原 著

腺様嚢胞癌の臨床病理学的ならびに免疫組織化学的検討

山 下 善 弘 黒 川 英 雄 村 田 朋 之
三 浦 恵 子 徳 留 慎 吾 梶 山 稔

要旨：腺様嚢胞癌 8 例について臨床および病理組織学的に検討するとともに、その細胞特性を把握するために増殖能、癌遺伝子産物の発現を免疫組織化学的に検討した。

1. 組織学的分類において Grade III では 3 例中 2 例に神経周囲侵襲を認め、脈管侵襲に関しては Grade III 全例に認められた。
2. p 53 蛋白発現では Grade III にのみに認められた。
3. Grade III において Grade I, II に比べ高い PCNA 陽性率を認め、Grade III における高い増殖動態が示唆された。
4. EGF 発現は全例に認められなかった。

キーワード：腺様嚢胞癌、臨床病理学的検討、免疫組織化学的検討

緒 言

腺様嚢胞癌は口腔領域に発生する悪性腫瘍の中では、比較的まれであり、その発育が緩慢なため、一般に長い経過をたどることが多い¹⁾。しかしながら、しばしば認められる局所再発や遠隔転移が予後を左右する因子として重要視されている²⁾。

今回、私たちは、腺様嚢胞癌 8 例について、臨床および病理組織学な検討を行うとともに、その細胞特性を把握する目的から増殖能および癌遺伝子産物の発現を免疫組織化学的に検索し、若干の知見を得たので報告する。

対象および方法

1) 臨床的検討

対象症例は 1977 年から 1995 年までに当科を受診し、加療を行った腺様嚢胞癌患者のうち組織学的な検索が可能であった 8 例を対象とした。

初診時の年齢、性別、腫瘍の発現部位について検討を行い、また、UICC (1987)³⁾による口腔癌の TNM, Stage 分類に準じて臨床病期分類を行っ

た。

予後については局所再発あるいは遠隔転移の有無ならびに初回治療後から再発までの期間についても検討した。

2) 病理組織学的ならびに免疫組織化学的検討

初診時の生検組織あるいは手術時に得られた摘出組織を 10 % 中性緩衝ホルマリンにて固定後、通法に従いパラフィン包埋、4 μ m の連続切片を作製した。病理組織学的には H・E 染色を行い、Philip ら (1984)⁴⁾の分類を用いて組織型の分類を行った (表 1)。

免疫組織化学的には一次抗体にモノクローナル抗体である抗 p 53 蛋白抗体、抗 PCNA 抗体、上皮増殖因子としての抗 EGF 抗体をそれぞれ用いて LSAB 法にて免疫組織染色を行い、DAB により発色し、メチルグリーンにて薄く核染を行った (表 2)。判定方法は P 53 蛋白、EGF については腫瘍胞巣内で陽性細胞を認めなかったものを陰性、腫瘍細胞の一部にでも認めたものを陽性とした、また、PCNA については任意の 5 視野について腫瘍細胞 1,000 個あたりの陽性細胞率を算出した。

表 1 腺様嚢胞癌の組織分類

Grade I : tumors with tubular and cribriform areas but without solid components.
Grade II : cribriform tumors that were either pure or mixed with less than 30% of solid areas.
Grade III : tumors with a predominantly solid pattern.

(Philip, A.S., et al 1984)

表 2 免疫組織化学的染色法

(一次抗体)	
Mouse monoclonal 抗 PCNA 抗体	(Dako, 1 : 300)
Mouse monoclonal 抗 p53 抗体	(Dako, 1 : 50)
Mouse monoclonal 抗 EGF 抗体	(Wakunaga, 1 : 80)
(染色方法)	
LSAB (Labelled Strepto-Avidin Biotin) 法	

成 績

1) 臨床的検討

対象症例 8 例における性別では男性, 女性とも同数の 4 例で, 初診時の年齢は 35 歳から 80 歳にわたり, 平均年齢は 61.8 歳であった。発現部位では口蓋 4 例, 口底 2 例, 頬粘膜 1 例, 顎下腺 1 例であり, 7 症例は小唾液腺の原発であった。また, 臨床病期分類では Stage I : 3 例, Stage II : 2 例と初期癌症例が多くを占めていた (表 3)。

治療法別では外科療法の単独が 1 例, 外科療法と化学療法の併用が 3 例, 外科療法と化学療法および放射線療法の三者併用療法が 1 例であった。

局所再発, 転移, 予後については経過が長く追跡不能例を 2 例認め, 可能であった 6 例については 5 例に局所再発あるいは転移が認められ, そのうち 3 例は死亡例であった。また, 局所再発あるいは転移例の 5 例のうち 4 例は治療終了後 5 年以内であったが, 症例 6 については治療後 8 年 10 か月と非常に長い期間後に局所再発が認められた (表 4)。

2) 病理組織学的検討

Philip ら (1984)⁴⁾ の分類における組織学的分類では, Grade I : 3 例, Grade II : 2 例, Grade III : 3 例であった。また, この組織学的分類と神経周囲侵襲および脈管侵襲の有無との関連をみると Grade III において 3 例中 2 例に神経周囲侵襲を認め, 脈管侵襲に関しては Grade III 全

表 3 腺様嚢胞癌 8 例の臨床所見

症例 No.	年齢	性別	原発部位	TNM	Stage
1	71	M	口蓋	T2N0M0	I
2	35	M	頬粘膜	T2N0M0	II
3	80	F	口蓋	T1N0M0	I
4	49	M	顎下腺	T2bN1M0	III
5	68	M	口底	T3N0M1	IV
6	59	F	口蓋	T4N2aM0	IV
7	75	F	口蓋	T2N0M0	II
8	57	F	口底	T2N0M0	I

表 4 腺様嚢胞癌 8 例の治療経過

症例 No.	治療 方法	局所再発	転移	予後
1	S			不明
2	CSR	+	肺, リンパ節 (30カ月)	死
3	SR			不明
4	SR	+	肺, リンパ節 (54カ月)	生
5	C		肺, (初診時)	死
6	CS	+(106M)		死
7	CS	+(15M)		死
8	CS			生

C : 化学療法, S : 手術, R : 放射線療法

例に認められた (表 5)。

3) 免疫組織化学的検討

p53 蛋白発現では, 8 例中 1 例 (Grade III) に

表 5 腺様嚢胞癌 8 例の組織学的所見

Case No.	Grade	神経侵襲	脈管侵襲
1	I	+	+
2	II	—	—
3	III	+	+
4	II	—	+
5	III	—	+
6	I	+	—
7	III	+	+
8	I	—	—

表 6 腺様嚢胞癌 8 例の免疫組織化学染色所見

Case No.	Grade	P53	PCNA (%)	EGF
1	I	—	2.3	—
2	II	—	9.4	—
3	III	—	11.4	—
4	II	—	11.6	—
5	III	—	13.5	—
6	I	—	8.2	—
7	III	+	18.2	—
8	I	—	9.4	—

のみ認められた。また、充実型の腫瘍胞巣周囲に散在性に多くの陽性細胞を認めたが、篩状型胞巣部にはほとんど陽性細胞が認められなかった（写真 1）。

PCNA の発現では、全例に陽性細胞が認められた。Grade I, II では腺管構造を示す一部の基底側の腫瘍細胞に陽性細胞が認められた（写真 2）。また、Grade III では多くの腫瘍細胞に散在性に認められた。一方、Grade 別の PCNA 陽性率では Grade III に全例陽性率 10 % 以上の比較的高い陽性細胞率を示していた。なお、EGF 発現では全例において陽性症例は認められなかった。

考 察

1. 臨床所見について

腺様嚢胞癌は唾液腺に好発する比較的にまれな悪性腫瘍であり⁵⁻⁷⁾、とくに小唾液腺からの発生頻度が高いと報告されている⁸⁾。自験例においても 8 例中 7 例が小唾液腺原発であった。性別では性差はないという報告^{6,8)}や、女性に多いという報告⁹⁾が認められるが、今回の症例では男女差は認めら

写真 1 充実型の腫瘍胞巣周囲の腫瘍細胞の核に散在性に陽性細胞を認める。
(p 53 免疫組織化学染色 ×95)

写真 2 腺管構造を示す多くの腫瘍細胞の核に陽性細胞を認める。
(PCNA 免疫組織化学染色 ×95)

れなかった。また、発現年齢では 10 代から 80 代まで広く分布し、50 代前後に多いとする諸家らの報告^{6,9)}と一致していた。

2. 病理組織所見について

病理組織像では腺様嚢胞癌は非常に多彩な像を示し、これまでにいくつかの組織型分類がなされている^{4,10-13)}。そのうち philip ら (1984)⁴⁾の組織分類では充実型の占める割合が高くなるにつれて分裂像や核異型を多く認め、組織学的悪性度が高くなるとされている¹⁰⁾。また、野口ら (1983) や¹³⁾、四ッ屋ら (1988)¹⁴⁾の報告では充実型を多く含む Grade III では神経周囲侵襲や脈管侵襲が多く認められ、他の Grade に比較して組織学的悪性度が高いと述べている。自験例では脈管侵襲は Grade III の 3 例全てに認められ、他の Grade に比較して高頻度であった。また、神経周囲侵襲については Grade III の 3 例中 2 例に認められたことから、

Grade III が組織学的に高悪性であることが示唆された。

3. 免疫組織化学的所見について

p 53 遺伝子は野性型（正常型）と変異型に分けられ¹⁵⁻¹⁷⁾，正常型は癌抑制遺伝子であると考えられている¹⁸⁾。これにより多くの悪性腫瘍で発見され^{15, 16)}，変異型 p 53 遺伝子が重要な癌抑制遺伝子と考えられるようになった¹⁹⁾。腺様嚢胞癌における p 53 については往西（1995）²⁰⁾の報告では 24 例中 20 例（83.3 %）に発現が認められ，とくに篩状型に高い発現率を示していたと報告している。自験例では充実型の胞巣を示す部分の一例にのみ p 53 蛋白の発現を認めた。自験例においても型別については症例数が少ないことから，その関連性を認めず，今後，p 53 遺伝子の分子レベルについての解析が必要と思われる。

悪性腫瘍において細胞レベルにおける腫瘍細胞の増殖能は悪性腫瘍患者の予後に影響を与える重要な因子とされ，増殖能の解明にさまざまな研究がなされている²¹⁻²³⁾。また，腺様嚢胞癌においても増殖能について各組織型との関連が検討され，とくに充実型に増殖能が高いと報告されている^{24, 25)}。腺様嚢胞癌における PCNA 発現について往西（1995）²⁰⁾は腺様嚢胞癌の各組織型別における PCNA 陽性率の検討にて充実型が他型に比べ有意に高いと報告している。自験例では症例数が少ないものの充実型胞巣を多く占める Grade III に高い陽性率が認められ，腺様嚢胞癌において増殖の主体が充実型胞巣部であるという報告¹⁾ 20, 26 と同様の結果であった。

Shirasuna ら（1990）²⁶⁾によれば腺様嚢胞癌は主として A 型および B 型の二つの細胞より構成されると述べ，A 型は筋上皮細胞あるいは介在部導管前駆細胞類似の細胞で充実部や篩状部の胞巣を構成し，B 型細胞は導管上皮に類似したもので腺管部胞巣を構成すると報告している。自験例では腺様嚢胞癌においてその上皮成分の細胞特性を把握する目的でモノクローナル抗 EGF 抗体を用いて検索を行ったが，その発現は全例において認められなかった。この点について Mori ら（1987）²⁷⁾は 32 例の腺様嚢胞癌について EGF の発現について検討を行い，ほとんどの症例に発現は認められなかったが，数例においては篩状胞巣の管腔構造

を示す内腔側に散在性に発現を認めたとし，EGF 発現を認めたものは導管上皮由来で，認められないものは筋上皮由来ではないかと述べている。自験例では全例において BGF 発現が認められなかったことより今後，導管上皮由来細胞の分化レベルについての検討が必要と思われる。

臨床経過と免疫組織化学的所見の関連

Philip ら（1984）⁴⁾の組織学的分類における Grade III 症例と局所再発，遠隔転移との関連性については四ツ谷ら¹⁴⁾の報告において Grade III 症例 4 例のうち全例に局所再発と転移を認めたと報告しており，今回の我々の検討においても Grade III 症例は 3 例認め，そのうち経過の確認できた 2 例については初診時より肺転移を認めたものと，術後 15 カ月にて局所再発を認めたものであった。また，この後者の症例では PCNA 陽性率が 18.2 % と高い増殖能を認め，p 53 発現も認められた。これらのことより，今回の検討では症例数が少ないものの，Grade III 症例における臨床的にも高悪性である可能性が示唆され，局所再発，転移に関する十分な経過観察が必要と思われる。

結 語

腺様嚢胞癌 8 例について臨床および病理組織学的に検討するとともに，その細胞特性を把握するために増殖能，癌遺伝子産物の発現を免疫組織化学的に検討した。

1. 組織学的分類において Grade III では 3 例中 2 例に神経周囲侵襲を認め，脈管侵襲に関しては Grade III 全例に認められ，Grade III が高悪性であることが示唆された。

2. p 53 蛋白発現では Grade III にのみに認められた。

3. PCNA 陽性率では Grade III が Grade I, II に比べ高い傾向にあった。

4. EGF 発現は全例に認められなかった。

文 献

- 1) 高城 功：唾液腺原発腺様嚢胞癌についての病理学的検討。口病誌 43：64-86, 1976.
- 2) Conley, J. Dingman, D. L., et al.: Adenoid cystic carcinoma in the head and neck. Arch Otolaryngol 100：81-90, 1974.
- 3) 日本頭頸部腫瘍学会：VI. 臨床病期分類およびそ

- の付属事項. 日本頭頸部腫瘍学会編; 臨床・病理頭頸部癌取り扱い規約, 2 版, 金原出版株式会社, 東京 1991, 73-75.
- 4) Philip, A. S., Mario, A. L., et al.: Histological grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary gland. *Cancer* 54: 1062, 1984.
 - 5) Foote, F. W. and Frazell, E. L.: Tumors of the major salivary glands. *Cancer* 6: 1065-1133, 1953.
 - 6) Soiro, R. H., Huvos, A. G., et al.: Adenoid cystic carcinoma of salivary origin, A clinicopathologic study of 242 cases. *Am J Surg* 128: 512-520, 1947.
 - 7) Nochomovitz, L. E., Kahn, L. B., et al.: Adenoid cystic carcinoma of salivary gland and its histologic variants. A clinicopathologic study of thirty cases. *Oral Surg* 44: 394-404, 1977.
 - 8) Conley, J. and Dingman, D. L.: Adenoid cystic carcinoma in the head and neck (Cylindroma). *Arch Otolaryngol* 100: 81-90, 1974.
 - 9) 岩井正行, 小浜源郁, 他: 小唾液腺に発生した腺様嚢胞癌の 7 症例. *日口外誌* 28: 465-472, 1982.
 - 10) Grahne, B., Lauren, C., et al.: Clinical and histological malignancy of adenoid cystic carcinoma. *J Laryngol Otol* 91: 743, 1977.
 - 11) Byers, R. M., Jesse, R. H., et al.: Malignant tumors of the submaxillary gland. *Am J Surg* 126: 458-463, 1973.
 - 12) 仙波 治, 佐藤武男, 他: 唾液腺腫瘍の臨床と病理—とくに腺様嚢胞癌について—. *癌の臨床* 29: 287-291, 1983.
 - 13) 野口高昭, 関谷 透, 他: 腺様嚢胞癌—病理組織像と予後—. *日耳鼻* 88: 776-783, 1983.
 - 14) 四ッ屋博人, 熊谷茂宏, 他: 腺様嚢胞癌の臨床病理学的検討—組織像と核 DNA 量の関係を中心として—. *口科誌* 37: 436-444, 1988.
 - 15) 大川恵三, 横田 淳: 癌抑制への情報伝達系—p 53 と癌化. *実験医学* 13: 1717-1720, 1991.
 - 16) 宮本美知子: p 53. *医学のあゆみ* 171: 483-485, 1994.
 - 17) 高橋 隆: 肺癌における p 53 遺伝子異常. *医学のあゆみ* 171: 483-485, 1994.
 - 18) Diller, L., Kassel, J., et al.: p 53 functions as a cell cycle control protein in osteosarcomas. *Mol Cell Biol* 10: 5772-5781, 1990.
 - 19) Coltrera, M. D., Zarbo, R. J., et al.: Markers for dysplasia of the upper aerodigestive tract. Spontaneous expression of PCNA, p 53 and CK19 in alcohol-fixed, embedded tissue. *Am J Pathol* 141: 817-825, 1992.
 - 20) 往西良之: 唾液腺の多形性腺腫と腺様嚢胞癌との比較研究—細胞増殖能と p 21 および p 53 の発現について—. *口科誌* 44: 360-375, 1995.
 - 21) Morstyn, G., Hsu, S. M., et al.: Bromodeoxyuridine in tumors and chromosomes detected with a monoclonal antibody. *J Clin Invest* 72: 1844-1850, 1983.
 - 22) Gerdes, J., Schwab, U., et al.: Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 31: 13-20, 1983.
 - 23) Malaise, E. P., Chavaudra, N., et al.: The relationship between growth rate, labelling index and histological type of human solid tumours. *Eur J Cancer* 9: 305-312, 1983.
 - 24) Fujita, S., Takahashi, H., et al.: Nucleolar organizer regions in malignant salivary gland tumors. *Acta Pathol Jpn* 42: 727-733, 1992.
 - 25) Nuhahula, E. M. A., Nikai, H., et al.: Prognostic value of argyrophilic nuclear organizer regions (AgNOR) count in adenoid cystic carcinoma of salivary gland. *Pathology International* 44: 368-373, 1994.
 - 26) Shirasuna, K., Watatani, K., et al.: Biological characterization of Pseudocyst-forming cell lines from adenoid cystic carcinomas of minor salivary gland origin. *Cancer Res* 50: 4139-4145, 1990.
 - 27) Mori, M., Naito, R., et al.: Immunohistochemical distribution of human epidermal growth factor in salivary gland tumours. *Virchows Arch A* 411: 499-507, 1987.

Clinicopathological and immunohistochemical study on adenoid cystic carcinoma

Yoshihiro Yamashita, Hideo Kurokawa, Tomoyuki Murata, Keiko
Miura and Minoru Kajiyama

Second Department of Oral Surgery, Kyushu Dental College
(Chief : Prof. Minoru Kajiyama)

Abstract

Eight cases of adenoid cystic carcinoma were studied clinico-pathologically and immunohistochemically. The eight cases were classified into three histological grades according to Philip's grading system. Localizations of PCNA, p53, and EGF were examined by using an immunohistochemical staining method. The results were as follows :

1. Neural invasion was found in 2/3 of the Grade III cases and Vascular permeation was found in all of the Grade III cases.
2. The expression of p53 protein was detected in only one of the Grade III cases.
3. The PCNA-positive rates in Grade III cases were higher than in Grades III and II.
4. The expression of EGF antigen was not detected in eight cases of adenoid cystic carcinoma.

Key words : Adenoid cystic carcinoma, Clinico-pathological study, Immunohistochemical study

Requests for reprints to : Dr. Yamashita Y., Second Department of Oral Surgery, Kyushu Dental College, 2-6-1, Manazuru, Kokurakitaku, Kitakyushu City, 803-8580, Japan