VX2 癌移植家兎顎下腺の組織化学的研究

九州歯科大学大学院歯学研究科口腔外科学第2専攻(指導:梶山 稔教授)

児 玉 高 広

昭和62年12月23日受付

A Histochemical Study of the VX2 Carcinoma Transplanted Submandibular Glands of Domestic Rabbits

Takahiro Kodama

The Second Department of Oral Surgery (Director: Prof. Minoru Kajiyama)
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

The oral cancer in its early stage is known to invade the surrounding tissue and jaw bones. The structure of the oral cavity is very complex anatomically and the mode of invasion and growth of the oral cancer are also varied. In order to provide proper treatment, therefore, it is necessary to have thorough knowledge of the way in which the oral cancer invades and proliferates in the surrounding tissue. The author therefore transplanted VX2 carcinoma in the submandibular glands of domestic rabbits and the changes in the submandibular gland tissue with proliferation of the tumor were investigated histopathologically and enzyme-histochemically.

The results were as follows:

I. Histological findings

The VX2 carcinoma tissue transplanted in the submandibular glands proliferated and grew weekly. Along with this, the terminal portion showed such regressive changes as atrophy, deformation and pyknosis of the acinous cells, and the intercalated portion and the striated portion showed atrophy and pyknosis of the epithelial cells of duct. The PAS positive substance in the acinous cells of the terminal portion was also decreased. These regressive changes were increased in the extent weekly.

II. Enzyme-Histochemical findings

1. Succinate dehydrogenase (SDH) reaction

With the proliferation of the tumor tissue, the acinous cells of the terminal portion and the epithelial cells of duct of the intercalated portion and of the striated portion in the surrounding submandibular gland tissue showed gradual decrease in reaction. These findings were found markedly in the area in contact with the tumor tissue and histologically overlapped in the extent with such regressive changes as atrophy and deformation of cytoplasm and pyknosis of the nucleus in the acinous cells of the terminal portion and in the epithelial cells of duct of the intercalated portion and of the striated portion.

2. Lactate dehydrogenase (LDH) reaction

The acinous cells of the terminal portion in contact with the tumor tissue showed gradual decrease in reaction weekly along with the proliferation of the tumor tissue. Histologically the reactions overlapped in the extent with such regressive changes as atrophy, deformation and pyknosis of the acinous cells of the terminal portion and pyknosis of the nucleus. However, the epithelial cells of duct of the intercalated portion and of the striated portion in contact with the tumor tissue showed gradual decrease in reaction beginning with the cases of three-week after transplantation and about in concurrence with such regressive changes as atrophy of cytoplasm and pyknosis of the nucleus.

3. Acid phosphatase (ACP) reaction

The reaction of the acinous cells of the terminal portion in contact with the tumor tissue gradually increased beginning with the cases of two-week after transplantation and histologically overlapped with the area where atrophy and deformation of the acinous cells of the terminal portion and pyknosis of the nucleus were marked. However, the epithelial cells of the intercalated portion and of the striated portion showed gradual decrease in reaction beginning with the cases of three-week after transplantation about in concurrence with atrophy of cytoplasm and pyknosis.

4. Alkaline phosphatase (ALP) reaction

With the proliferation of the tumor tissue, the myoepithelial cells of the terminal portion in contact with the tumor tissue showed gradual decrease in reaction. Histologically, the reactions about overlapped in area with such regressive changes as atrophy, deformation and pyknosis of the acinous cells of the terminal portion.

5. Non-specific esterase (EST) reaction

With the proliferation of the tumor tissue, the acinous cells of the terminal portion and the epithelial cells of duct of the intercalated portion and of the striated portion showed gradual decrease in reaction weekly. Histologically, the reactions about overlapped in area with such regressive changes as atrophy and deformation of the acinous cells of the terminal portion and atrophy and deformation of cytoplasm of the intercalated portion and of the striated portion and pyknosis of the nucleus.

6. The foregoing changes in enzymic reaction were intensified especially at the area surrounded by the tumor tissue and at the submandibular gland tissue of the area directly in contact with the tumor tissue. Further away from the tumor tissue, the less were the changes. Histologically, these changes overlapped in area with such regressive changes as atrophy, deformation and pyknosis of the acinous cells of the terminal portion, atrophy and deformation of cytoplasm of the intercalated portion and of the striated portion and pyknosis of the nucleus.

7. The foregoing experimental results showed that the invasion and proliferation of VX2 carcinoma tissue induced morphological regressive changes in the submandibular gland tissue and also affected such functional aspects as synthesis and excretion of the secretory substance. Furthermore, the invasion and proliferation induced changes in enzymic reaction of the acinous cells and myoepithelial cells of the terminal portion and

in that of the epithelial cells of duct, and also affected the metabolic mechanism of the submandibular gland tissue.

Key words : *VX2 carcinoma / Submandibular gland / Histochemistry / Domestic rabbit*

緒 言

口腔癌が比較的早期に周囲軟組織や顎骨を浸潤することはすでに知られている¹⁻⁸⁾。とくに顎・口腔領域ではその構成が解剖学的にもきわめて複雑で、浸潤発育様式も多種多様である³⁻¹¹⁾。口腔癌に対する治療法は他科領域における癌治療¹²⁾と同様に、外科的療法、放射線療法、化学療法などによる集学的な治療法が実施されている¹³⁻²⁰⁾。しかしながら、口腔という特殊性から、治療後における形態や機能の保持という重要な問題が残され、治療後の障害をできるだけ回避する適切な治療法が望まれる。したがって、より適確な治療を実施するにあたっては、口腔癌の周囲組織への浸潤増殖態度を熟知しておくことが肝要である。

このような観点から、これまでに口腔癌モデルとして、発癌物質や移植腫瘍を用いた研究が多数報告されている²¹⁻⁴⁰⁾。当教室においても臨床的には梶山ら(1978)⁶⁾が下顎骨への浸潤状況を検索し、実験的には VX2 癌を用いて、安藤(1971)²⁸⁾が上顎洞で、外山(1978)³⁶⁾は舌で、中尾(1986)⁴⁰⁾は歯肉と、それぞれ周囲組織や隣接臓器で浸潤、増殖態度を検索し、報告している。

一方、唾液腺を対象として、発癌過程やその増殖状況を病理組織学的に研究した報告は多くみられる^{22-24, 29, 31, 33-35, 37)}。しかしながら、移植腫瘍を顎下腺に移植し、増殖態度について検索した報告は少なく、島田(1960)²²⁾、川勝ら(1969)²⁷⁾および当教室の中村(1984)³⁹⁾らの報告があるにすぎず、増殖態度を酵素組織化学的に検索した報告はほとんどみられない。

著者は家兎の顎下腺に VX2 癌を移植し、腫瘍の増殖にともなう顎下腺組織の態度を病理組織学的ならびに酵素組織化学的に検索し、知見を得たのでその成績を報告する。

実験材料ならびに実験方法

I. 実験材料

A. 実験動物

体重約2.0kg 前後の成熟雑系雄性家兎、60頭を実験に使用した。家兎は購入後、1～2週間、固型飼料(ORC

4, オリエンタル酵母社製)および水道水を同一条件下で飼育し、恒温条件下の飼育室にて予備飼育し、十分環境に順応させたのち、実験に供した。

B. 実験腫瘍

移植腫瘍は家兎に可移植性で、ヒトの口腔癌のうち、最も多い扁平上皮癌に類似した組織型を有する VX2 癌^{30, 39-42)}を使用した。なお、VX2 癌は愛知ガンセンター・ウィルス部より当教室にて家兎の大腿筋肉内で、累代移植、維持されているものである。

II. 実験方法

A. 移植方法

家兎の大腿筋肉内に累代移植されている VX2 癌組織を無菌的に切除し、正常筋肉や壊死部を可及的に除去した。ついで、腫瘍組織片を phosphate buffered saline にて十分洗浄したのち、細切し、#50～100ゲージの白金メッシュで濾過、その細胞浮遊液を 800～1000rpm, 5分間遠沈した。ついで、川勝ら(1971)²⁷⁾、中村(1984)³⁹⁾、中尾(1986)⁴⁰⁾らの方法に準じて、腫瘍細胞数が 5×10^5 個/ml となるように、5%の仔牛血清を含んだ Eagle の minimum essential medium にて調整し、移植腫瘍とした。

顎下腺への移植は顎下部に約 3cm の皮切を加え、周囲組織を鉈的に剝離し、顎下腺を露出したのち、ツベルクリン用注射針にて顎下腺の被膜下へ、腫瘍細胞浮遊液 0.5ml (2.5×10^5 個)を注入、移植した。

B. 観察方法

予備実験の成績から移植後 4～5 週で顎下腺の湿重量が、正常顎下腺の 3～4 倍となり、しかも顎下腺を充滿した腫瘍組織が周囲組織へと浸潤、増殖したため、観察期間を 1～4 週までとした。

移植した家兎は所定期間飼育後、顎下腺機能を一定にするために、15～18時間絶食させたのち、屠殺し、顎下腺を摘出した。摘出顎下腺は直ちに中央部で矢状断に切断し、すみやかに O.C.T. Compound (Lab-Tek Products) により -20°C で包埋し、 -20°C のクリオスタット内で、 $5 \sim 8 \mu\text{m}$ の新鮮凍結切片を作成し、コハク酸脱水素酵素・succinate dehydrogenase (以下 SDH と略す)、乳酸脱水素酵素・lactate dehydrogenase (以下 LDH と略す)、酸性フォスファターゼ・acid pho-

sphatase (以下 ACP と略す), アルカリフォスファターゼ・alkaline phosphatase (以下 ALP と略す), 非特異的エステラーゼ・non-specific esterase (以下 EST と略す) などを酵素組織化学的に検索した。また, 摘出顎下腺の一部は10%中性ホルマリン水溶液に固定し, ヘマトキシリン・エオジン重染色(以下 H・E 染色と略す)および過ヨウ素酸シッフ染色(以下 PAS 染色と略す)を施し, 鏡検した。

1. SDH 反応

佐野 (1965)⁴³⁾ の Tetrazolium 法を応用して, 切片を下記の基質液中で 37°C, 40分間浸漬し, 蒸留水で水洗, グリセリン・ゼラチンで封入。

基質液:

0.1M Sodium succinate.....30ml
0.1M Sørensen phosphate buffer (pH7.6)
.....24ml
250mg% Nitro Blue Tetrazolium chloride
.....6 ml
100mg% Phenazine Methosulfate.....2 ml

2. LDH 反応

佐野 (1965)⁴³⁾ の Tetrazolium 法を応用して, 切片を下記の基質液中で 37°C, 20分間浸漬し, 蒸留水で水洗, グリセリン・ゼラチンで封入。

基質液:

0.5M D,L-sodium lactate.....6 ml
0.03M Potassium cyanide.....10ml
500mg% Nicotinamide Adenine Dinucleotide
.....6 ml
0.1M Sørensen phosphate buffer (pH7.6)
.....20ml
250mg% Nitro Blue Tetrazolium chloride
.....6 ml
Aq. dest.....12ml

3. ACP 反応

Barka-Anderson (1962)⁴⁴⁾ の Azo 色素法を応用して, 切片を下記の基質液中で 37°C, 60分間浸漬後, 蒸留水で水洗, グリセリン・ゼラチンで封入。

基質液:

A液 { Naphthol AS-BI phosphoric acid
.....10mg
0.1M Acetate buffer10ml
Aq. dest.8 ml
B液 Hexazonium pararosanilin1 ml
A液とB液を混和し, 1Nの NaOH で pH5.0 に修

正後, 蒸留水で 20ml とする。

4. ALP 反応

Burstone の Watanabe (1964)⁴⁵⁾ 変法による Azo 色素法を応用して, 切片を下記の基質液中で 20°C, 10分間浸漬後, 蒸留水で水洗, グリセリン・ゼラチンで封入。

基質液:

Naphthol AS-BI phosphoric acid.....10mg
0.05M 2-Amino-2-methy-1, 3-propanediol
(pH9.8)20ml
Fast Blue RR Salt.....10mg

5. EST 反応

Burstone (1962)⁴⁶⁾ の Azo 色素法を応用して, 切片を下記の基質液中で 37°C, 60分間浸漬後, 蒸留水で水洗, グリセリン・ゼラチンで封入。

基質液:

A液 { Naphthol AS-D acetate3 mg
N, N-Dimethylformamide.....0.5ml
B液 0.1M Tris buffer (pH7.1)50ml

A液とB液を混和し, Fast Blue BB Salt 40mg を加える。

実験成績

I. 移植 VX2 癌の組織学的所見

移植した VX2 癌組織は充実性で, 上皮性の腫瘍細胞からなる胞巣と, 少量の結合織性の間質からなっている。腫瘍細胞の形は大小不同の多角形で, 核は類円形で比較的大きく, ヘマトキシリンに淡染し, 核優位である(写真1)。

II. 対照例 (正常家兎顎下腺)

A. 組織学的所見

正常家兎の顎下腺組織は薄い被膜に包まれ, 少量の結

写真1 移植した VX2癌組織(H・E染色, 弱拡大)

合組織により、明瞭な小葉構造を呈し、終末部の腺房細胞や介在部および線条部などの導管上皮細胞から構成されている。

終末部の腺房細胞は2種類の細胞からなっている。すなわち、1つは細胞の外形が立方形または円錐形で、細胞質がヘマトキシリンに淡染し、網眼様構造を呈する細胞で、PAS染色では弱陽性である。核はクロマチンに富み、円形ないし楕円形で、基底側に偏在している。他の1つは、細胞の外形は前者にほぼ類似しているが、細胞質はエオジンに濃染し、PAS染色では強陽性の物質が充満している。また、核は前者とほぼ同様な所見である。以上のように終末部の腺房細胞は2種類の細胞からなっていたが、前者が大部分を占めている。

介在部はエオジン好染の立方上皮細胞よりなり、核は円形ないし楕円形で、クロマチンに富み、わずかに基底側に位置している。

線条部はエオジン好染の円柱上皮よりなり、核は円形ないし類円形で、ヘマトキシリンに淡染し、ほぼ中央に位置しており、核の下方にはよく発達した基底線条が認められる。また、導管腔は円形ないし楕円形で、周囲では毛細血管が散見される(写真2)。

写真2 正常家兎顎下腺組織(対照例)

a : H・E染色, 弱拡大, b : PAS染色, 強拡大

B. 酵素組織化学的所見

SDH 反応：終末部の腺房細胞では、中等度陽性であるが、介在部や線条部の導管上皮細胞では強陽性である。なお、終末部の筋上皮細胞にはSDH反応が認められない(写真3, a)。

LDH 反応：終末部の腺房細胞では、強陽性の反応がみられ、介在部や線条部の導管上皮細胞でも強陽性に反応しているが、終末部腺房細胞に比べLDH反応は強度

写真3 正常家兎顎下腺組織(対照例)

a : SDH 反応(強拡大), 終末部腺房細胞は中等度陽性, 導管上皮細胞は強陽性に反応している。

b : LDH 反応(強拡大), 終末部腺房細胞, 導管上皮細胞ともに強陽性に反応している。

となっている。なお、終末部の筋上皮細胞にはLDH反応が認められない(写真3, b)。

ACP 反応：終末部の腺房細胞では、中等度陽性の反応がみられるが、介在部や線条部の導管上皮細胞ではACP反応は弱陽性である。なお、終末部の筋上皮細胞ではACP反応は認められない(写真4, a)。

ALP 反応：終末部の腺房細胞, 介在部および線条部の導管上皮細胞では、ともにALP反応は認められない。しかしながら、終末部の筋上皮細胞では強陽性のALP反応が認められる(写真4, b)。

EST 反応：終末部の腺房細胞では、中等度陽性の反応であるが、介在部や線条部の導管上皮細胞では、強陽性に反応している。なお、終末部の筋上皮細胞にはEST反応は全く認められない(写真4, c)。

Ⅲ. 移植後1週例

A. 組織学的所見

VX2 癌組織は顎下腺被膜の内側に局限し、小胞巣を形成しているが、腺体内への浸潤、増殖は認められない。なお、腫瘍組織に接する腺体では、リンパ球、好中球、形質細胞などの炎症性細胞の浸潤が中等度に認められる。また、同部の終末部腺房細胞では、わずかに萎縮したものや、核に濃縮のみられるものが散見される。同部の終末部腺房細胞ではPAS陽性物質が対照例に比べ、わずかに減少しているものが散見される。一方、腫瘍組織に近接する部の介在部や線条部の導管では、導管腔に軽度の拡張がみられるが、導管上皮細胞の細胞質や核に変化はみられず、対照例と同様な所見である。

写真4 正常家兔顎下腺組織 (対照例)

- a : ACP 反応 (弱拡大), 終末部腺房細胞は中等度陽性, 導管上皮細胞は弱陽性に反応している.
 b : ALP 反応 (強拡大), 終末部の筋上皮細胞は強陽性に反応している.
 c : EST 反応 (弱拡大), 終末部腺房細胞は中等度陽性, 導管上皮細胞は強陽性に反応している.

写真5 移植後1週例

- a : H・E 染色, 弱拡大, b : H・E 染色, 強拡大, c : PAS 染色, 強拡大
 腫瘍組織 (T) に顎下腺被膜下に局限し, 周囲の終末部腺房細胞では, 萎縮, 核の濃縮, PAS 陽性物質の減少した部が散見される.

以上の所見は VX2 癌組織に近接した腺体部に認められ, 他の部では対照例と同様に変化が認められない (写真5).

B. 酵素組織化学的所見

SDH 反応: 顎下腺の被膜下にみられる VX2 癌組織では, SDH 反応は痕跡程度である. また, 腫瘍組織に接する終末部の腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞でも対照例の SDH 反応と同程度で, 変化は認めら

写真6 移植後1週例

- a : SDH 反応 (強拡大), 腫瘍組織 (T) と接する部では変化はみられない。
 b : LDH 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部腺房細胞は中等度陽性で, 軽度に低下している。
 c : LDH 反応 (弱拡大), 腫瘍組織から離れた部では, 変化はみられない。

れない。なお, 腫瘍組織から離れた部でも対照例と同様で, とくに変化は認められない (写真6, a)。

LDH 反応: 顎下腺被膜下の VX2 癌組織は中等度陽性である。また, 腫瘍組織に接する部の終末部腺房細胞では, 対照例に比べ, 中等度の陽性と反応がわずかに低下している。この LDH 反応が低下している部は組織学的に終末部腺房細胞が萎縮している部とほぼ一致している。一方, 腫瘍組織に接する介在部や線条部の導管上皮細胞では, ともに LDH 反応は強陽性で, 対照例との差異は認められない。なお, 腫瘍組織から離れた部の LDH 反応は対照例と同程度である (写真6, b, c)。

ACP 反応: 顎下腺被膜下にみられる VX2 癌組織には痕跡程度の反応がみられるが, 腫瘍組織に接する終末部腺房細胞では, 対照例の ACP 反応と同様に中等度陽性の反応である。腫瘍組織に直接接している部では, 強陽性の反応を示す部も散見される。しかしながら, 介在部や線条部の導管上皮細胞では, ACP 反応は弱陽性で, 対照例のそれと差異は認められない。なお, 他の腺体部での ACP 反応は対照例と同様に終末部の腺房細胞では中等度陽性の反応, 介在部や線条部の導管上皮細胞では弱陽性反応で, 差異はみられない (写真7, a)。

ALP 反応: 顎下腺被膜下における VX2 癌組織の ALP 反応はみられず, 全く陰性である。また, 腫瘍組織

に接する終末部の腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞では, 対照例と同様に ALP 反応は全く認められない。しかしながら, 腫瘍組織に接した部の終末部の筋上皮細胞では, ALP 反応は中等度陽性で, 対照例と比べ反応は低下している。この終末部の筋上皮細胞における ALP 反応の低下は終末部腺房細胞の萎縮の範囲とほぼ一致してみられる。なお, 他の腺体内における ALP 反応は対照例と同様な所見を呈している (写真7, b)。

EST 反応: 顎下腺被膜下の VX2 癌組織は弱陽性の反応で, 腫瘍組織に接する部の終末部腺房細胞では, 組織学的に萎縮がみられる範囲とほぼ一致して, EST 反応は弱陽性を示し, 対照例に比べ低下している。しかしながら, 腫瘍組織に接する部の介在部や線条部の導管上皮細胞では, 対照例と同様に強陽性の EST 反応を呈している。なお, 他の腺体部における EST 反応は対照例と同様に, 終末部の腺房細胞は中等度の陽性, 介在部や線条部の導管上皮細胞は強陽性にそれぞれ反応し, 対照例と差異は認められない (写真7, c)。

Ⅳ. 移植後2週例

A. 組織学的所見

VX2 癌組織は顎下腺の被膜下より, 腺体内へ索状ないしは小胞巣状に浸潤し, 腺体の約1/4まで増殖している。腫瘍組織の先端部では, 終末部の腺房細胞や介在部,

写真7 移植後1週例

- a : ACP 反応 (強拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部腺房細胞は一部, 強陽性に反応している.
 b : ALP 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部の筋上皮細胞では, 中等度陽性に反応している.
 c : EST 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部腺房細胞は一部, 弱陽性に反応している.

写真8 移植後2週例

- a : H・E 染色, 強拡大, b : PAS 染色, 強拡大
 腫瘍組織 (T) は浸潤性に増殖し, 周囲の終末部腺房細胞は萎縮, 変形, 核の濃縮, PAS 陽性物質の減少がみられる.

線条部の導管は腫瘍組織に囲繞されている. また, 終末部の腺房細胞では軽度の萎縮と核の濃縮しているものが認められる.

腫瘍組織に接する腺体部では, 炎症性細胞の浸潤が軽度に認められ, 終末部の腺房細胞は軽度に萎縮し, 核は濃縮している. また, これにともない PAS 陽性物質も

減少している. 介在部や線条部の導管上皮細胞では, 細胞質, 核ともに対照例と同様に変化はみられない. また, 導管腔は移植後1週例と同様に軽度に拡張し, 導管周囲の毛細血管では, 拡張や軽度の充血がいくぶん多く認められる.

これらの所見は移植後1週例に比べ, その範囲がさらに広がっている (写真8).

B. 酵素組織化学的所見

SDH 反応: 腺体内に増殖した VX2 癌組織の先端部では, 痕跡程度の反応である. また, 腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞は弱陽性に反応し, 対照例と比べ低下している. さらに, 同部での介在部や線条部の導管上皮細胞でも同様に, SDH 反応は中等度陽性で, 対照例に比べ低下している.

腫瘍組織に接する部の終末部腺房細胞では, SDH 反応は弱陽性で, 対照例および移植後1週例に比べ著しく低下している. また, 介在部や線条部の導管上皮細胞は中等度の陽性反応で, 対照例や移植後1週例に比べ低下している. 以上のように, SDH 反応の低下範囲は移植後1週例に比べ, その範囲は広くなり, 組織学的には, 終末部腺房細胞の萎縮や核の濃縮などの退行性変化がみられる部とほぼ一致している.

一方, 腫瘍組織から離れるにしたがい, 終末部腺房細

胞の **SDH** 反応は弱陽性から弱陽性ないし中等度陽性へと移行しているが、対照例および移植後1週例に比べやや低下している。しかしながら、腫瘍組織から離れた部の介在部や線条部の導管上皮細胞では、**SDH** 反応は強陽性となり、対照例や移植後1週例とほとんど差異は認められない（写真9, a, b）。

LDH 反応：中等度に **LDH** 反応を示す腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞は、弱陽性となり対照例に比べかなり低下している。しかしながら、介在部や線条部の導管上皮細胞は強陽性で変化はみられない。

腫瘍組織に接する部の終末部腺房細胞では、対照例および移植後1週例に比べ、**LDH** 反応は弱陽性で低下している。このような **LDH** 反応の低下している部は移植後1週例に比べ、さらにその範囲を増しているが、組織学的に、終末部腺房細胞の萎縮や核の濃縮などの退行性変化がみられる部とほぼ一致した範囲である。また、腫瘍組織から離れるにしたがい、終末部腺房細胞は弱陽性から中等度陽性と変化している。なお、介在部や線条部の導管上皮細胞では、腫瘍組織に接する部や、腫瘍組織から離れた部でも、ともに強陽性の反応を示し、対照例および移植後1週例と同様にその差は認められない（写真9, c）。

ACP 反応：増殖した腫瘍組織の先端部では、痕跡程度の反応を示している。また、腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞は強陽性で、対照例に比べ **ACP** 反応は強くなっている。しかしながら、介在部や線条部の導管上皮細胞は弱陽性で、対照例と同程度である。

腫瘍組織に接する部の終末部腺房細胞では、強陽性の反応で、対照例や移植後1週例に比べその反応は強度となっている。しかしながら、腫瘍組織から離れるにしたがって、**ACP** 反応は次第に低下し、対照例や移植後1週例と同程度の反応である。なお、介在部や線条部の導管上皮細胞では、**ACP** 反応が弱陽性で、対照例および移植後1週例に比べ差異はみられない（写真10, a）。

ALP 反応：顎下腺体内に増殖した腫瘍組織には全く反応が認められない。また、腺体全般にわたって、終末部腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞では、対照例や移植後1週例と同様に、**ALP** 反応は全く認められない。一方、腫瘍組織に囲繞された終末部の筋上皮細胞では、**ALP** 反応は弱陽性となり、対照例や移植後1週例に比べ著しく低下している。また、腫瘍組織に接する終末部の筋上皮細胞では、対照例や移植後1週例に比べ弱陽性と著しく低下し、その範囲も移植後1週例より広範囲となっている。さらに、腫瘍組織に接する腺体

写真9 移植後2週例

- a : **SDH** 反応（強拡大）、終末部腺房細胞は腫瘍組織（T）と接する部で、弱陽性に低下している。
- b : **SDH** 反応（弱拡大）、腫瘍組織から離れた部で、終末部腺房細胞は弱陽性に低下しているが、導管上皮細胞では、変化はみられない。
- c : **LDH** 反応（弱拡大）、腫瘍組織（T）と接する終末部腺房細胞は弱陽性に低下しているが、導管上皮細胞では、変化はみられない。

写真10 移植後2週例

- a : ACP 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部腺房細胞では, 強陽性に反応している.
 b : ALP 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部の筋上皮細胞は弱陽性に低下している.
 c : EST 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) と接する導管上皮細胞では, 中等度陽性に低下している.

部において, 組織学的に, 炎症性細胞の浸潤がみられる部にほぼ一致して, ALP 反応が強陽性となっている.

なお, 腫瘍組織から離れた部では, 対照例や移植後1週例と同様に, 終末部の筋上皮細胞の ALP 反応は強陽を示している (写真10, b).

EST 反応: 増殖した腫瘍組織の先端部では, 弱陽性に反応しているが, 腫瘍組織で囲繞された終末部の腺房細胞は弱陽性, 介在部や線条部の導管上皮細胞は中等度陽性となり, 対照例に比べ EST 反応は低下している.

腫瘍組織に接する終末部の腺房細胞では, 移植後1週例と同様に, 対照例に比べ弱陽性で, 反応が低下している. また, 介在部や線条部の導管上皮細胞でも同様に, 中等度の陽性と低下している. この EST 反応が低下した部は移植後1週例に比べ, その範囲を増している. なお, 腫瘍組織から離れた部では, EST 反応は対照例や移植後1週例と同様に変化は認められない (写真10, c).

V. 移植後3週例

A. 組織学的所見

VX2 癌組織は移植後2週例に比べ, さらに浸潤し, 腺体のほぼ $\frac{1}{2}$ から $\frac{3}{4}$ までに増殖している.

腫瘍先端に接する部では, 終末部腺房細胞や介在部および線条部の導管などが破壊され, 腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞には強度の萎縮, 変形, 核の濃縮がみられる. また, 介在部や線条部の導管上皮細胞も軽度

写真11 移植後3週例

- a : H・E 染色, 弱拡大, b : PAS 染色, 強拡大
 腫瘍組織 (T) の周辺では, 導管上皮細胞の萎縮, 管腔の変形がみられ, 著明な炎症性細胞の浸潤が認められる. また, 終末部腺房細胞では, PAS 陽性物質が著明に減少している.

に萎縮し, 核が濃縮している. なお, 導管腔は腫瘍組織に圧迫され, 狭窄し, 周囲の毛細血管では, 軽度の充血と拡張が認められる.

腫瘍組織に接した腺体部では, 移植後2週例でみられた炎症性細胞の浸潤が, さらに広範囲におよんでいる. 終末部の腺房細胞では, 移植後2週例に比べ, 細胞質に

強度の萎縮、変形が、核でも濃縮や変形がかなり強く認められる。また、これにともない PAS 陽性物質も対照例に比べ、著しく減少している。一方、介在部や線条部の導管上皮細胞では、細胞質が軽度に萎縮し、核では濃縮、変形などがわずかにみられる。また、導管腔の拡張や周囲毛細血管での充血、拡張が移植後2週例に比べ、さらに強度となり、その範囲も増している。

このような終末部腺房細胞や導管上皮細胞の細胞質における萎縮、変形、核の濃縮、変形などの退行性変化は腫瘍組織に近接する部位で、とくに強度にみられたが、腫瘍組織から離れるにしたがい徐々に軽減している。なお、移植後2週例に比べ、その範囲をさらに増している(写真11)。

B. 酵素組織化学的所見

SDH 反応：腫瘍組織の先端部では、痕跡程度の反応であったが、腫瘍組織に囲繞された終末部腺房細胞でも痕跡程度の反応で、腫瘍組織との差は認められない。また、介在部や線条部の導管上皮細胞も弱陽性で、対照例における SDH 反応と比べ著しく低下している。

腫瘍組織に接する終末部の腺房細胞は全般にわたって弱陽性で、対照例に比べ反応は著しく弱く、移植後1週、

2週例に比べ、さらに低下している。とくに、腫瘍組織に直接接している部では、反応が著しく低下している。また、介在部や線条部の導管上皮細胞では、SDH 反応が弱陽性で、対照例と比べ著しく低下し、移植後2週例よりもさらに低下している。このように移植後3週例では、SDH 反応が移植後1週、2週例に比べ、さらに低下し、広範囲におよんでいる。しかしながら、腫瘍組織から離れるにしたがい、SDH 反応は徐々に強くなっている。

以上のように、SDH 反応が低下している部では、組織学的に、終末部の腺房細胞および介在部や線条部での細胞質の萎縮、変形、核の濃縮などの退行性変化がみられる部とほぼ一致している(写真12, a)。

LDH 反応：腫瘍組織の先端部では、LDH 反応は中等度陽性を示しているが、腫瘍組織に囲繞された終末部腺房細胞では、反応が痕跡程度で、対照例に比べ、著しく低下している。また、腫瘍組織に囲繞された介在部や線条部の導管上皮細胞では、LDH 反応は中等度陽性で、対照例に比べわずかに低下している。

腫瘍組織に接する終末部腺房細胞の LDH 反応は移植後2週例と同様に弱陽性で、対照例に比べ低下してい

写真12 移植後3週例

- a : SDH 反応 (強拡大), 腫瘍組織 (T) と直接接する終末部腺房細胞, 導管上皮細胞は対照例に比べ著しく低下している。
- b : LDH 反応 (強拡大), 腫瘍組織 (T) と直接接する終末部腺房細胞は弱陽性ないしは痕跡程度, 導管上皮細胞は中等度陽性にそれぞれ低下している。
- c : LDH 反応 (強拡大), 腫瘍組織から離れた部で, 終末部腺房細胞は中等度陽性で軽度に低下している。

る。腫瘍組織に直接接する部でも、弱陽性ないし痕跡程度の LDH 反応を示し、対照例に比べ著しく低下している。また、介在部や線条部の導管上皮細胞の LDH 反応は強陽性ないし中等度陽性で、対照例、移植後 1 週、2 週例に比べ、いくぶん反応が低下している。このような LDH 反応の低下は腫瘍組織に接する腺体部で最も著しく、腫瘍組織から離れるにしたがって、徐々にその反応は強くなっている。また、その範囲は移植後 2 週例よりもさらに広範囲となり、腺体辺縁部の一部を残すのみとなっている。おな、LDH 反応が低下している部は組織学的に、終末部腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞における細胞質の萎縮、変形、核の濃縮などの退行性変化がみられる部とほぼ一致している (写真 12, b, c)。

ACP 反応：痕跡程度に反応を示す腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞では、強陽性で、対照例に比べその反応は強く、これに反し介在部や線条部の導管上皮細胞では、痕跡程度の ACP 反応がみられ、対照例に比べその反応は低下している。

腫瘍組織に接する終末部の腺房細胞は中等度ないしは強陽性に反応し、移植後 2 週例とほぼ同程度である。ま

た、腫瘍組織に直接接する部では、強陽性の ACP 反応がみられ、対照例に比べ強度である。しかしながら、腫瘍組織から離れるにしたがい、ACP 反応は徐々に低下し、対照例、移植後 1 週、2 週例でみられた中等度陽性とはほぼ同様な反応である。一方、介在部や線条部の導管上皮細胞では、全般的に対照例と同様な弱陽性の ACP 反応を示しているが、とくに腫瘍組織に近接あるいは直接接する部では、痕跡程度の反応で、低下している (写真 13, a)。

ALP 反応：終末部腺房細胞、介在部および線条部の導管上皮細胞は対照例、移植後 1 週、2 週例と同様に、腺体全般にわたって ALP 反応は認められない。しかしながら、腫瘍組織に囲繞された終末部の筋上皮細胞は弱陽性ないしは痕跡程度の ALP 反応を示し、対照例における終末部の筋上皮細胞の反応に比べて、著しく低下している。一方、腫瘍組織に接する終末部の筋上皮細胞は ALP 反応が弱陽性で、移植後 2 週例と同程度であるが、その範囲はさらに広がっている。また、腫瘍組織から離れるにしたがい、ALP 反応は徐々に強くなり、腺体辺縁部では強陽性で、対照例と同程度である。なお、この部では組織学的に炎症性細胞浸潤が強く、強陽

写真 13 移植後 3 週例

- a : ACP 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) に囲繞された部または接した部の終末部腺房細胞は強陽性に反応している。
- b : ALP 反応 (弱拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部の筋上皮細胞は弱陽性に低下している。また、炎症性細胞浸潤とほぼ一致して強陽性反応が認められる。
- c : EST 反応 (強拡大), 腫瘍組織 (T) と接する終末部腺房細胞は弱陽性、導管上皮細胞は中等度陽性にそれぞれ低下している。

性反応を示す部と一致している（写真13, b）。

EST 反応：腫瘍組織の先端部は弱陽性であるが、腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞は痕跡程度に反応し、対照例に比べ著しく低下している。しかしながら、介在部や線条部の導管上皮細胞では、中等度の反応がみられ、移植後2週例と同様に、対照例に比べ低下している。

腫瘍組織に接する部から腺体辺縁部までは **EST** 反応は全般的に弱陽性で、対照例に比べ軽度の低下がみられる。また、腫瘍組織に直接接する部で、その反応は痕跡程度で、対照例に比べ、著しく低下している。さらに、移植後1週、2週例に比べ、反応はいくぶん低下しており、その範囲も広がっている。一方、介在部や線条部の導管上皮細胞では、とくに、腫瘍組織に直接接する部で、**EST** 反応は中等度陽性と低下しているが、他の部では、移植後1週、2週例とほぼ同程度である。なお、**EST** 反応が低下している範囲は組織学的に、終末部腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞における細胞質の萎縮、変形、核の濃縮などの退行性変化の示す部とほぼ一致している（写真13, c）。

Ⅶ. 移植後4週例

A. 組織学的所見

VX2 癌組織は移植後3週例に比べ、さらに浸潤し、顎下腺のほぼ5%程度を占めるまでに増殖している。したがって、顎下腺組織はわずかに残っているにすぎない。

腫瘍組織の先端部では、終末部の腺房細胞が囲繞または破壊され、囲繞された終末部の腺房細胞は著しく萎縮、変形し、融解もみられる。核では濃縮、変形、融解、消失しものも多くみられる。腫瘍組織に囲繞された介在部や線条部の導管上皮細胞は強度に萎縮し、核も濃縮、変形している。また、導管腔は著しく狭小化している。

なお、残存した顎下腺組織内には、全般的に炎症性細胞の浸潤が中等度にみられ、終末部の腺房細胞は著しく萎縮、変形し、核も濃縮している。また、**PAS** 陽性物質も著しく減少し、わずかに散見されるにすぎない。

一方、介在部や線条部の導管上皮細胞では、終末部腺房細胞でみられたような退行性変化はなく、移植後3週例と同様に、介在部や線条部の導管上皮細胞の萎縮、核の濃縮が軽度にもみられ、導管腔の拡張さらには導管周囲の毛細血管で、中等度の充血と拡張がみられる。

以上のような所見は残存顎下腺組織の全般にわたってみられるが、とくに、腫瘍組織に直接に接する部では強度である（写真14）。

B. 酵素組織化学的所見

写真14 移植後4週例

a : H・E 染色，強拡大，b : PAS 染色，強拡大
終末部の腺房細胞は強度の退行性変化を示し、**PAS** 陽性物質も著明に減少している。

SDH 反応：腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞では、陰性ないしは痕跡程度の反応で、対照例と比べ、反応は著しく低下している。また、介在部や線条部の導管上皮細胞は弱陽性で、対照例に比べ反応は低下している。

残存した顎下腺の終末部腺房細胞は全般的に痕跡程度の **SDH** 反応を示し、対照例に比べ著しく低下している。とくに、腫瘍組織と直接に接する部では、終末部腺房細胞に **SDH** 反応が認められないものが多数みられる。一方、介在部や線条部の導管上皮細胞は全般的に中等の **SDH** 反応を示し、対照例や移植後1週、2週、3週例と比べ、さらに低下しているが、とくに、腫瘍組織と直接に接する部での **SDH** 反応は弱陽性で、対照例に比べ著しく低下している（写真15, a）。

LDH 反応：腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞は対照例に比べ、反応は著しく低下し、陰性ないしは痕跡程度の反応である。また、介在部や線条部の導管上皮細胞でも対照例と比べ、**LDH** 反応が低下し、中等度陽性である。

残存した顎下腺終末部の腺房細胞は全般的に弱陽性の **LDH** 反応であるが、対照例と比べ著しく低下している。また、移植後3週例に比べ、さらに反応が低下し、腫瘍組織と直接に接する部では、痕跡程度へと反応が低下しているものも認められる。一方、介在部や線条部の導管上皮細胞では、**LDH** 反応の低下は軽度で、腫瘍組織と直接に接する部でも反応は低下しているが、中等度陽性である。

以上のように **LDH** 反応の低下は終末部腺房細胞およ

び介在部や線条部における細胞質の萎縮や変形、核の濃縮をはじめとする退行性変化とほぼ一致しているが、導管上皮細胞における LDH 反応の低下は、組織学的な退行性変化に比べ軽度である (写真15, b)。

ACP 反応：腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞は中等度陽性ないし弱陽性の反応で、対照例と比べ著しく低下している。また、介在部や線条部の導管上皮細胞でも痕跡程度の反応である。

残存した終末部腺房細胞の **ACP** 反応は全般的に中等度陽性で、対照例とさほどの変化は認められないが、腫瘍組織に直接に接する部では、強陽性の **ACP** 反応を示すものが多くみられる。一方、介在部や線条部の導管上皮細胞では、全般的に対照例とほぼ同程度の **ACP** 反応である。なお、移植後3週例と同様に腫瘍組織と直接に接する部では痕跡程度の反応である (写真15, c)。

ALP 反応：残存顎下組織の終末部腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞では、**ALP** 反応は全く認められない。

腫瘍組織に囲繞された終末部の筋上皮細胞では、対照例に比べ、反応が著しく低下し、痕跡程度の反応である。一方、残存した顎下腺組織の終末部における筋上皮

細胞は、全般的に弱陽性で、対照例に比べ著しく低下している。とくに、腫瘍組織と直接に接する部では、痕跡程度の反応である。なお、組織学的に、炎症性細胞の浸潤の程度にほぼ一致して、強陽性ないしは中等度陽性に反応がみられる (写真16, a)。

EST 反応：腫瘍組織に囲繞された終末部の腺房細胞は陰性もしくは痕跡程度で、介在部や線条部の導管上皮細胞でも痕跡程度または弱陽性とそれぞれ対照例に比べ、**EST** 反応は低下している。

残存した顎下腺組織の終末部腺房細胞は全般的に痕跡程度の反応で低下し、移植後3週例よりもさらに反応は低下している。また、腫瘍組織と直接に接する部では、**EST** 反応が認められないところもみられる。一方、介在部や線条部の導管上皮細胞でも全般的に **EST** 反応は弱陽性で、対照例に比べ著しく低下している。また、移植後3週例に比べさらに低下している (写真16, b, c)。

総括ならびに考察

悪性腫瘍の治療は早期診断、早期治療が最善とされており^{10, 19, 47)}、口腔癌の治療についても論をまたない。しかしながら、口腔癌が比較的早期に、周囲軟組織や顎

写真15 移植後4週例

- a : SDH 反応 (弱拡大), 全般的に終末部腺房細胞は痕跡程度, 導管上皮細胞は中等度陽性で、対照例に比べ著しく低下している。
- b : LDH 反応 (弱拡大), 全般的に終末部腺房細胞は弱陽性に低下しているが、導管上皮細胞では、反応の低下は軽度である (T : 腫瘍組織)。
- c : ACP 反応 (強拡大), 腫瘍組織 (T) に囲繞された終末部腺房細胞は弱陽性, 導管上皮細胞は痕跡程度にそれぞれ低下している。

写真16 移植後4週例

- a : ALP 反応 (弱拡大), 全般的に終末部の筋上皮細胞は弱陽性で, 対照例に比べ著しく低下している.
- b : EST 反応 (弱拡大), 全般的に終末部腺房細胞は痕跡程度, 導管上皮細胞は弱陽性で, 対照例に比べ著しく低下している.
- c : EST 反応 (強拡大), 腫瘍組織 (T) に囲繞された導管上皮細胞は痕跡程度にまで低下している.

骨を浸潤することは周知のことである¹⁻⁸⁾. とくに, 顎・口腔領域では歯肉, 頬, 舌, 顎骨, 唾液腺など, それぞれ解剖学的, 組織学的に異なった構造を呈しているため, その浸潤, 発育様式も多種多様である³⁻¹¹⁾. 一方, 口腔という特殊性から, 治療後における形態および機能の保持という重要な問題が残され, 治療後の障害をできるだけ回避した適切な治療法が望まれる. したがって, 早期に発見し, 外科的療法, 放射線療法, 化学療法を組合せた集学的治療が実施されているのが現状である¹²⁻²⁰⁾. より効果的な治療を実施するためには口腔癌の増殖態度や, それに対応する正常組織の変化について, 十分な把握が肝要である. ちなみに, Jakobsson ら (1973)⁴⁸⁾, Willén ら (1975)⁴⁹⁾ らが口腔癌について, 腫瘍実質因子のみならず, 腫瘍周辺部における腫瘍-宿主関連因子をも十分に考慮した検討の必要性を示唆している.

このような観点から, これまでに口腔癌モデルを用いた研究が種々と報告されているが, これらの研究はおおむね発癌物質を用いた研究^{21, 23-26, 29, 31, 33-35, 37)}と移植腫瘍を用いた研究^{22, 27, 28, 30, 32, 36, 38-40)}とに大別される. このうち, 唾液腺と腫瘍に関する研究では,

発癌物質や移植腫瘍を用いた病理組織学的な研究^{21-24, 27, 29, 31-35, 37, 39)}が主で, 対応する唾液腺組織の変化を酵素組織化学的に検索した報告は少なく, わずかに Sugimura ら (1966)²⁵⁾ がマウス耳下腺で, Matsumura (1966)²⁶⁾ がマウスの顎下腺, 舌下腺で, 発癌物質による研究をみるにすぎない. また, 唾液腺へ可移植性腫瘍を移植し, 増殖状況を研究したものとしては島田 (1960)²²⁾, 川勝ら (1969)²⁷⁾, 中村 (1984)³⁹⁾ らの報告が散見されるが, 増殖にともなう唾液腺組織の対応を酵素組織化学的に検索した報告は著者の渉猟しえた範囲内では見当たらない. そこで, 著者は正常家兎の顎下腺に, ヒトの口腔癌で最も多い扁平上皮癌に類似した組織型を有する VX2 癌^{30, 39-42)} を移植し, 腫瘍の増殖にともなう顎下腺組織の態度を病理組織学的ならびに酵素組織化学的に検索した.

本実験に使用した VX2 癌は Rous ら (1940)⁴²⁾ によって確立された可移植性腫瘍⁴¹⁾ で, 当教室において累代移植されているものである.

研究の対象とした酵素は酸化還元酵素として SDH, LDH を, また, 加水分解酵素として ACP, ALP, EST である. これらの酵素は細胞の生物活性にきわめ

で深い関係をもつ酵素で、その局在性や消長等を検索することは、唾液腺における腺分泌ならびに各細胞で行われている種々な代謝機構の一端を知り得るものとされている⁵⁰⁻⁵³⁾。

SDH, LDH はともに酸化環元酵素として、それぞれ好氣的あるいは嫌氣的エネルギー代謝に関与し^{50, 52, 54)}、とくに SDH はミトコンドリアの標識酵素とされている^{50, 51, 53-61)}。正常家兎唾液腺における SDH 反応は、終末部の腺房細胞では、弱陽性ないし中等度陽性に、導管上皮細胞で、強陽性反応を示すとされている^{51, 52, 55, 57, 60, 61)}。また、LDH 反応は、終末部の腺房細胞、導管上皮細胞ともに強陽性反応を示すことも知られている^{51, 52)}。これらの知見は本実験における対照例での所見と一致していた。

これまでの唾液腺を対象とした酵素反応の研究には、ラット、イヌ、家兎などで耳下腺、顎下腺、舌下腺などの排泄管の結紮実験や流出障害に関する実験が多い^{50, 51, 53, 54, 59, 62)}。芝 (1967)⁵⁰⁾はラット顎下腺および舌下腺の排出管を結紮し、終末部腺房細胞の萎縮や、導管の拡張を認め、その変化に対応して SDH 反応も漸次低下していたが、とくに拡張した導管で著明であったと報告している。園部 (1978)⁵¹⁾は家兎耳下腺の排泄管結紮による SDH, LDH, ACP 反応の変化を検索し、結紮後 7 日目より終末部腺房細胞の萎縮、腺腔の拡張、導管の拡張などを認め、腺腔に拡張がみられる小葉辺縁部で SDH, LDH 反応がとくに低下していたと報告している。また、橋本 (1986)⁵⁴⁾はイヌ顎下腺に流出障害を起こさせ、終末部腺房細胞の萎縮や、拡張した導管で、SDH, LDH 反応が低下したと報告している。さらに、黒川 (1982)⁵²⁾は家兎耳下腺におよぼす制癌剤の影響を検索し、組織学的な退行性変化にともない、SDH, LDH 反応の低下を報告し、機能低下を示唆している。以上のような諸家の報告^{50-52, 54)}では、組織学的な退行性変化と SDH, LDH 反応の低下、さらに機能の低下という面で一致している。

本実験では、移植腫瘍の浸潤、増殖にともなう顎下腺組織の変化を病理組織学的、酵素組織化学的に検索したが、腫瘍組織に囲繞された部や直接接する部の顎下腺組織では、終末部腺房細胞で増殖にともない経過的に SDH, LDH 反応が低下したのに対し、介在部や線条部の導管上皮細胞では、SDH, LDH 反応は軽度な低下であったが、対照例や腫瘍組織から離れた部に比べ、かなり低下していた。以上のような導管上皮細胞における両反応の低下については、芝 (1967)⁵⁰⁾が排出管結紮実験

より、導管上皮細胞は内腔から圧迫を受け、ミトコンドリアの配列不整や疎散がみられ、ミトコンドリアを代謝の場とする酸化酵素の障害によると報告している。また、橋本 (1986)⁵⁴⁾も流出障害により分泌液過剰となり、終末部腺房や導管に水分が増加し、酸素供給が不足するため、ミトコンドリアに膨化をきたし、SDH 反応が低下したと報告している。

本実験における導管上皮細胞の SDH 反応の低下は実験方法にもよるが、組織学的に、腫瘍組織が直接に導管上皮細胞を浸潤、増殖していなかったことから、排泄管結紮による流出障害に起因するほどの著明な低下は認められないものの、腫瘍組織から離れた部の反応、対照例の反応などから考慮すれば、過剰分泌による影響も十分考えられる。また、終末部腺房細胞に比べ、導管上皮細胞の構造上の抵抗性などもその一因とした差異とも考えられる。ちなみに、武田ら (1981)⁶³⁾の唾液腺の変性および破壊機転に対し、終末部腺房細胞の強い抵抗性を指摘した報告もみられる。また、中村 (1984)³⁹⁾も VX2 癌組織の浸潤に対する導管上皮細胞の抵抗性を報告している。

一方、終末部腺房細胞における SDH, LDH 反応の低下については、本実験では、組織学的な構造上の問題、さらには分泌物の貯留による代謝機能の障害も否定できないが、腫瘍組織に囲繞された部、直接接した部、PAS 陽性物質が減少した部さらに遠隔の健康部などの所見から、腫瘍組織の終末部腺房細胞への浸潤、破壊によるものと考えられる。このことは、移植後 4 週例では、腫瘍組織の浸潤、増殖により唾液腺組織はほとんど破壊され、壊死となり、わずかに残すのみとなっていたが、SDH, LDH 反応が著しく低下していたことより、腫瘍組織の直接的影響と考えられる。

一方、加水分解酵素としての ACP, ALP, EST は細胞の代謝機構に重要な酵素である。とくに、ACP はライソゾームの標識酵素とされている^{51, 53, 54, 64-68)}。正常家兎唾液腺における ACP 反応の検索では、終末部腺房細胞で強陽性反応を示し、導管上皮細胞は中等度ないしは弱陽性反応を示すと報告されている^{51, 60, 69, 70)}。また、ALP 反応については筋上皮細胞で強陽性反応がみられ、終末部腺房細胞や導管上皮細胞では、全く反応が示されないことも報告されている^{60, 61, 71, 72)}さらに EST 反応は導管上皮細胞にきわめて強い反応を示すが、終末部腺房細胞では、中等度の陽性反応といわれている^{61, 70)}。これらの所見は、本実験でも対照例の ACP, ALP, EST 反応において、同様な所見であっ

た。ACP 反応の変化について、園部 (1978)⁵¹⁾ は耳下腺の排泄管結紮実験で、終末部腺房細胞では、反応の低下がみられたが、導管上皮細胞では、結紮期間が長期にわたっても反応の低下は認められなかったと報告している。また、北島 (1960)⁶²⁾ はラット顎下腺および舌下腺の排出管の結紮で、終末部腺房細胞の ACP 反応の著明な低下を報告している。さらに、浅野 (1986)⁵³⁾ もラット顎下腺導管を結紮したところ、終末部腺房細胞や線条部の導管上皮細胞で、ACP 反応が低下あるいは消失したと報告している。しかしながら、橋本 (1986)⁵⁴⁾ はイヌ顎下腺で流出障害を起こさせ、導管上皮細胞では、しだいに ACP 反応は低下したが、終末部腺房細胞では、いったん反応は低下したものの、再び反応の上昇を認め、とくに、変性、萎縮、壊死のみられる部にきわめて強い ACP 反応がみられたと報告している。さらに橋本 (1986)⁵⁴⁾ は反応の低下の原因について、流出障害では、排泄管の閉塞が完全でないため、少量の唾液の流出を認め、そのため、いったん減少した反応が再び細胞の生活力を増し、一時的に反応が亢進したためではないかと報告している。

本実験では、終末部腺房細胞の萎縮、変形がみられる部で、強陽性反応がみられたことから、橋本 (1986)⁵⁴⁾ の報告と一致する。しかしながら、本実験では、とくに、腫瘍組織に囲繞された部や、腫瘍組織と直接接している部で、しかも萎縮、変形などが強度で、PAS 陽性物質が減少した部において反応が強いことから、終末部腺房細胞の生活力が増したとは考えられない。また、ACP がライソゾームの標識酵素であることから^{51), 53), 54), 64)~68)}、ライソゾームの機能について、倉橋 (1970)⁶⁶⁾ は細胞内における外来異物の消化作用と、不要化した細胞質の部分的自己消化を報告している。さらに、本川 (1978)⁶⁷⁾ も変性した味蕾細胞内に強い ACP 反応を認め、変性した味蕾細胞内には、不要化した細胞小器官を吸収除去するための自己消化の役割をもつライソゾームの増加を指摘し、倉橋 (1970)⁶⁶⁾ と同様な見解を報告している。したがって、本実験における ACP 反応の増強は腫瘍組織の増殖により、終末部腺房細胞が強度の退行性変化を起こして、破壊され、倉橋 (1970)⁶⁶⁾、本川 (1978)⁶⁷⁾ らの見解、すなわち細胞内における自己消化のためのライソゾームの増加と考えられる。なお、移植後 4 週例では、腫瘍組織に囲繞された終末部腺房細胞で、反応の低下が認められたが、これはライソゾームが不要化となった細胞小器官を完全に自己消化した結果にもとづくもので、対照例とほぼ同程度にまで低下したと

考えられる。一方、導管部における ACP 反応については、園部 (1978)⁵¹⁾ が耳下腺排泄管結紮後、徐々に増強したと報告しているが、浅野 (1986)⁵³⁾ は結紮後、1 日目で線条部導管上皮細胞の反応は完全に消失したといい、橋本 (1986)⁵⁴⁾ も流出障害を起こさせた後、しだいに反応は低下したと報告している。このように、導管上皮細胞における ACP 反応の所見には異なった見解がみられる。本実験では、腫瘍組織に囲繞された部や、腫瘍組織と直接接した部の導管上皮細胞では、軽度な反応の低下がみられた。なお、この部位では、組織学的に導管上皮細胞に、腫瘍組織による直接の浸潤、増殖がみられないことから、導管上皮細胞の抵抗性^{39), 63)}などを考慮すれば、導管上皮細胞では、ライソゾームによる自己消化というよりはむしろ退行性変化にともなう機能減退によるライソゾームの減少が、反応の低下に関与しているものではなかろうかと推察される。

加水分解酵素である ALP, EST の変化については、北島 (1960)⁶²⁾ がラット顎下腺、舌下腺の排出管結紮後、終末部腺房細胞は 2 日目には萎縮、壊死を起こし、それによってもって、終末部の筋上皮細胞の ALP 反応、腺房細胞の EST 反応が著明に減弱したと報告している。また、浅野 (1986)⁵³⁾ もラット顎下腺導管結紮後、3~6 時間で筋上皮細胞の ALP 反応は急速に低下し、結紮後 1 日目で反応はほとんど消失していたと報告している。しかしながら、芝 (1967)⁵⁰⁾ はラット顎下腺および舌下腺の排出管結紮後、終末部腺房細胞が明らかに縮小し、筋上皮細胞の網眼状構造は不明瞭となったが、ALP 反応に低下をみなかったと報告している。また、橋本 (1986)⁵⁴⁾ も流出障害を起こさせた後では、筋上皮細胞には多少の変動がみられるものの、強い反応を維持していたと報告している。本実験では、腫瘍組織に囲繞された部や、直接接した終末部では、筋上皮細胞における ALP 反応および腺房細胞での EST 反応は経過的に反応が低下し、さらに同部の導管上皮細胞でも EST 反応が経過的に低下していた。しかしながら、腫瘍組織から離れた部では、ALP, EST 反応ともにさほどの変化は認められなかった。ALP 反応の低下については、浅野 (1986)⁵³⁾ は導管結紮によって、筋上皮細胞の膜輸送機能に急速な変化を生じたためと報告している。また、橋本 (1986)⁵⁴⁾ は終末部腺房細胞の萎縮、消失により唾液分泌機能の低下と密接な関係があると報告している。本実験では、腫瘍組織に囲繞または直接接している部で、終末部の筋上皮細胞に反応の低下がみられたことは、終末部腺房細胞の萎縮により、筋上皮細胞の機能である分泌物を

腺腔内へ押し出す働き^{50, 54, 58, 64, 71, 73)}が失われたため、ALP 反応が低下したのではないかと考えられる。なお、腫瘍組織と離れた部では、終末部腺房細胞の萎縮がさほどではないため、対照例と同様に比較的強い反応がみられ、ALP 反応が終末部腺房細胞と密接な関係を有していることが示唆される。なお、本実験では、炎症性細胞浸潤がみられる部にほぼ一致して ALP 反応がみられたが、これは Monis ら (1960)⁷⁴⁾、川勝ら (1963)⁷⁵⁾、森 (1981)⁷⁶⁾らの見解と同様に、多核白血球、とくに好中球に起因しているものと思われる。

EST 反応の低下は、北島 (1960)⁶²⁾が萎縮、壊死した終末部腺房細胞で、著明な反応の低下を認めており、本実験でも退行性変化の強度な部、すなわち、腫瘍組織に囲繞された部や、腫瘍組織と直接接し、PAS 陽性物質の減少した終末部腺房細胞や同部の導管上皮細胞で、経過的な反応の低下を認め、その範囲も増していた。しかしながら、腫瘍組織から離れた導管上皮細胞では、比較的強い反応が認められた。

EST の生理的、機能的意義に関しては、まだ十分に解明されていない面もあるが、その機能の一つとして、細胞内での物質の運搬作用⁷⁷⁾が挙げられている。このことからすれば、本実験における EST 反応の低下は、腫瘍組織に囲繞された部や、直接接し、PAS 陽性物質の減少した終末部腺房細胞で著明であった。このことは、腫瘍組織により、顎下腺組織が直接的な浸潤、破壊を受け、細胞内での物質の運搬作用に影響をきたしたものと考えられる。また、導管上皮細胞でも腫瘍組織に囲繞された部や、直接接した部では、反応が低下していたが、腫瘍組織から離れた部では、比較的強い反応が維持されていることから、導管上皮細胞の抵抗性^{39, 63)}によるものと考えられる。このように EST 反応は組織学的な退行性変化とほぼ一致して低下していた。

以上の実験成績を総括すれば、VX2 癌組織の浸潤、増殖は顎下腺組織に形態学的な退行性変化を引き起こすのみならず、分泌物質の合成、排泄などの機能的な面にまで影響を与えるものと考えられる。さらに、終末部の腺房細胞や筋上皮細胞および導管上皮細胞の酵素反応に変化をきたし、顎下腺組織の代謝機構にまで影響を与えるものと考えられる。

結 論

著者は家兔の顎下腺に VX2 癌を移植し、腫瘍の増殖にともなう顎下腺組織の態度を病理組織学的ならびに酵素組織化学的に検索し、以下の結果を得た。

I. 組織学的所見

家兔の顎下腺に移植された VX2 癌組織は経過的に増殖、増大し、それにともない終末部腺房細胞の萎縮、変形、核の濃縮、変形、さらには介在部や線条部の導管上皮細胞の萎縮や核の濃縮などの退行性変化が認められた。また、これにともなって終末部腺房細胞の PAS 陽性物質も減少していた。さらに、これらの退行性変化は経過的にその範囲を増していた。

II. 酵素組織化学的所見

1. コハク酸脱水素酵素 (SDH) 反応：腫瘍組織の増殖にともない、周囲の顎下腺組織では、終末部腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞は徐々に反応が低下していた。以上の所見はとくに腫瘍組織と接する部で著明にみられ、組織学的に終末部腺房細胞や介在部および線条部の導管上皮細胞における細胞質の萎縮、変形、核の濃縮などの退行性変化の範囲とほぼ一致していた。

2. 乳酸脱水素酵素 (LDH) 反応：腫瘍組織に接する終末部腺房細胞では、腫瘍組織の増殖にともない、経過的に反応は徐々に低下し、組織学的に終末部腺房細胞の萎縮、変形や核の濃縮などの退行性変化の範囲とほぼ一致していた。しかしながら、腫瘍組織に接する介在部や線条部の導管上皮細胞では、移植後 3 週例より細胞質の萎縮、核の濃縮などの退行性変化とほぼ一致して、しだいに反応は低下していた。

3. 酸性フォスファターゼ (ACP) 反応：腫瘍組織に接する終末部腺房細胞の反応は移植後 2 週例よりしだいに増強し、組織学的に終末部腺房細胞の萎縮、変形、核の濃縮が強度な部とほぼ一致していた。しかしながら、介在部や線条部の導管上皮細胞では、細胞質の萎縮、核の濃縮などととも、移植後 3 週例よりしだいに反応は低下していた。

4. アルカリフォスファターゼ (ALP) 反応：腫瘍組織の増殖にともない、腫瘍組織に接する終末部の筋上皮細胞では、経過的に反応は徐々に低下し、組織学的に終末部腺房細胞の萎縮、変形、核の濃縮などの退行性変化の範囲とほぼ一致していた。

6. 非特異的エステラーゼ (EST) 反応：腫瘍組織の増殖にともない、腫瘍組織に接する終末部腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞の反応は経過的に徐々に低下し、組織学的に終末部腺房細胞および介在部や線条部の導管上皮細胞における細胞質の萎縮、変形、核の濃縮などの退行性変化の範囲とほぼ一致していた。

6. 以上のような酵素反応の変化は、腫瘍組織に囲まれた部や直接接する部の顎下腺組織において、とくに強

度となり、腫瘍組織から離れるにしたがい徐々に軽減していた。また、これらの変化は組織学的に終末的腺房細胞および介在部や線条部における細胞質の萎縮、変形、核の濃縮などの退行性変化とほぼ一致してみられた。

7. 以上の実験成績から、VX2癌組織の浸潤、増殖は顎下腺組織に形態学的な退行性変化を引き起こすのみならず、分泌物質の合成、排泄などの機能的な面にまで影響を与えるものと考えられる。さらに、終末部の腺房細胞や筋上皮細胞および導管上皮細胞の酵素反応に変化を招来し、顎下腺組織の代謝機構にまで影響を与えるもの

と推察される。

稿を終わるに臨み、本研究に終始御懇切なる御指導と御校閲を賜った恩師・梶山 稔教授に深甚なる感謝の意を表します。また、種々と御教示を戴いた講師・黒川英雄博士に感謝します。あわせて、本研究に御協力を戴いた教室各位に謝意を表わします。

本論文の要旨は第41回日本口腔科学会総会（昭和62年4月6日、東京）において発表した。

引用文献

- 1) 上野 正・岡 達・清水正嗣・小谷 朗・雨宮義弘：口腔癌の療法と予後に関する研究（第3報）下顎癌122例について。口病誌 28：432—444, 1961.
- 2) Hoyer, R.C., Herrold, K.M., Smith, R.R. and Thomas, L.B. : A clinicopathological study of epidermoid carcinoma of the head and neck. *Cancer* 15 : 741—749, 1962.
- 3) Cady, B. and Catlin, D. : Epidermoid carcinoma of the gum. A 20-year survey. *Cancer* 23 : 551—569, 1969.
- 4) Harrold, C.C. : Management of cancer of the floor of the mouth. *Am. J. Surg.* 122 : 487—495, 1971.
- 5) Barton, R.T. and Ucmakli, A. : Treatment of squamous cell carcinoma of the floor of the mouth. *Surg. Gynecol. Obstet.* 145 : 21—27, 1977.
- 6) 梶山 稔・大野彰彦・中尾元彦・河野博之・安藤信義：下顎歯肉癌の顎骨侵襲に関する研究。癌臨 24 : 4—10, 1978.
- 7) 富田喜内・戸塚靖則：口腔癌の下顎骨浸潤について。北海道歯誌 1 : 8—16, 1980.
- 8) 小浜源郁・山本悦秀・砂川 元：歯肉癌。歯科ジャーナル 14 : 663—676, 1981.
- 9) 鷺津邦雄：口腔癌の現況とその動向（上）—自験例を中心に—。歯界展望 47 : 357—367, 1976.
- 10) 鷺津邦雄：口腔癌の現況とその動向（下）—自験例を中心に—。歯界展望 47 : 511—522, 1976.
- 11) 出雲俊之：下顎歯肉扁平上皮癌における骨吸収像。口病誌 53 : 343—356, 1986.
- 12) 菅原克彦・長尾 桓：癌の集学療法。医学のあゆみ 121 : 1015—1025, 1982.
- 13) Bertino, J.R., Mosher, M.B. and DeConti, R.C. : Chemotherapy of cancer of the head and neck. *Cancer* 31 : 1141—1149, 1973.
- 14) Richard, J.M., Sancho, H., Lepintre, Y., Rodary, J. and Pierquin, B. : Intra-arterial methotrexate chemotherapy and telecobalt therapy in cancer of the oral cavity and oropharynx. *Cancer* 34 : 491—496, 1974.
- 15) 佐藤靖雄・高橋広臣：頭頸部腫瘍の治療。癌と化学療法 1 : 899—910, 1975.
- 16) Hollmann, K., Jesch, W., Kuehboeck, J. and Dimopoulos, J. : Combined intra-arterial chemotherapy and radiation therapy of tumours in the maxillofacial region. *J. Maxillofac. Surg.* 7 : 191—197, 1979.
- 17) Dhawan, I.K., Thakur, N.S., Madan, N.C., Bannerjee, A. and Sahoo, B.K. : Polychemotherapy in squamous cell carcinoma of buccal mucosa. *Cancer* 51 : 773—777, 1983.
- 18) Schmieder, A., Jacobs, H., Maurer, H. und Pfeifer, H. : Chemotherapie mit Cisplatin-Bleomycin und nachfolgende Strahlentherapie bei fortgeschrittenen Kopf-Hals-Tumoren. *Klin. Wochenschr.* 62 : 35—42, 1984.

- 19) 塩田重利・天笠光雄：口腔悪性腫瘍治療の現況—とくに舌癌を中心に—。医学のあゆみ 134 : 955—961, 1985.
- 20) 梶山 稔：口腔癌と化学療法—局所動脈内挿管注入療法について—。九州歯会誌 39 : 874—881, 1985.
- 21) Macchiarulo, O. und Buengeler, W. : Druch Teer, erzeugte eigenartige Veraenderungen der Parotisdruese. *Frankf. Z. Path.* 37 : 211—221, 1929.
- 22) 島田惣四郎：吉田肉腫を移植したラット顎下腺について。歯科医学 23 : 1503—1522, 1960.
- 23) 生田信孝：顎下腺における実験的腫瘍形成の研究。口病誌 28 : 373—386, 1961.
- 24) Shafer, W.G. : Experimental salivary gland tumorigenesis. *J. Dent. Res.* 41 : 117—124, 1962.
- 25) Sugimura, M and Kawakatsu, K. : Histochemical studies of enzymatic patterns during experimental carcinogenesis in the mouse parotid gland. *Arch. Oral Biol.* 11 : 1269—1291, 1966.
- 26) Matsumura, T. : Enzyme histochemistry of experimentally induced tumors in the mouse submaxillary and sublingual glands during carcinogenesis. *Gann* 57 : 251—263, 1966.
- 27) 川勝賢作・森 昌彦・杉村正仁・松村智弘・河野孝行・黒井 満・森下正明：ウサギ顎下腺に移植した VX2 Carcinoma の増殖態度について〔会〕。日口外誌 15 : 235—236, 1969.
- 28) 安藤龍男：上顎洞癌の増殖態度に関する実験的研究。九州歯会誌 25 : 183—203, 1971.
- 29) 中嶋 武：20-methylcholanthrene による唾液腺腫瘍の発生に関する実験的研究 とくに肉腫型腫瘍について。岩手医誌 25 : 572—588, 1973.
- 30) 杉村正仁・椿本雅宥・藤村英典・川勝賢作：家兎 VX2 Carcinoma 移植による上顎洞癌モデルについて。口科誌 22 : 380—393, 1973.
- 31) Kim, S., Spencer, H.H., Weatherbee, L. and Nasjleti, C.E. : Changes in secretory cells during early stages of experimental carcinogenesis in the rat submandibular gland. *Cancer Res.* 34 : 2172—2183, 1974.
- 32) 椿本雅宥：上顎洞に移植した VX2 担癌家兎における線溶・凝固系の変化と転移形成に関する研究。阪大歯学誌 19 : 6—18, 1974.
- 33) Englander, A. and Cataldo, E. : Experimental carcinogenesis in duct-artery ligated rat submandibular gland. *J. Dent. Res.* 55 : 229—234, 1976.
- 34) 塩田 覚・南 英治・角野博俊・小野尊睦：20-Methylcholanthrene による実験的口腔腫瘍に関する研究。京大口科紀要 17 : 1—9, 1977.
- 35) 塩田 覚・南 英治・吉武一貞・小野尊睦：実験的唾液腺腫瘍に関する研究。京大口科紀要 18 : 28—38, 1978.
- 36) 外山勤吾：VX2 癌移植による家兎舌癌の病理組織学的研究。九州歯会誌 32 : 340—356, 1978.
- 37) 河原和子・熊谷克彦・二階宏昌：7, 12-DMBA により誘発されたマウス顎下腺腫瘍—光顕的にみた病理組織像—。広大歯誌 11 : 115—124, 1979.
- 38) 杉浦正幸：口腔領域における移植腫瘍による浸潤発育様式の病理組織学的研究。口科誌 32 : 350—371, 1983.
- 39) 中村憲司：家兎の顎下腺における VX2 癌の増殖に関する 実験的研究。九州歯会誌 38 : 455—470, 1984.
- 40) 中尾彦彦：家兎骨肉瘤 (VX2 癌) の下顎骨侵襲に関する実験的研究 九州歯会誌 40 : 188—204, 1986.
- 41) Shope, R.E. : Infection's papillomatosis of rabbits with a note on the histopathology. *J. Exp. Med.* 58 : 607—610, 1933.
- 42) Kidd, J.G. and Rous, P. : A transplantable rabbit carcinoma orginating in a virus-induced papilloma and containing the virus in masked or altered form. *J. Exp. Med.* 71 : 813—849, 1940.
- 43) 佐野 豊：組織学研究法—理論と術式—。南山堂, 東京, 1965, 505—517.

- 44) Barka, T. and Anderson, P.J. : Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. *J. Histochem. Cytochem.* 10 : 741—753, 1962.
- 45) Watanabe, K. and Fishman, W.H. : Application of the stereospecific inhibitor L-phenylalanine to the enzymorphology of intestinal alkaline phosphatase. *J. Histochem. Cytochem.* 12 : 252—260, 1964.
- 46) Burstone, M.S. : Esterases. In: *Enzyme histochemistry and Its application in the study of neoplasms*. Academic Press, New York, 1962, 324—325.
- 47) 立花忠夫 : 口腔領域扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関する臨床的ならびに病理組織学的研究. 口病誌 52 : 521—544, 1985.
- 48) Jakobsson, P.Å., Eneroth, C.M., Killander, D., Moberger, G. and Mårtensson, B. : Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. *Acta Radiol.* 12 : 1—8, 1973.
- 49) Willén, R., Nathanson, A., Moberger, G. and Anneroth, G. : Squamous cell carcinoma of the gingiva. Histological classification and grading of malignancy. *Acta Otolaryngol.* 79 : 146—154, 1975.
- 50) 芝 良祐 : ラット顎下腺および舌下腺における排出管結紮の影響について. 阪大歯学誌 12 : 23—33, 1967.
- 51) 園部英俊 : 家兎耳下腺排泄管結紮に関する実験的研究—組織化学的検索. 日口外誌 24 : 1091—1107, 1978.
- 52) 黒川英雄 : 家兎耳下腺におよぼす制癌剤の影響に関する実験的研究. 九州歯会誌 36 : 1012—1033, 1982.
- 53) 浅野賢一 : 唾液腺導管結紮に関する実験的研究—病理学的, 組織化学的研究—. 口科誌 35 : 216—238, 1986.
- 54) 橋本建治 : 唾液の流出障害をおこさせたイヌ顎下腺の変化に関する組織化学的研究. 九州歯会誌 40 : 986—1004, 1986.
- 55) Hill, C.R. and Bourne, G.H. : The histochemistry and cytology of the salivary gland duct cells. *Acta Anat.* 20 : 116—128, 1954.
- 56) Scott, B.L. and Pease, D.C. : Electron microscopy of the salivary and lacrimal glands of the rat. *Am. J. Anat.* 104 : 115—161, 1959.
- 57) 川勝賢作・森 昌彦・福田道男・藤田訓也・保志信男 : 正常唾液腺の組織化学的研究 第Ⅰ報 コハク酸脱水素酵素の組織化学的証明. 阪大歯学誌 4 : 421—438, 1959.
- 58) Kawakatsu, K. and Mori, M. : Histochemical study of enzyme patterns in the human submaxillary gland. *Histochemie.* 2 : 393—401, 1962.
- 59) Handelman, C.S. and Wells, H. : Morphological and histochemical studies of experimentally enlarged and atrophied salivary glands of rats. *Am. J. Anat.* 112 : 65—79, 1963.
- 60) 森 昌彦 : 唾液腺導管の Enzyme Histochemistry とその微細構造. 細胞化学シンポジウム 13 : 339—351, 1963.
- 61) 川勝賢作・福田道男 : 組織化学とその現状 (その3) 唾液腺の組織化学. 歯界展望 22 : 273—279, 1963.
- 62) 北島光彦 : 排出管結紮唾液腺の組織学的ならびに組織化学的研究. 歯科医学 23 : 507—527, 1960.
- 63) 武田泰典・竹下信義・鈴木鍾美 : 顎下腺の萎縮性変化に関する病理組織学的研究検討〔会〕. 歯基礎誌 23 : 97, 1981.
- 64) Bogart, B.I. : The fine structural localization of alkaline and acid phosphatase activity in the rat submandibular gland. *J. Histochem. Cytochem.* 16 : 572—581, 1968.
- 65) 森下正明 : X線照射の実験腫瘍におよぼす影響に関する研究. 阪大歯学誌 13 : 139—149, 1968.
- 66) 倉橋和啓 : ライソゾームの機能. 細胞 2 : 14—25, 1970.
- 67) 本川 渉 : ラット舌乳頭味蕾のフォスファターゼに関する組織化学的研究. 九州歯会誌 31 : 574—596, 1978.

- 68) 馬屋原 宏 : Acid phosphatase. 新酵素組織化学 (小川和朗・他編). 朝倉書店, 東京, 1985, 298—314.
- 69) 川勝賢作・森 昌彦・藤田訓也・谷 孝夫 : 正常唾液腺の組織化学的研究 IV. Acid phosphatase の組織化学的証明. 日組録 19 : 473—481, 1960.
- 70) Chauncey, H.H. and Quintarelli, G. : Localization of acid phosphatase, nonspecific esterase and β -D-galactosidase in parotid and submaxillary glands of domestic and laboratory animals. *Am. J. Anat.* 108 : 263—293, 1961.
- 71) 川勝賢作・森 昌彦・藤田訓也・福田道男・川越輝盛 : 正常唾液腺の組織化学的研究 第Ⅲ報 Alkaline phosphatase の組織化学的証明. 阪大歯学誌 4 : 455—470, 1959.
- 72) 森 昌彦 : 口腔領域における組織化学. 日口外誌 9 : 207—229, 1963.
- 73) Shear, M. : The structure and function of myoepithelial cells in salivary glands. *Arch. Oral Biol.* 11 : 769—780, 1966.
- 74) Monis, B. and Rutenburg, A.M. : Alkaline phosphatase activity in neoplastic and inflammatory tissues of man. *Cancer* 13 : 538—544, 1960.
- 75) 川勝賢作・岡 隆一 : 組織化学とその現状 (その2) 口腔領域腫瘍の組織化学. 歯界展望 22 : 19—25, 1963.
- 76) 森 昌彦 : 組織化学的診断. 歯科ジャーナル 14 : 723—727, 1981.
- 77) Moul'e, Y. : Endoplasmic reticulum and microsomes of rat liver. In: *Cellular membranes in development* (ed. by Locke, M.). Academic Press, New York, 1964, 97—133.