報告しているが、実際にはこれ以降に粘液性腺房細胞にLFの局在を見たという報告はなく、これらの報告には抗体の純度の問題や、技術的にartifactの介在する余地が考えられ、今日ではより詳細な検索により、新たな知見が明らかになってきている^{22,24)}。本研究ではKorsrud ら¹⁹⁾、高田ら²⁵⁾の報告と同様に、漿液性腺房細胞および介在部導管上皮細胞に著しい局在を認めた。

腫瘍組織では検索例の40%のものが陽性で基底側の上皮細胞質内に局在を示すものもあったが、その多くは二層性ないし多列様の上皮細胞の最内層の管腔側上皮細胞の細胞質内全域にほぼ均一な強い局在を示した。これは従来なされてきた報告に比べ高い陽性率であり、これまでの報告はその詳細な陽性部位については述べていない。本研究における管腔側上皮細胞陽性所見は局所免疫機構の一翼を担うとされるIgAが同様に管腔側上皮細胞の管腔側表層に局在したことと対比考慮すると、感染防御機能を有するLFがIgAと細胞膜表層で結合してbacteriostaticな能力を発揮していることの可能性を窺わせるものであった。渡辺ら²⁶⁾は*in vitro*でLFとIgA

の結合の可能性を示唆する知見を得たと報告している。

4. SC および IgA について

SC は、分子量約75,500²⁷⁾、沈降係数4.5の分泌性糖タンパクであり、消化管、汗腺、気管支などの諸臓器の、腺上皮細胞で合成される。そしてこれらの上皮細胞の basolateral plasma membrane 外に分泌され、体液中(乳汁、便、唾液)、に広く分布していることが知られている。かつては Tourville ら²¹⁾により、消化管粘膜の Goblet 細胞でも合成されると報告されていたが、その後、Brandtzaeg ら^{28,29)}により十分に純化した抗原を用いることや、蛍光抗体法による検索によりヒト Goblet 細胞内には SC の局在は証明されず、腺上皮細胞質内および細胞膜上のみ SC を認めたと報告された。さらにその後、加納ら³⁰⁾は蛍光抗体法を用いて common-variable immunodeficiency 例の十二指腸粘膜の Goblet 細胞にのみ SC の局在を認めたとしている。

一方、1965年 Tomasi ら³¹⁾により発見された外分泌液中の IgA は、沈降係数 11-S 分子量390,000であり、すでに1959年 Hermans ら³²⁾によって発見、報告されていた沈降係数 7-S を示す血清由来の IgA とは物理化学的にも、また免疫学的にも異なるものであり、その後の研究により^{33,34)}局所の抗原刺激に応じ、局所の粘膜下固有層の形質細胞で、monomer として産生されることが明らかにされた。この IgA は、同様に産生される IgM とやはり局所の形質細胞で産生される分子量 15,000±500 の J 鎖により重合され、おのおの dimer IgA, pentamer IgM となり、これらは上皮細胞における SC-mediated transport mechanism^{28,35)}を介してそれぞれ (IgA)₂・J・SC および、(IgM)₅・J・SC の構造をもち分泌型 Ig となって粘膜表面へ分泌されることが明らかにされている^{36,37)}。ことに前者は、局所粘膜表層での mucosal defence の役割をはたし、局所免疫機構の一翼を担っていると考えられている^{28,38,39)}。しかし SC そのものには免疫活性はなく、これは上皮細胞における免疫グロブリンに対する一種の receptor carrier protein として機能していると考えられている³⁵⁾。本研究では、正常唾液腺組織における SC の局在を、漿液性腺房細胞および、介在部導管上皮細胞、線条部導管上皮細胞、とりわけ、排泄部導管上皮細胞に著明に認めており、これは従来なされてきた数多くの報告と一致する。また Tourville ら²¹⁾は、漿液性腺房細胞のみならず、粘液性腺房細胞にも SC の陽性所見を得たと報告している。しかし、彼ら以外の報告に、粘液性腺房細胞での SC の局在を認めたとするものが見あたらず、LF 陽性所見同様、抗体の純度の問題、非特異的反応などを考慮すべきであり²²⁾、今日的には再検討を要すると考えるのが妥当であろう。

IgA は SC の局在部位とよく対応し、正常唾液腺漿液性腺房細胞、介在部導管上皮細胞、線条部導管上皮細胞、排泄部導管上皮細胞にその局在を示し、ことに排泄部の導管上皮細胞の管腔側上皮細胞により明らかな局在を示していた。

細胞、排泄部導管上皮細胞にその局在を示し、ことに排泄部の導管上皮細胞の管腔側上皮細胞により明らかな局在を示していた。

SC, IgA とも、腫瘍組織においてはおのおの検索例の73.3%の陽性率を示し、管腔を形成する二層性ないし多列様の上皮細胞の内層の細胞質内および、管腔側表層の細胞膜上に局在が見られるものが多かったが SC の中には、基底側の上皮細胞の basal, lateral の細胞膜上に局在を示すものもあった。これは oncocytic な腫瘍細胞の分泌上皮への機能的分化を示唆するものとした小川ら⁴⁰⁾の報告を支持する結果であり、腫瘍管腔側上皮細胞のみならず、腫瘍基底側上皮細胞も SC 合成能を有していることを示唆するものであった。IgA においては、その局在部位がおおむね SC の局在部位と合致しているところから、これらは分泌型 IgA と考えられ、SC が IgA のリセプターとして機能していることを支持する所見と考えられた。そして、これらの局在は、とりわけ、管腔側上皮細胞の管腔側表層に明らかにみられ、正常腺において排泄部導管上皮細胞の管腔側に明らかな局在がみられたことと合わせ、腫瘍化にしてもその functional protein の局在様式は変わらず、IgA が局所免疫機構の担い手であることを考慮すると、組織防衛機構についてきわめて合目的な結果と考えられた。

5. CEA について

Gold と Freedman^{41,42)}によって、1965年初めて胎生2～6か月のヒト胎児の腸管と、燐酸塩食塩緩衝液によるヒト大腸癌抽出物中より見いだされた CEA は、分子量約200,000の糖タンパクであり、糖の含有量は50%(W/W)、ほぼ均一な構造を有するペプチド鎖よりなると考えられ、電気泳動ではβ-グロブリン域に broad band を呈する不均一な物質として認められることが知られている。本抗原は、かつて癌特異抗原 (tumor specific antigen) であるとされたが、その後、正常組織や、内胚葉由来の上皮性悪性腫瘍中にもその存在が知られるようになり⁴³⁾、癌の特異的マーカーとしての有用性は相対的に低下した。そして現在では、癌に特異的というより、癌組織と非癌組織における量的な差異の問題と考えられるようになり^{44,45)}。今日的には癌の随伴抗原 (tumor associated antigen) として臨床的に広く有用性が認められている。ところで従来より下部消化管腫瘍では高分化型の癌組織ほど CEA 産生能が高いとする報告が多くなされてきているが^{46,47)}分化の低い細胞にも広く分布していることが報告されており^{48,49)}、元来胎児組織に多く存在していたことを考慮すると組織形態学的構造とは別に CEA 産生細胞は胎児組織への逆分化の傾向を有する細胞と考えることができる。

この CEA の正常唾液腺組織における局在は、腺房細胞に認めたとする Itoiz ら⁵⁰⁾、綿谷ら²²⁾、McDicken ら⁵¹⁾、Caselitz ら⁵²⁾の報告があり、このうち Itoiz ら⁵⁰⁾

は、導管上皮細胞には局在を認めなかったと述べているのに対し、綿谷ら²²⁾は、導管上皮細胞にも局在を認めたとしている。本研究では、その染色性に若干の差異はあるものの、いずれの導管上皮細胞にも抗原の局在が認められた。しかし、CEA それ自体はすでに種々の細胞に見出されており、CEA 関連抗原の存在も含め考えると、その差異は質的なものではなく、量的なものと考えるのが妥当であり、さらに純度の高い抗体を作製して検索していく必要があると思われる。

腫瘍組織における CEA の局在は、検索例の66.6%にみられ、二層性を示す管腔側上皮細胞では basal, lateral の細胞膜および自由縁細胞膜にみられる部分、多列様の管腔側上皮細胞では、細胞質内にびまん性にみられる部分とがあった。細胞質内での染色性は、細胞膜上におけるそれに比べて劣っていたが、これは CEA が細胞質内で合成されることを示唆する所見と考えられた。

6. LZ について

ライソゾーム酵素の一つで菌壁のムコ多糖体を溶解するといわれる LZ は、1922年 Flemming⁵³⁾ によってその存在が報告された分子量約14,000の抗菌性加水分解酵素で、その溶菌作用は、N-アセチルグルコサミンと N-アセチルムラミン酸間の β -(1.4) 結合の切断によることが知られている。

正常唾液腺組織における LZ の局在は高田ら²⁵⁾、Korsrud ら¹⁹⁾、のように漿液性腺房細胞および介在部導管上皮細胞にその局在を認めたという報告や、Klockars ら⁵⁴⁾ のように腺房細胞にはその局在を認めず小葉内導管上皮細胞にのみ局在を認めたとするもの、また Reitamo ら⁵⁵⁾ のように小唾液腺組織においては粘液性腺房細胞にもその局在を認めたとするなど種々の報告がある。本研究では介在部導管上皮細胞および漿液性腺房細胞に強い染色性を認め、線条部導管上皮細胞にも弱い染色性を示したが、排泄部導管上皮細胞には明らかな局在は見られず、おおむね高田ら²⁵⁾、Korsrud ら¹⁹⁾ の報告と一致した。しかし腫瘍組織において LZ の局在を示す報告は見られず、今回の検索例においても明らかな局在を示すものは得られなかった。このことは正常唾液腺細胞の腫瘍化に際し LZ がなんらかの重要な関りを有していることを示唆する所見と考えられた。

7. 粘液組織化学的検索について

今日、生体内粘液物質の総称としていわれるいわゆるムチンは、多糖類とタンパク質との複合糖質からなることが明らかにされており、この生体内で合成される複合糖質は、重要な生理学的活性を有することが知られている。これらのいわゆる粘液物質 (mucosubstance) は糖鎖部分の結合様式により、グリコプロテインとプロテオグリカンに大別されており、グリコプロテインはさらに血清型とムチン型とに別れるが、いわゆる上皮性粘液はすべてムチン型糖蛋白質であることが知られている。

このムチン型糖蛋白質は粘液組織化学的に Spicer⁵⁶⁾ により、酸性粘液と中性粘液に大別されており、さらに酸性粘液は硫酸基 (sulfate ester) の有無によって surfomucin と sialomucin に分類されているが、なかにはおのおのエステルを共有するものの存在を示唆する報告もなされている^{57,58)}。

近年、複合糖質の組織化学の進歩により腫瘍化に伴う糖質の変化が組織レベルで詳細に検討されるようになり肺、胃、大腸など、腺系腫瘍の発生母地となる諸臓器において腫瘍化に伴って変性するムチンの組成の解析を試みる研究、報告が数多くなされるようになってきている。この複合糖質の一つであり、上皮細胞の外分泌物である粘液物質 (mucosubstance) の産生能を有する正常唾液腺組織が腫瘍化に伴い、細胞の機能表現としての産生粘液の組成にいかなる変化を示すか粘液組織化学的に検索した。また各種抗原物質の局在との関連はどうか検討した。

本研究においては正常唾液腺組織の腺房細胞はジアスターゼ抵抗性を示す豊富な PAS 反応陽性の粘液物質を有していた。この PAS 反応は過ヨウ素酸に酸化剤を用い、これに Shift 試薬を反応させたものであり、この反応により natural mucin は特異的に赤く染まる。surfomucin は pH 2.5 Alcian-Blue 染色で、青く染まり、sialomucin は Spicer⁴⁾ による High-Iron-Diamine 染色で特異的に黒褐色に染色されることが知られている。

また各導管上皮細胞にも少量ながら mucin の存在をうかがわせる surface coat, cytoplasmic substance, intratubular substance を有しており、これは各導管系の中でも腺房細胞に近位の部位すなわち、介在部に多く見られ、腺房細胞より遠位の排泄部ではきわめて少なくなっていた。これは一定の分化の過程で形態のみならず機能においても一定の順序が存在するとともに粘液産生能という functional piece は保持され続けていることを示唆するものと考えられる。また腺リンパ腫の上皮細胞成分では明らかな含有粘液の低下がみられた。このことは腫瘍化に伴って腺組織の粘液産生が減少することを示唆し、従来よりいわれてきた導管上皮由来を支持する染色態度と考えられた。そして産生された粘液の性状は正常唾液腺組織では PAS 反応陽性、ジアスターゼ耐性、AB 陽性の酸性ムチンを有するものが20例中16例、80%と優位であったのに対し、腺リンパ腫では酸性ムチン優位を示すものは17例中8例、47.05%でありグリコーゲンを主体とする PAS 反応物質優位を示すものは17例中7例、41.17%、AB 陽性、PAS 陽性とも、同程度のもので17例中2例、11.76%であった。これは腫瘍化に伴い酸性粘液の産生は著しく減少する傾向を示唆するものと考えられた。また酸性粘液の組成は正常唾液腺組織では sialomucin が20例中14例、70%と優位を示し、腺リンパ腫においても20例中11例、64.70%と優位を示し

ており酸性粘液は腫瘍化に伴ってその組成に大きな変化を示さないことが示唆された。

さらに腫瘍組織における上皮細胞成分の中の酸性ムコ多糖群の同定を酵素消化試験を行うことにより試みたが、本研究では、いずれの腫瘍組織においてもヒアルロン酸、コンドロイチン、コンドロイチン硫酸 A、C などの明らかな所在は窺われず、本腫瘍形成における筋上皮性細胞関与に否定的な所見であった。また対照として用いた正常唾液腺組織においてはコンドロイチン、コンドロイチン硫酸 A、C の消化を示唆する染色性の低下がわずかに見られたが、多くは消化されておらずこの他の GAG の存在を示唆していた。またヒアルロン酸消化試験では明らかな消化所見は得られなかったがこれはムコ多糖類産生に関与するとされる筋上皮性細胞が、唾液腺組織の主要な構成成分であることを考慮すると興味ある所見と考えられた。しかし通常の10~20%ホルマリン固定では組織中のヒアルロン酸の溶出が考慮されねばならず、さらに詳細な検索を要するものとする。また各抗原の局在と産生粘液を検討すると腫瘍管腔内の粘液物質はその染色部位の合致を認めたが胞体内粘液物質および細胞膜上ではその染色性に重複を認めない傾向を示した。このことにより、粘液産生能を有する細胞は粘液非産生性細胞にくらべて機能的に分化度の高い状態の細胞と考えるならば、今回用いた各抗体はいずれも腺リンパ腫の比較的機能的分化度の低い状態の細胞に多く局在する傾向にあるのではないかと考えられた。

結 語

腺リンパ腫およびヒト正常唾液腺組織37例について、免疫組織化学的に Carcinoembryonic antigen, Secretory component, IgA, Keratin, Lactoferrin, Lysozyme の各局在を検討し、さらに粘液組織化学的に中性粘液、酸性粘液, sialomucin, sulfomucin の各分布の検索と上皮細胞に含まれるムコ多糖群の同定を試み、以下の知見を得た。

1. 免疫組織化学的検索について

IgA, Lactoferrin, Secretory component の正常唾液腺組織における各局在は acinus unit の防御を示唆し、腫瘍組織においては、SC-IgA, IgA-LF の各結合を窺わせ、SC-mediated transport mechanism と local immune system の存在を裏付ける組織防御機構に合目的な所見であった。また腫瘍組織における Keratin の局在は排泄部導管上皮細胞に類似した上皮基底側細胞に濃染する特徴的な像を示し、本腫瘍の排泄部導管上皮由来を強く窺わせる染色態度であった。一方 Lysozyme が腫瘍化に伴い明らかな陽性率の低下を示したことは Lysozyme が腫瘍化に際し、なんらかの関わりを有することを窺わせるものであった。

2. 粘液組織化学的検索について

正常唾液腺組織における産生粘液は酸性粘液優位であり、腫瘍組織では酸性粘液の産生は減少したが酸性粘液の組成は正常唾液腺組織、腫瘍組織ともに sialomucin 優位であった。正常唾液腺組織では酵素消化処理を行うことにより glycosaminoglycan の存在が窺われたが腫瘍組織では明らかな glycosaminoglycan の存在は窺われず、本腫瘍形成における筋上皮細胞関与が否定的に支持された。腫瘍組織における各抗体と粘液の重染色では、いずれの抗体においてもその局在部位と粘液産生細胞は解離する傾向が見られ、粘液産生能を有する細胞を機能的に比較的分化度の高い状態の細胞と考えると Carcinoembryonic antigen, Keratin, Secretory component, IgA, Lactoferrin, Lysozyme の各抗体はいずれも腺リンパ腫の比較的機能的分化度の低い状態の細胞に局在する可能性が細胞機能の面から窺われた。ことに Carcinoembryonic antigen においては元来胎児組織に多く存在していたことを考慮するとその局在は組織形態学的構造とは別に細胞の胎児性組織への逆分化の指標となりうるということが示唆された。

稿を終えるにあたり本研究課題を与えられ、終始ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜りました恩師内田安信主任教授に深謝致します。また本研究を直接ご指導頂きました本学病理学教室佐々弘教授に深謝致します。材料の検索をお許しくださいました本学病院病理部長海老原善郎助教授、終始かわらぬご助言、ご教示を頂きました本学口腔外科学教室北島晴比古講師に併せて深謝致します。

本論文の要旨の一部は第71回日本病理学会総会（東京）、第11回日本頭頸部腫瘍学会総会（東京）にて発表された。

引 用 文 献

- 1) Hsu, S.M., Reine, L., et al: Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase techniques. A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29: 577-580 1981.
- 2) 日本組織細胞化学会編：組織細胞化学1981、第1版、学際企画、東京、1981、175-194頁。
- 3) 勝山 努、本田孝行：粘液組織化学（1）染色法の概要。医学のあゆみ 127：中付 1983。
- 4) Spicer, S.S.: Diamine method for differentiating mucosubstances histochemically. *J Histochem* 13: 211-234 1965.
- 5) 日本組織細胞化学会編：組織細胞化学1984、第1版、学際企画、東京、1984、19-32頁。
- 6) 石川梧朗監修：口腔病理学、改訂版、永末書

- 店, 京都, 1986, 731-735頁.
- 7) Nakane, P.K. and Pierce, C.G.: Enzyme-labeled antibodies: preparation and application for localization of antigens. *J Histochem Cytochem* 14: 929-931 1966.
 - 8) Sternberger, L.A., Hardy, P.H., et al.: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem* 18: 315-333 1970.
 - 9) Matoltsy, A.G.: Desmosomes, filaments, and keratohyaline granules: their role in the stabilization and keratinization of the epidermis. *J Invest Dermatol* 65: 127-142 1975.
 - 10) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685 1970.
 - 11) 森永正次郎, 中島 孝, 他: 中間径フィラメント. *病理と臨床* 5: 384-394 1987.
 - 12) Fuchs, E. and Green, H.: The expression of keratin genes in epidermis and cultured epidermal cells. *Cell* 15: 887-897 1978.
 - 13) 内山元泰: 唾液腺の免疫組織化学的研究 B VI ケラチン蛋白の組織内局在の検討. *日大歯学* 55: 978-986 1981.
 - 14) Sørensen, M. and Sørensen, S.P.L.: The proteins in whey; C.R. Lab. Carlsberg ser *Chim* 22: 55-99 1939.
 - 15) Bullen, J.J., Rogers, H.J., et al.: Ironbinding proteins in milk and resistance to *Escherichia coli* infection in infants. *Br Med J* 8: 69-75 1972.
 - 16) Bagby, G.C., Vasiliki, Jr., et al.: Interaction of lactoferrin, monocytes, and T lymphocyte subsets in the regulation of steady-state granulopoiesis *in vitro*. *J Clin Invest* 68: 56-63 1981.
 - 17) Van Snick, J.L., Masson, P.L., et al.: The involvement of lactoferrin in the hyposideremia of acute inflammation. *J Exp Med* 140: 1068-1084 1974.
 - 18) Reitamo, S., Kontinen, Y.T., et al.: Distribution of lactoferrin in human salivary glands. *Histochemistry* 66: 285-291 1980.
 - 19) Korsrud, F.R. and Brandtzaeg, P.: Characterization of epithelial elements in human major salivary glands by functional makers. *J Histochem Cytochem* 30: 657-666 1982.
 - 20) Caselitz, J., Jaup, T., et al.: Lactoferrin and lysozyme in carcinomas of the parotid gland. *Virchows Arch* 394: 61-73 1981.
 - 21) Tourville, D.R., Alder, R.H., et al.: The human secretory immunoglobulin system: immunohistological localization of γ A, secretory "piece" and lactoferrin in normal human tissues. *J Exp Med* 129: 411-429 1969.
 - 22) 綿谷和也, 白砂兼光, 他: ヒト顎下唾液腺における種々の唾液蛋白の分布. *日口外誌* 31: 222-229 1985.
 - 23) Masson, P.L., Hermans, J.F., et al.: An iron binding protein common to many external secretions. *Clin Chem Acta* 14: 735-739 1966.
 - 24) 浜川裕之, 土井 正, 他: ヒト唾液腺腫瘍の免疫組織化学的研究. *日口外誌* 32: 1109-1120 1986.
 - 25) 高田 隆, 小川郁子, 他: 唾液腺腫瘍の免疫組織化学的研究. *歯基礎誌* 26: 1190-1199 1984.
 - 26) 渡辺敏輝, 名倉 宏, 他: ヒトラクトフェリンとヒト IgA との結合. *医学のあゆみ* 125: 256-258 1983.
 - 27) Brandtzaeg, P.: Mucosal and glandular distribution of immunoglobulin components: Differential localization of free and bound SC in secretory epithelial cells. *J Immunol* 112: 1553-1559 1974.
 - 28) Brandtzaeg, P.: Structure, synthesis and external transfer of mucosal immunoglobulins. *Ann Immunol* 124: 417-438 1973.
 - 29) Brandtzaeg, P.: Mucosal and glandular distribution of immunoglobulin components. Immunohistochemistry with a cold ethanol fixation technique. *Immunology* 26: 1101-1114 1974.
 - 30) 加納 正, 内野浩人, 他: 腸管粘膜における Secretory component 産生細胞に関する検討. *日消病会誌* 76: 1271-1276 1979.
 - 31) Tomasi, T.B., Tan, E.M., et al.: Characteristics of an immune system common to certain external sections. *J Exp Med* 121: 101-125 1964.
 - 32) Hermans, J.F., Hermans, M. T.H., et al.: Isolation and description of a few properties of the γ 2A globulin of human serum. *Clin Chem Acta* 4: 96-102 1959.
 - 33) Hermans, J.F.: Immunoglobulin formation and function in different tissues. *Curr Top Microbiol* 45: 142-146 1968.
 - 34) Brandtzaeg, P., Fjellanger, I., et al.: Human secretory immunoglobulins. I. salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum immunoglobulins. *Scand J Haematol suppl* 12: 1-83 1970.
 - 36) 谷内 昭, 前田修一, 他: ヒトの分泌型免疫グロブリン系の分布と機能. *日本臨床* 35: 1637-1644 1977.
 - 37) 細田四郎, 馬場忠雄, 他: 腸管の Secretory IgA dimer の産生機序とその異常. *日本臨床*

- 35: 1627-1637 1977.
- 38) Tomasi, T.B. Jr. and Bienstock, J.: Secretory immunoglobulin. *Adv Immunol* 9: 1-96 1968.
- 39) Tomasi, T.B. Jr.: Secretory immunoglobulins. *New Eng J Med* 287: 500-506 1972.
- 40) 小川郁子, 高田 隆, 他: 唾液腺腫瘍の免疫組織化学的研究. *歯基礎誌* 26: 1200-1209 1984.
- 41) Gold, P. and Freedman, S.O.: Demonstration of tumor-specific antigen in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 121: 439-462 1965.
- 42) Gold, P. and Freedman, S.O.: Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med* 122: 467-481 1965.
- 43) Martin, F. and Martin, M.S.: Demonstration of antigens related to colonic cancer in the human digestive system. *Int J Cancer* 6: 352-360 1970.
- 44) Huitric, E., Laumonier, R., et al.: An optical and ultrastructural study of the localization of carcinoembryonic antigen (CEA) in normal and cancerous human rectocolonic mucosa. *Lab Invest* 34: 97-107 1976.
- 45) Isaacson, P. and Judo, M.A.: Carcinoembryonic antigen (CEA) in the normal human small intestine: a light and electron microscopic study. *Gut* 18: 786-791 1977.
- 46) 和久本博: Carcinoembryonic antigen (CEA) の免疫組織化学的研究. *阪大医誌* 27: 17-26 1975.
- 47) 小泉欣也, 安富 徹: 胃粘膜組織内の CEA の局在と濃度の研究. *癌の臨* 26: 36-44 1980.
- 48) 鈴木光明, 大和田倫孝, 他: 子宮頸部および体部腺癌の組織, 細胞レベルでの Carcinoembryonic Antigen 産生機能. *日産婦誌* 37: 897-902 1985.
- 49) Cohen, C., Shulman G., et al.: Endocervical and endometrial adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 6: 151-157 1982.
- 50) Itoiz, M.E., Lanfranchi, H.E., et al.: Immunocytochemical defection of carcinoembryonic antigen in salivary gland tumors. *Int Oral Surg* 12: 340-343 1983.
- 51) McDicken, I.W. and Scott, J.: The presence and distribution of carcinoembry in tumors of human minor salivary glands. *J Oral Pathol* 10: 296-303 1981.
- 52) Caselitz, J., Seifert, G., et al.: Presence of carcinoembryonic antigen (CEA) in the normal and inflamed human parotid gland. An immunohistochemical study of 31 cases. *J Cancer Res* 100: 205-211 1981.
- 53) Fleming, A.: On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proct R Soc* 93: 306-317 1922.
- 54) Klokars, M. and Reitmano, S.: Tissue distribution of lysozyme in man. *J Histochem Cytochem* 23: 932-940 1975.
- 55) Reitamo, S., Klockers, M., et al.: Immunohistochemical identification of lysozyme in the minor salivary glands of man. *Arch Oral Biol* 22: 515-519 1977.
- 56) Spicer, R.R.: Suggestion for a histochemical terminology of carbohydrate rich tissue component. *J Histochem Cytochem* 13: 599-603 1965.
- 57) Pearse, A.G.E.: *Histochemistry: Theoretical and Applied*. Little Brown and Co, Boston Mass, 1961.
- 58) Spicer, S.S. and Duvenci, J.: Histochemical characteristics of mucopolysacchrides in salivary and exorbital lacrimal glands. *Anat Rec* 149: 333-358 1964.