家兎の舌創傷治癒におよぼす制癌剤の 影響についての組織化学的研究

九州歯科大学口腔外科学第二講座（指導：梶山 稔教授）

原 田 英 治

昭和63年10月14日受付

A Histochemical Study of the Effect of Anticancer Agents on Healing of Tongue Wounds in Domestic Rabbits

Eiji Harada

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

Chemotherapy, surgical therapy, and radiotherapy are the methods currently employed for treatment of oral cancer. For the oral cavity, however, extensive surgery and radiotherapy face considerable limitations because its anatomical complexity. Also, speedy healing of wounds is desirable and restoration of the morphology and functions must be achieved as early as possible.

It is therefore important in the postoperative chemotherapy to prevent local recurrence and metastasis by keeping the side effects of anticancer agents to a minimum and providing an extended administration of the agents.

Wounds were experimentally made in the tongue in domestic rabbits and the effect of anticancer agents (Bleomycin and Mitomycin C) on the healing process was investigated histopathologically and histochemically.

The results were as follows:

I. Histopathological findings

A. In Bleomycin group (3.0mg/kg/day), with increase in the number of administration, proliferation and maturity of epithelial cells, granulation tissues, and fibroblasts were retarded and healing of wounds in the epithelial layer in particular was retarded markedly.

B. In Mitomycin C group (0.5mg/kg/day), with increase in the number of administrations, epithelialization of the epithelial layer and proliferation and maturity of granulation tissues and fibroblasts under the epithelial layer were retarded.

II. Enzyme-histochemical findings

A. In Bleomycin group, along with the retardation of healing wounds in the epithelial layer, Lactate Dehydrogenase (LDH), Succinate Dehydrogenase (SDH), Alkaline Phosphatase (ALP), Acid Phosphatase (ACP) and Non-specific Esterase (EST) gradually

decreased in reaction. About in coincidence with the proliferation and maturity of granulation tissues and fibroblasts, LDH, ALP, ACP and EST decreased in reaction. SDH however did not show much change in reaction.

B. In Mitomycin C group, along with the retardation of proliferation and maturity of fibroblasts and granulation tissues, LDH, SDH, ALP, ACP and EST decreased in reaction. However, decrease in reaction of each enzyme in the new epithelial layer was relatively slight.

C. The foregoing changes in enzyme reactions were especially marked in the epithelial layer, granulation tissues, and the layer of fibroblasts, and the reactions increased with increase in the number of administration. In comparison with the control group, however, the reactions decreased markedly. Also, these changes about coincided with the histological retardation of healing wounds.

Ⅲ. On the basis of the foregoing experimental results, administration of Bleomycin and Mitomycin C in the healing process of tongue wounds not only retarded healing of wounds because of proliferation and maturity of epithelial cells and granulation tissues but also decreased enzyme reactions of oxidase and hydrolase. Their administration therefore was thought strongly affect the functions of mitochondria related with wound healing, maturity of collagen, metabolic mechanism of cells such as functions of lysosome.

Key words : *Anticancer agents (BLM, MMC) / Healing of tongue wound / Domestic rabbit / Enzyme histochemistry*

結 言

口腔癌に対する化学療法は外科的療法や放射線療法につぐ重要な治療法である¹⁻⁴⁾。とくに顎・口腔領域における拡大根治手術では組織欠損による形態的、機能的な障害も大きく、社会復帰に支障をきたす場合が多い^{3,4)}。これらの障害をできるだけ避け、術後における局所再発、遠隔臓器への転移を制御するためには、制癌剤療法がきわめて重要な役割を果たすことに異論をみない。

現在、市販されている制癌剤の多くは、癌細胞にのみ特異的に摂取されるものではなく、正常な細胞や組織にも作用して重篤な障害をきたす場合が多い³⁻¹⁴⁾。したがって、制癌剤による副作用を最少限にとどめ、腫瘍効果を高めるために種々な投与方法が行われている¹⁵⁻²⁵⁾。このうち、口腔癌の化学療法としては高濃度の制癌剤を局所の動脈を介して、持続注入する局所動注法が Kloop ら (1950)^{1,2)} によって案出されて以来、今日多くの臨床家によって試みられている¹⁸⁻²⁴⁾。一方、口腔癌の外科的処置では術後速やかな創傷の治癒が望まれ、機能の回復が待たれる。反面、高濃度の制癌剤が反復注入され

ているため、薬剤による創傷の治癒遅延をしばしば経験する。

以上のような観点からすれば、腫瘍—術創—薬剤などの相関関係を考慮した治療法が望まれる。これまでに口腔領域の正常組織に対する制癌剤の影響を検索したものは少なく、多部田 (1970)³⁾、山根 (1974)⁴⁾らがラットの口蓋粘膜で、立石 (1976)⁵⁾がラットの培養皮膚正常細胞で、藤 (1977)⁶⁾が家兎の舌乳頭で、さらに山崎 (1976)⁷⁾、中村 (1977)⁸⁾、重住 (1982)¹¹⁾、黒川 (1982)¹²⁾、野村 (1987)¹³⁾、桑原 (1987)¹⁴⁾らが家兎の唾液腺に対する影響を報告している。これに反し、創傷治癒に対する影響を検索したのものとしては山隈 (1980)⁹⁾が家兎の下顎骨創で、飯盛 (1981)¹⁰⁾が舌創で報告しているにすぎない。

著者は家兎の舌に作創し、治癒過程に対する制癌剤の影響を組織化学的に検索したので、その成績を報告する。

実 験 材 料

I. 実験動物

体重約 2.0kg 前後の成熟雑系雄性家兎を購入し、固

型飼料 (ORC-4, オリエンタル) および水道水を同一条件で投与し, 恒温条件下にて1~2週間飼育し, 十分環境に順応させたのち, 実験に使用した.

Ⅱ. 被検制癌剤

実験に使用した制癌剤は扁平上皮癌に著効し, 口腔癌の大多数が扁平上皮癌であることから, 口腔領域の悪性腫瘍に対する化学療法剤のうち, 最も使用頻度の高い **Bleomycin** (以下 **BLM** と略す) と広範囲抗癌スペクトラムを有し, 多剤併用療法における基剤ともなっている **Mitomycin C** (以下 **MMC** と略す) の2剤を選んだ.

実験方法

I. 舌創傷の作成

家兎にソムノペンチル(ピットマン・ムーア社, 米国)による全身麻酔を施し, 舌背面に2%キシロカインによる浸潤麻酔を行ったのち, 創傷を作成した. 作創の部位は舌正中溝より約5mm左側舌側縁に, 近遠心的には舌尖より約10mmのところから舌根部に向かって大きさ約15mm大の長方形に切開を入れ, 舌背粘膜上皮を切離, 除去して上皮欠損創を作成した(写真1).

Ⅱ. 被検制癌剤の投与方法

実験動物の種類, 体重および薬剤許容量, さらには実験における所見の誤差, 通常臨床での使用量などを十分に考慮して, **BLM**・3.0mg/kg/day を, また **MMC**・0.5mg/kg/day をそれぞれ耳静脈内へ連日 one shot で注入した. なお, 対照群にも同様な方法で生理的食塩水を注入した.

Ⅲ. 観察方法

BLM および **MMC** をそれぞれ所定回数投与したのち, ソムノペンチルの過量投与により薬殺した. ついで舌を摘出し, 10%ホルマリン水溶液中で固定し, 通法に従ってパラフィン包埋を施し, 10 μ の薄切連続切片を作製してヘマトキシリン・エオジン重染色を行い, 組織学的に観察した. また, 同時に一部は-20°Cのクリオスタットの室内で, OCT compound (Lab-Tek Products) で包埋し, 5~8 μ の新鮮凍結切片を作製し, 以下の方法により乳酸脱水素酵素・Lactate dehydrogenase (以下 **LDH** と略す), コハク酸脱水素酵素・Succinate dehydrogenase (以下 **SDH** と略す), アルカリフォスファターゼ・Alkaline phosphatase (以下 **ALP** と略す), 酸性フォスファターゼ・Acid phosphatase (以下 **ACP** と略す), 非特異的エステラーゼ・Non-specific esterase (以下 **EST** と略す) などを組織化学的に検索した.

写真1 家兎舌への作創

A. LDH 反応

佐野 (1965)²⁶⁾ 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・ゼラチンで封入した.

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 (pH 7.6)	20ml
250mg% Nitro Blue Tetrazolium chloride	6 ml
Aq. dest.	12ml

B. SDH 反応

佐野 (1965)²⁶⁾ 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・ゼラチンで封入した.

基質液:

0.1M Sodium succinate	30ml
0.1M Sørensen phosphate buffer (pH 7.6)	

.....24ml
 250mg% Nitro Blue Tetrazolium chloride
 6 ml
 100mg% Phenazine Methosulfate 2 ml

C. ALP 反応

Burstone の Watanabe ら (1964)²⁷⁾ 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・ゼラチンで封入した。

写真2 正常な家兎舌の組織学的ならびに組織化学的所見

- a : 上皮層は角化した重層扁平上皮(↑)により被われている。上皮層下には規則的に配列した結合組織が認められる(↑↑)。また, 筋層には筋線維が筋束をなしている(∩) (H・E 染色)。
- b : 上皮層(↑)は中等度陽性, 結合組織(↑↑)は中等度陽性, 筋層(∩)は強陽性に反応している (LDH 反応)。
- c : 上皮層(↑)は弱陽性, 結合組織(↑↑)は痕跡程度に反応し, 筋層(∩)は強陽性に反応している (SDH 反応)。
- d : 上皮層(↑)は中等度陽性, 結合組織(↑↑)や筋層(∩)ではほとんど反応がみられない (ALP 反応)。
- e : 上皮層(↑)は強陽性, 結合組織(↑↑)や筋層(∩)では弱陽性に反応している (ACP 反応)。
- f : 上皮層(↑)は強陽性に反応しているが, 結合組織(↑↑)や筋層(∩)に反応はみられない (EST 反応)。

基質液：

Naphthol AS-BI phosphoric acid.....10mg
0.05M 2-Amino-2-methyl-1,3-propanediol

(pH 9.8)20ml

Fast Blue RR Salt.....10mg

D. ACP 反応

Barka-Anderson (1962)²⁸⁾ 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・ゼラチンで封入した。

基質液：

A液 { Naphthol AS-BI phosphoric acid.....10mg
0.1M Acetate buffer.....10ml
Aq. dest.....8 ml

B液 Hexazonium pararosanilin.....1 ml

A液とB液を混和し、1N の NaOH で pH 5.0 に修正後、蒸留水で 20ml とする。

E. EST 反応

Burstone (1962)²⁹⁾ 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・ゼラチンで封入した。

基質液：

A液 { Naphthol AS-D acetate.....3 mg
N,N-Dimethylformamide.....0.5ml

B液 0.1M Tris buffer (pH 7.1)50ml

A液とB液を混和し、Fast Blue BB Salt 40mg を加える (写真 2)。

実験成績

I. 対照群 (生理的食塩水投与群) について

A. 5 回投与例

1. 一般組織所見

創面はいくぶん縮小し、創縁より中央に向かって数層の新生上皮が伸びているが、表面は炎症性細胞の集積するフィブリン沈着層に被われている。また、その直下には線維芽細胞の増殖もみられ、深部にまで炎症性細胞が浸潤している。深部の筋線維では浮腫、蛇行、離開などが

写真 3 対照群 5 回投与例

- a : 創面には炎症性細胞の浸潤がみられ、その直下には線維芽細胞の増殖がみられる (↑) (H・E 染色)。
- b : 創縁より形成された新生上皮細胞 (↑) は痕跡程度の反応がみられる。↑は周囲健康上皮を示す (LDH 反応)。
- c : 創縁より形成された新生上皮細胞 (↑) には反応がみられない。↑は周囲健康上皮を示す (SDH 反応)。

散見され、筋芽細胞の出現もみられる (写真3-a)。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

創周辺の健康上皮における有棘層、基底層では中等度陽性の反応がみられるが、創縁より形成された数層の新生上皮細胞での反応は弱く、痕跡程度の反応がみられる。また、新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層では痕跡程度の反応を示す部もみられるが、筋層は強陽性に反応している (写真3-b)。

b. SDH 反応

創周辺の健康上皮では、基底層が弱陽性に反応しているが、創縁より中央に向かって形成された新生上皮細胞では、一部にわずかな陽性反応がみられるが、他の大部分は陰性である。また、新生上皮層直下にみられる肉芽層や線維芽細胞層では反応は全く認められないが、筋層は強陽性である (写真3-c)。

c. ALP 反応

創周辺の健康上皮では、乳頭部に中等度の陽性反応が認められるが、形成された新生上皮細胞では反応がみられない。新生上皮層直下の肉芽層、線維芽細胞層では反応はみられず、炎症性細胞に強く反応している。なお、筋層では反応が全く認められない (写真4-a)。

d. ACP 反応

創周辺の健康上皮では、基底層が中等度ないし強陽性に反応しているが、創縁より形成された新生上皮細胞では反応が認められない。また、新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層では弱陽性に反応し、炎症性細胞では強陽性に反応している。なお、筋層では弱陽性に反応している (写真4-b)。

e. EST 反応

創周辺の健康上皮では、全体が強陽性に反応しているが、形成された新生上皮細胞では反応が認められない。新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層は中等度陽性に反応しているが、筋層ではその反応がみられない (写真4-c)。

B. 10回投与例

1. 一般組織所見

創面は周辺の健康上皮に比べ、やや薄い角化層を有する新生上皮層により被われているが、上皮突起の形成は不十分で細く、幅や長さなども不規則で、肉芽組織内へと伸展している。また、この新生上皮層直下には肉芽組織がみられ、不規則な線維芽細胞の増殖が認められるが、炎症性細胞の浸潤は軽度である。なお、筋層では多数の

写真4 対照群5回投与例

- a: 創面の炎症性細胞は強陽性に反応している(↑)。↑は周囲健康上皮を示す (ALP 反応)。
- b: 創面直下の肉芽層や線維芽細胞は弱陽性に反応している(↑)。↑は周囲健康上皮を示す (ACP 反応)。
- c: 創縁近くの肉芽層や線維芽細胞層は中等度陽性に反応している(↑)。↑は周囲健康上皮を示す (EST 反応)。

肥大した筋芽細胞が創面に向かって錯走している（写真5-a）。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

新生上皮層では、不規則に形成された上皮突起の有棘層や基底層が弱陽性に反応している。この反応は5回投与例よりも強いが、周囲の健康上皮に比較すれば反応は弱い。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層は弱陽性に反応しているが、5回投与例に比べその範囲は狭い。なお、その下層には強陽性を示す筋層がみられる（写真5-b）。

b. SDH 反応

新生上皮層のSDH反応は痕跡程度で、5回投与例とほぼ同程度であるが、周囲の健康上皮における反応と比べ、その反応は弱い。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層は5回投与例と同様に反応は全く認められない。筋層では5回投与例と同様に強陽性に反応し、変化はみられない（写真5-c）。

c. ALP 反応

新生上皮層では、周囲の健康上皮に比べ反応は弱く、痕跡程度である。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層では、反応はほとんどみられず、炎症性細胞でも5回投与例に比べ、反応は弱く、中等度陽性である。なお、筋

層では5回投与例と同様に反応は認められない。

d. ACP 反応

新生上皮層では5回投与例に比べて反応は弱く、痕跡程度の反応である。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層では5回投与例に比べ、痕跡程度にまで反応は低下し、炎症性細胞は中等度陽性である。筋層では5回投与例と同様に、弱陽性の反応である。

e. EST 反応

新生上皮層では5回投与例に比べ、反応は弱く痕跡程度で、周囲の健康上皮部に比較すれば反応に著しい差がみられる。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層は5回投与例に比べ反応はさらに低下し、弱陽性である。なお、筋層では5回投与例と同様に反応が認められない（写真5-d）。

C. 15回投与例

1. 一般組織所見

新生上皮は健康上皮とほぼ同程度の厚さとなり、上皮突起は10回投与例よりもさらに延長、肥大しているが、その形態や大きさは不規則である。新生上皮層直下の幼若な肉芽組織は10回投与例よりもさらに少ないが、線維成分に富み、配列もかなり規則的となり、上皮基底部に対し、おおむね直角方向に配列している。なお、下方の筋層では細い筋線維が筋束をなして認められる（写真6

写真5 対照群10回投与例

- a：創面は周囲健康上皮(↑)に比べ、やや薄い角化層を有する新生上皮(↗)により被われている（H・E 染色）。
- b：新生上皮層では有棘層や基底層が弱陽性に反応している(↗)（LDH 反応）。
- c：新生上皮は痕跡程度に反応している(↗)。↑は周囲健康上皮を示す（SDH 反応）。
- d：新生上皮層(↗)は周囲健康上皮(↑)に比べ、反応が弱い（EST 反応）。

- a) .

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

形成された新生上皮層の上皮突起は不規則であるが、有棘層と基底層では10回投与例に比べ、さらに反応は強く中等度に反応し、健康上皮の基底部とほぼ同程度になっている。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層での反応は10回投与例よりも強く、中等度陽性で、周囲健康部における上皮の反応とほぼ同程度であるが、その範囲はさらに狭くなっている。なお、筋層は強陽性に反応しているが、5, 10回投与例に比べ変化はない (写真6-b)。

b. SDH 反応

周囲健康上皮に比べ、形成された新生上皮層では、とくに創縁で中等度に反応しているが、大部分は10回投与例に比べ反応が強くなり、弱陽性で、周囲の健康上皮での反応とほぼ同程度になっている。しかしながら、健康上皮における錯角化層や基底細胞層でみられるような反応は認められない。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層は5, 10回投与例と同様に反応はみられない。筋層においても強陽性の反応で変化はみられない (写真6-c)。

c. ALP 反応

新生上皮層では、ALP 反応は弱陽性で、周囲の健康

上皮に比べ反応は弱い、10回投与例よりも強くなっている。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層はその範囲が狭くなり、その反応も炎症性細胞の減少とともに10回投与例に比べ、弱陽性へと低下している。なお、筋層は5, 10回投与例と同様に反応がみられない。

d. ACP 反応

新生上皮層での反応は、周囲の健康上皮に比べ弱い、10回投与例に比べると弱陽性へと反応は強くなっている。しかしながら、新生上皮層直下の線維芽細胞層の反応は10回投与例とほぼ同様に中等度陽性である。なお、筋層は10回投与例と同様に弱陽性で、変化はみられない。

e. EST 反応

新生上皮層では、10回投与例に比べ、中等度陽性へと反応は強くなっているが、周囲健康上皮に比べると反応は弱い。新生上皮層直下の線維芽細胞層では10回投与例に比べ、反応は低下し痕跡程度の反応である。なお、筋層では5, 10回投与例と同様に反応はみられない (写真6-d)。

D. 20回投与例

1. 一般組織所見

新生上皮層は周辺部の健康上皮とほぼ同じ厚さになっ

写真6 対照群15回投与例

- a : 新生上皮層(◊)は周囲健康上皮(↑)と同程度となり、その直下の肉芽層は線維成分に富んでいる (H・E 染色)。
- b : 新生上皮層の基底層(◊)は周囲健康上皮(↑)とほぼ同程度に反応している (LDH 反応)。
- c : 新生上皮層(◊)は中等度に反応している (SDH 反応)。
- d : 新生上皮層(◊)は周囲健康上皮(↑)に比べ、やや反応が弱い (EST 反応)。

ているが、上皮突起は15回投与例と同様に肥大、延長し、その形態、大きさは不規則である。また、新生上皮層下の結合組織では、線維性組織の配列が規則的となり、その下方には細い筋線維が筋束をなしている（写真7-a）。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

新生上皮層は健康上皮のそれとほぼ同じ厚さで、LDH反応は中等度陽性で、15回投与例とほぼ同程度の反応である。また、健康上皮における反応と差異は認められない。新生上皮層直下の結合組織においても反応は中等度陽性で、周囲との差異はみられない。なお、筋層では15回投与例と同様に強陽性に反応している（写真7-b）。

b. SDH 反応

新生上皮層の基底層では周囲健康上皮のそれに比べ、弱陽性ないしは中等度陽性で、反応はいくぶん強いが、ほぼ同程度である。また、創縁では15回投与例に比べ、おおむね同程度の反応か、あるいはいくぶん反応が低下している部がみられる。新生上皮層直下の結合組織の反応は、15回投与例と同程度で、周囲健康部とで差異はみられない。なお、筋層は15回投与例と同程度で、強陽性に反応している（写真7-c）。

c. ALP 反応

新生上皮層では15回投与例に比べ反応はさらに強くなり、中等度陽性で周囲健康上皮とほぼ同程度である。また、新生上皮層直下の結合組織では、15回投与例に比べ反応は低下し、痕跡程度であるが、周囲の健康部における反応と差異はみられない。なお、筋層では5, 10, 15回投与例と同様に反応はみられない（写真8-a）。

d. ACP 反応

新生上皮層は15回投与例に比べ、さらに反応が強くなり、中等度陽性であるが、周囲の健康上皮に比べるとわずかに差異がみられる。また、新生上皮層直下の結合組織での反応は15回投与例に比べ、弱陽性へと低下しているが、周囲の健康部での反応と差異はみられない。なお、筋層は15回投与例と同様に弱陽性である（写真8-b）。

e. EST 反応

新生上皮層では15回投与例に比べ、反応がさらに強くなり、強陽性で周囲の健康上皮と差異はみられない。また、新生上皮層直下の結合組織では15回投与例に比べ、反応はさらに低下し、周囲の健康部と同様に反応はみられない。なお、筋層では5, 10, 15回投与例と同様に反応はみられない（写真8-c）。

II. BLM 投与群について

A. 5 回投与例

1. 一般組織所見

写真7 対照群20回投与例

新生上皮層(↓)における LDH 反応, SDH 反応は周囲健康上皮(↑)とほぼ同程度に反応している。(a: H・E 染色, b: LDH 反応, c: SDH 反応)

写真8 対照群20回投与例
 新生上皮層(⇧)におけるそれぞれの酵素反応は周囲健康上皮(↑)とほぼ同程度である。
 (a : ALP 反応, b : ACP 反応,
 c : EST 反応)

創面は対照群5回投与例に比べ、新生上皮の伸展はほとんどみられず、創表面のフィブリン沈着層もわずかである。また、創面下部には炎症性細胞の浸潤がみられ、幼若肉芽組織が対照群5回投与例に比べ多くみられ、筋

線維、筋芽細胞のほとんどは、創面に向かって伸展している。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

創周辺の健康上皮での反応は、対照群5回投与例と同様に有棘層、基底層が中等度陽性に反応している。創面にみられるわずかな新生上皮細胞での反応は痕跡程度で、下部の幼若肉芽組織での反応は対照群5回投与例に比べ、弱くなっている。また、筋層では強陽性に反応し対照群5回投与例と同程度である（写真9-a）。

b. SDH 反応

創周辺の健康上皮では基底層が弱陽性に反応しているが、創縁より形成された新生上皮細胞や新生上皮層直下の線維芽細胞層では陰性である。筋層は強陽性で対照群5回投与例とほぼ同程度に反応している（写真9-b）。

c. ALP 反応

創周辺の健康上皮は、中等度陽性に反応しているが、創縁より形成された新生上皮細胞では反応がみられない。新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層では対照群5回投与例に比べ、強陽性から中等度陽性へと反応は低下している。なお、筋層には反応が全くみられない。

d. ACP 反応

創縁より形成された新生上皮細胞では、対照群5回投与例と同様に反応はみられず、創周辺の健康上皮でも中等度陽性へと低下している。また、新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層は対照群5回投与例と同様に強陽性に反応している。筋層は対照群5回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと低下している。

e. EST 反応

創周辺の健康上皮は強陽性に反応しているが、創縁より形成された新生上皮細胞や筋層には反応がみられない。新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層では弱陽性に反応している。また、対照群5回投与例に比べ、新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層、さらには創周辺の健康上皮と創面との境界部での反応は、中等度陽性から弱陽性へと低下している（写真9-c）。

B. 10回投与例

1. 一般組織所見

創面は新生上皮により被われているが、対照群10回投与例に比べ菲薄な上皮層で、上皮突起の形成はほとんどみられない。新生上皮層直下の肉芽組織内には線維芽細胞が不規則に配列し、炎症性細胞の浸潤は軽度である。また、筋層には筋線維の断裂や蛇行がみられる（写真10-a）。

写真9 BLM 5回投与例

- a : 創面にみられるわずかな新生上皮細胞(◁)は痕跡程度に反応している (LDH 反応).
 b : 新生上皮細胞(◁)には反応がみられない (SDH 反応).
 c : 新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層は弱陽性に反応している(◁) (EST 反応).

写真10 BLM 10回投与例

- a : 創縁より新生上皮細胞(◁)が伸展しているが、対照群10回投与例に比べ、治癒の遅延がみられる。↑は周囲健康上皮を示す (H・E 染色).
 b, c : 新生上皮細胞(◁)では対照群10回投与例に比べ、LDH 反応, SDH 反応が弱い。
 ↑は周囲健康上皮を示す (b : LDH 反応, c : SDH 反応).

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

菲薄な新生上皮層では、BLM 5 回投与例に比べ、反応は強く弱陽性である。また、創周辺の健康上皮でも BLM 5 回投与例に比べ、反応が弱陽性へと低下し、新生上皮とほぼ同程度である。新生上皮層直下の線維芽細胞層は対照群10回投与例に比べ、反応が弱く痕跡程度である。なお、筋層での反応は BLM 5 回投与例に比べ中等度陽性へと反応は低下している (写真10-b)。

b. SDH 反応

創面に形成された菲薄な新生上皮層では、BLM 5 回投与例と差をみないが、対照群10回投与例に比べ、創縁より形成された新生上皮細胞での反応は、痕跡程度から陰性へと低下している。また、新生上皮層直下の肉芽層には BLM 5 回投与例と同様に反応は認められない。さらに、筋層での反応は BLM 5 回投与例に比べ、強陽性から中等度陽性へと低下している (写真10-c)。

c. ALP 反応

創面に形成された菲薄な新生上皮層では、BLM 5 回投与例と同様に反応はみられない。創周辺の健康上皮や新生上皮層直下の肉芽層や線維芽細胞層では対照群10回投与例、BLM 5 回投与例に比べ、中等度陽性から弱陽性へと反応は低下している。また、筋層では反応がみられない (写真11-a)。

d. ACP 反応

菲薄な新生上皮層では、BLM 5 回投与例、対照群10回投与例と比べ、痕跡程度の反応で変化はない。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層では、BLM 5 回投与例に比べ、反応は強陽性から弱陽性へと著しく低下している。なお、筋層での ACP 反応は BLM 5 回投与例と同様で差はみられない (写真11-b)。

e. EST 反応

菲薄な新生上皮層では、BLM 5 回投与例に比べ、陰性から痕跡程度へと反応は強くなっているが、他の部の反応はほぼ同程度である。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層での反応は、対照群10回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと低下している。なお、創周辺の健康上皮では強陽性に反応しているが、筋層では反応はみられない (写真11-c)。

C. 15回投与例

1. 一般組織所見

創面は角化層を有する新生上皮に被われているが、対照群15回投与例よりも菲薄である。また、上皮突起の形成は不十分で、結合組織内へわずかに伸展している。新

写真11 BLM 10回投与例

- a : 肉芽層や線維芽細胞層では対照群10回投与例に比べ、反応が弱い(↑) (ALP 反応)。
- b : 新生上皮層(↑)の反応は対照群10回投与例に比べ、変化がみられない (ACP 反応)。
- c : 新生上皮層(↑)では対照群10回投与例に比べ、反応が弱い (EST 反応)。

生上皮層直下の肉芽組織は対照群15回投与例に比べ、広範囲に認められるが、線維成分は比較的少ない。なお、下方の筋層では萎縮、断裂した筋線維が認められる（写真12-a）。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

新生上皮層や創周辺の健康上皮の反応は、BLM 10回投与例とほぼ同程度の弱陽性で、対照群15回投与例に比べ、反応は著しく低下している。新生上皮層直下の肉芽組織での反応は BLM 10回投与例に比べ、痕跡程度から弱陽性へと強くなっているが、対照群15回投与例に比べると、中等度陽性から弱陽性へと反応は低下している。また、筋層での反応は BLM 10回投与例に比べ、中等度陽性から弱陽性へと低下している（写真12-b）。

b. SDH 反応

新生上皮層での反応は、BLM 10回投与例に比べ、陰性から弱陽性へと強くなっているが、他の部ではほぼ同程度の反応である。また、対照群15回投与例、BLM 10回

投与例に比べ、筋層での反応は強陽性から中等度陽性へと低下しているが、他の部での反応はほぼ同程度である（写真12-c）。

c. ALP 反応

新生上皮層での反応は、BLM 10回投与例に比べ陰性から痕跡程度へと反応は強くなっているが、対照群15回投与例よりも低下している。また、新生上皮層直下の肉芽組織での反応は、対照群15回投与例、BLM 10回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと低下しているが、他の部での反応は同程度である。なお、筋層では、BLM 5, 10回投与例と同様に反応はみられない（写真13-a）。

d. ACP 反応

創面に形成された新生上皮層での反応は、BLM 10回投与例とほぼ同程度の反応であるが、対照群15回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと反応は低下している。また、創周辺の健康上皮での反応も強陽性から中等度陽性へと低下している。新生上皮層直下の肉芽組織では、中等度陽性から弱陽性へ、筋層では弱陽性から痕跡程度

写真12 BLM 15回投与例

- a : 創面は新生上皮層(↑)に被われているが、対照群15回投与例に比べ、菲薄である。↑は周囲健康上皮を示す (H・E 染色)。
- b : 新生上皮層(↑)での反応は BLM 10回投与例とほぼ同程度であるが、対照群15回投与例に比べ、反応が著しく弱い。↑は周囲健康上皮を示す (LDH 反応)。
- c : 新生上皮層(↑)では BLM 10回投与例に比べ、反応がやや強くなっている。↑は周囲健康上皮を示す (SDH 反応)。

へとそれぞれ反応が低下している（写真13-b）。

e. EST 反応

新生上皮層では、痕跡程度から弱陽性へと反応が強くなっているが、創周辺の健康上皮では、BLM 10回投与例に比べ、強陽性から中等度陽性へと反応は低下している。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層では痕跡程度の反応であり、筋層での反応はみられない。また、対照群15回投与例と比べれば、健康上皮での反応は強陽性から中等度陽性へ、新生上皮層でも中等度陽性から弱陽性へとそれぞれ反応は低下している（写真13-c）。

D. 20回投与例

1. 一般組織所見

創面の大部分は健康な上皮層とほぼ同じ厚さの上皮層により被われているが、対照群20回投与例に比べ、上皮突起の形態は不規則で、その先端は鈍で、しかも短く幅も広がっている。また、新生上皮層直下では結合組織の一部は厚くなっているが、そのほとんどは筋芽細胞や線維芽細胞で、幅は薄く緻密な層である。また、深部の筋層では結合組織線維、筋線維、筋芽細胞などが上皮突起に向かって配列している（写真14-a）。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

新生上皮層は BLM 15回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へ反応は低下し、創周辺の健康上皮は、BLM 15回投与例とほぼ同程度の反応であるが、対照群20回投与例に比べれば、弱陽性へと低下している。また、新生上皮層直下の結合組織は対照群20回投与例に比べ、中等度陽性から弱陽性へ、筋層では強陽性から弱陽性へとそれぞれ反応が低下している（写真14-b）。

b. SDH 反応

創面を被う新生上皮層では中等度陽性から弱陽性へと反応は低下し、その直下の結合組織では痕跡程度から陰性へ、筋層では強陽性から弱陽性へと反応はそれぞれ低下している。なお、創周辺の健康上皮での反応は、BLM 15回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと低下し、筋層でも中等度陽性から弱陽性へと反応は低下している。また、対照群20回投与例に比較すれば、創周辺の健康上皮でも弱陽性から痕跡程度へ反応は低下している（写真14-c）。

c. ALP 反応

新生上皮層での反応は、BLM 15回投与例に比べ、痕跡程度から弱陽性へとやや強くなっているが、対照群20回投与例に比べ、中等度陽性から弱陽性へと低下してい

写真13 BLM 15回投与例

- a：肉芽組織では対照群15回投与例に比べ、反応が弱い（↑）（ALP 反応）。
- b, c：新生上皮層（↑）では対照群15回投与例に比べ、ACP 反応，EST 反応が弱い
（b：ACP 反応，c：EST 反応）。

写真14 BLM 20回投与例

- a : 新生上皮(↑)は対照群20回投与例に比べ、上皮突起は不規則である。↑は周囲健康上皮を示す (H・E 染色)。
- b, c : 新生上皮層(↑)では対照群20回投与例に比べ、LDH 反応, SDH 反応が弱い。
↑は周囲健康上皮を示す (b : LDH 反応, c : SDH 反応)。

る。また、新生上皮層直下の結合組織や筋層は BLM 15回投与例と同程度の反応である (写真15-a)。

d. ACP 反応

新生上皮層直下の結合組織では、反応は BLM 15回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと弱くなっているが、他の部での反応は同程度である。また、対照群20回投与例に比べ、創周囲の健康上皮での反応は、強陽性から中等度陽性へ、創面を被う新生上皮層では中等度陽性から痕跡程度へ、新生上皮層直下の結合組織では弱陽性から痕跡程度へ、筋層では弱陽性から痕跡程度へとそれぞれ反応が著しく低下している (写真15-b)。

e. EST 反応

新生上皮層での反応は BLM 15回投与例に比べ、弱陽性から中等度陽性へと強くなっているが、他の部での反応は同程度である。また、対照群20回投与例に比べ、創周囲の健康上皮や創面を被う新生上皮層での反応は強陽性から中等度陽性へと著しく低下している。なお、筋層では BLM 5, 10, 15回投与例と同様に反応はみられない (写真15-c)。

Ⅲ. MMC 投与群について

A. 5回投与例

1. 一般組織所見

創面は対照群5回投与例に比べ、いくぶん狭くなっているが、フィブリン沈着層と炎症性細胞集積層が認められる。その直下には線維芽細胞が増殖し、炎症性細胞の浸潤が強度で、血管の充血、拡張が著明に認められる。筋層には多数の筋芽細胞が認められ、筋線維は離開し、浮腫がみられる。また、創縁から上皮細胞がフィブリン沈着層下へ向かっているのがみられる。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

創周囲の健康上皮の反応は対照群5回投与例に比べ、中等度陽性から痕跡程度と著しく反応は低下している。創面にみられるわずかな新生上皮細胞での反応は認められず、創面下部の幼若な肉芽組織での反応は対照群5回投与例と同様に痕跡程度の反応で、筋層での反応は強陽性から中等度陽性へと低下している (写真16-a)。

b. SDH 反応

写真15 BLM 20回投与例

- a : 肉芽層の反応は、BLM 15回投与例とほぼ同程度である(△)(ALP 反応)。
 b, c : 新生上皮層(△)では対照群20回投与例に比べ、ACP 反応, EST 反応が著しく弱い
 (b : ACP 反応, c : EST 反応)。

創周辺の健康上皮では弱陽性、創縁より形成された新生上皮細胞層や新生上皮層直下の線維芽細胞層では陰性を示し、対照群5回投与例とほぼ同様な反応である。また、筋層では対照群5回投与例に比べ、中等度陽性へと反応は低下している(写真16-b)。

c. ALP 反応

創周辺の健康上皮は、対照群5回投与例と同様で中等度陽性に反応し、創縁より形成された新生上皮細胞では反応がみられない。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層では対照群5回投与例に比べ、強陽性から中等度陽性へと反応は低下している。筋層では対照群5回投与例と同様に反応はみられない(写真16-c)。

d. ACP 反応

創縁より形成された新生上皮細胞では、反応はみられないが、創周辺の健康上皮は中等度陽性、新生上皮層直下の線維芽細胞層では強陽性、筋層では弱陽性に反応し、対照群5回投与例とほぼ同程度の反応である(写真16-d)。

e. EST 反応

創周辺の健康上皮は対照群5回投与例に比べ、中等度陽性へと反応は低下している。創縁より形成された新生上皮細胞や筋層では対照群5回投与例と同様に、EST 反応はみられない。また、新生上皮層直下の幼若な肉芽組織では、中等度陽性から弱陽性へと著しく反応は低下している。

B. 10回投与例

1. 一般組織所見

創面は新生上皮により被われているが、対照群10回投与例に比べて、やや薄く上皮突起の形成はわずかにみられるが、形態はかなり鈍的で、大小不同である。新生上皮層直下は幼若肉芽組織で占められているが、炎症性細胞の浸潤はさほど認められない。また、筋層には棍棒状の筋芽細胞が散見され、筋線維は筋束をなし、軽度の浮腫、蛇行が認められる(写真17-a)。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

創周辺の健康上皮は MMC 5回投与例に比べ、反応が痕跡程度から弱陽性へと強くなり、創面に形成された菲薄な新生上皮層では、反応は痕跡程度である。しかしながら、新生上皮層直下の線維芽細胞層や筋層では MMC 5回投与例とほぼ同程度の反応がみられる。一方、対照群10回投与例に比較すれば、創面に形成された菲薄な新生上皮層は、弱陽性から痕跡程度へ、創周辺の健康上皮は、弱陽性から痕跡程度へ、新生上皮層直下の線維芽細胞

写真16 MMC 5回投与例

- a : 創面にみられるわずかな新生上皮細胞(◐)での反応はみられない。↑は周囲健康上皮を示す (LDH 反応)。
- b : 新生上皮細胞(◐)での反応はみられない。↑は周囲健康上皮を示す (SDH 反応)。
- c : 肉芽層(◐)では対照群5回投与例に比べ、反応が弱い。↑は周囲健康上皮を示す (ALP 反応)。
- d : 肉芽層(◐)での反応は対照群5回投与例とほぼ同程度である。↑は周囲健康上皮を示す (ACP 反応)。

胞層では弱陽性から痕跡程度へ、さらに筋層でも強陽性から中等度陽性へとそれぞれ反応は低下している (写真17-b)。

b. SDH 反応

新生上皮層や直下の線維芽細胞層では、MMC 5回投与例に比べ、痕跡程度の反応がみられるが、他の部でのSDH 反応は同程度で、創周辺の健康上皮では弱陽性、筋層では中等度陽性に反応している。また、対照群10回投与例に比べ、新生上皮層直下の線維芽細胞層では陰性から痕跡程度へと反応がやや強くなっているが、筋層では強陽性から中等度陽性へと反応が低下している。その他の部では同程度の反応である (写真17-c)。

c. ALP 反応

新生上皮層では MMC 5回投与例に比べ、痕跡程度に反応が認められるが、創周辺の健康上皮や新生上皮層直下の線維芽細胞層では中等度陽性から弱陽性へと反応は低下している。一方、創周辺の健康上皮や創面に形成された菲薄な新生上皮層では、対照群10回投与例に比べ、中等度陽性から弱陽性へと反応が低下している。なお、筋層では、MMC 5回投与例や対照群10回投与例と

同様に反応がみられない (写真18-a)。

d. ACP 反応

新生上皮層ではMMC 5回投与例に比べ、痕跡程度の反応である。また、新生上皮層直下の線維芽細胞層での反応は、MMC 5回投与例に比べ、強陽性から弱陽性へと低下しているが、創周辺の健康上皮や筋層では、MMC 5回投与例とほぼ同程度に反応している。一方、対照群10回投与例に比べ創周辺の健康上皮での反応は、強陽性から中等度陽性へ低下し、新生上皮層直下の線維芽細胞層の反応も中等度陽性から弱陽性へと低下している。新生上皮層では痕跡程度、筋層では弱陽性の反応でほぼ同程度である (写真18-b)。

e. EST 反応

新生上皮層では、MMC 5回投与例に比べ、痕跡程度の反応を示し、新生上皮層直下の線維芽細胞層では弱陽性から痕跡程度へと反応が低下している。しかしながら、創周辺の健康上皮や筋層では MMC 5回投与例とほぼ同程度に反応している。一方、対照群10回投与例に比べ、創周辺の健康上皮では強陽性から中等度陽性へと反応が低下し、新生上皮層直下の線維芽細胞層でも弱陽

写真17 MMC 10回投与例

- a : 創面は新生上皮層(△)に被われているが、対照群10回投与例に比べ、上皮突起は不規則である。↑は周囲健康上皮を示す (H・E 染色)。
- b, c : 新生上皮層(△)では対照群10回投与例に比べ、LDH 反応, SDH 反応が弱い。↑は周囲健康上皮を示す (b : LDH 反応, c : SDH 反応)。

性から痕跡程度へと反応は低下している。なお、筋層では、MMC 5 回投与例や対照群10回投与例と同様に反応がみられない (写真18-c)。

C. 15回投与例

1. 一般組織所見

創面はわずかに角化した上皮層で被われているが、対照群15回投与例に比べ、上皮突起の形成は不規則である。新生上皮層直下では線維成分に富む肉芽組織が認められ、下部の筋層では筋芽細胞が肉芽組織へ向かって伸展している。また、深部の筋層では筋線維が筋束をなし、かなり規則的に配列している (写真19-a)。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

創周辺の健康上皮や筋層での反応は、MMC 10回投与例とほぼ同程度であるが、創面に形成された新生上皮層や新生上皮層直下の肉芽組織での反応は MMC 10回投与例に比べ、痕跡程度から弱陽性へと強くなっている。また、対照群15回投与例に比べ、創周辺の健康上皮や創面に形成された新生上皮層、新生上皮層直下の線維芽細胞層などでは中等度陽性から弱陽性へと反応が低下している。なお、筋層においても強陽性から中等度陽性へと反応はそれぞれ低下している (写真19-b)。

b. SDH 反応

創面に形成された新生上皮層での反応は、MMC 10回投与例に比べ、痕跡程度から弱陽性へと強くなっているが、創周辺の健康上皮、新生上皮層直下の線維芽細胞層、筋層での SDH 反応は MMC 5 回投与例とほぼ同程度である。一方、対照群15回投与例に比べ、筋層での反応は強陽性から中等度陽性へと低下しているが、創周辺の健康上皮、創面に形成された新生上皮層、新生上皮層直下の線維芽細胞層での反応はほぼ同程度である。

c. ALP 反応

新生上皮層直下の肉芽組織の反応は、MMC 10回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと低下しているが、創周辺の健康上皮、創面に形成された新生上皮層、筋層での反応は同程度である。また、対照群15回投与例に比べ、創周辺の健康上皮での反応は、中等度陽性から弱陽性へ、創面に形成された新生上皮層や新生上皮層直下の肉芽組織では弱陽性から痕跡程度へと反応はそれぞれ低下している。なお、筋層では、MMC 5 回投与例、MMC 10回投与例と同様に反応はみられない。

d. ACP 反応

新生上皮層では、MMC 10回投与例に比べ、痕跡程度から弱陽性へと反応は強くなっているが、筋層での反応

写真18 MMC 10回投与例

a, b, c : 肉芽層(令)での ALP 反応, 新生上皮層(↑)での ACP 反応, EST 反応は, 対照群10回投与例に比べ弱い (a : ALP 反応, b : ACP 反応, c : EST 反応)。

は中等度陽性から弱陽性へと低下している。創周辺の健康上皮や新生上皮層直下の肉芽組織での反応は、ほぼ同程度である。また、対照群15回投与例に比べ、創面に形成された新生上皮層での反応は同程度であるが、創周辺の健康上皮では強陽性から中等度陽性へ、新生上皮層直下の肉芽組織や筋層での反応は弱陽性から痕跡程度へとそれぞれ低下している。

e. EST 反応

創面に形成された新生上皮層での反応は、MMC 10回投与例に比べ、痕跡程度から弱陽性へと反応が強くなっているが、創周辺の健康上皮や新生上皮層直下の肉芽組織での反応はほぼ同程度である。また、対照群15回投与例に比べ、創周辺の健康上皮での反応は強陽性から中等度陽性へ、創面に形成された新生上皮層では、中等度陽性から弱陽性へと低下している。なお、筋層での反応はMMC 5回投与例、MMC 10回投与例と同様に反応はみられない(写真19-c)。

D. 20回投与例

1. 一般組織所見

創面は新生上皮層で被われているが、対照群20回投与例に比べ、その厚さはわずかに薄い、上皮突起は対照群20回投与例とほぼ同程度の所見を呈している。新生上皮層直下の結合組織は薄く、線維成分に富み線維の配列は規則性を増している。また、筋層の筋線維は筋束をなし、軽度の蛇行が認められる。

2. 組織化学的所見

a. LDH 反応

創周辺の健康上皮や創面を被う新生上皮層、新生上皮層直下の結合組織ではMMC 15回投与例とほぼ同程度の反応であるが、対照群20回投与例に比べ、中等度陽性から弱陽性へと反応が低下している。また、筋層では対照群20回投与例に比べ、強陽性から中等度陽性へとLDH反応は低下している。

b. SDH 反応

創周辺の健康上皮や創面を被う新生上皮層、新生上皮層直下の結合組織、筋層ではMMC 15回投与例とほぼ同程度の反応である。また、筋層での反応は対照群20回投与例に比べ、強陽性から中等度陽性へと低下している。

写真19 MMC 15回投与例

- a : 新生上皮層(◊)は周囲健康上皮(↑)とほぼ同程度になっているが、上皮突起は不規則である (H・E 染色)。
- b, c : 新生上皮層(◊)では対照群15回投与例に比べ、LDH 反応, EST 反応が弱い。
- ↑は周囲健康上皮を示す (b : LDH 反応, c : EST 反応)。

写真20 MMC 20回投与例

- a : 新生上皮層(◊)での反応は MMC 15回投与例とほぼ同程度である。↑は周囲健康上皮を示す (SDH 反応)。
- b : 肉芽層(◊)では対照群20回投与例に比べ、反応が弱い。↑は周囲健康上皮を示す (ALP 反応)。
- c, d : 新生上皮層(◊)では対照群20回投与例に比べ、ACP 反応, EST 反応が著しく弱い。↑は周囲健康上皮を示す (c : ACP 反応, d : EST 反応)。

が、創周辺の健康上皮、創面を被う新生上皮層や直下の結合組織での反応はほぼ同程度である（写真20-a）。

c. ALP 反応

新生上皮層直下の結合組織では、MMC 15回投与例に比べ、痕跡程度から陰性へと反応は低下しているが、創面を被う新生上皮層での反応は痕跡程度から弱陽性へと強くなっている。創周辺の健康上皮や筋層での反応に変化はみられない。また、対照群20回投与例に比べ、創周辺の健康上皮や創面を被う新生上皮層では中等度陽性から弱陽性へ、新生上皮層直下の結合組織では痕跡程度から陰性へと反応はそれぞれ低下している。なお、筋層での反応は MMC 15回投与例とほぼ同様に ALP 反応はみられない（写真20-b）。

d. ACP 反応

新生上皮層直下の結合組織での反応は MMC 15回投与例に比べ、弱陽性から痕跡程度へと低下しているが、創周辺の健康上皮や創面を被う新生上皮層、筋層での反応はほぼ同程度である。また、対照群20回投与例に比べ、創周辺の健康上皮での反応は強陽性から中等度陽性へ、創面を被う新生上皮層では中等度陽性から弱陽性へ、直下の結合組織や筋層では弱陽性から痕跡程度へとそれぞれ反応は低下している（写真20-c）。

e. EST 反応

創面を被う新生上皮層での反応は、MMC 15回投与例に比べ、弱陽性から中等度陽性へと強くなっているが、新生上皮層直下の結合組織の反応は痕跡程度から陰性へと低下している。また、創周辺の健康上皮や創面を被う新生上皮層での反応は対照群20回投与例に比べ、強陽性から中等度陽性にそれぞれ著しく低下している。なお、筋層や新生上皮層直下の結合組織での反応は対照群20回投与例と同様に EST 反応はみられない（写真20-d）。

総括ならびに考察

口腔癌の治療は他科領域における癌腫と同様に、外科療法、放射線療法、化学療法などが単独、あるいは適宜、組み合わせ治療されているのが現状である^{1-4, 15-25)}。しかしながら、口腔では解剖学的、組織学的な特殊性から、治療後における形態や機能の保持が必要である。したがって、広範囲の外科療法や放射線療法などにはかなりの制約を受ける場合が少なくない。このような治療上の制約から制癌剤療法が必要となってくる。すなわち、抗腫瘍効果をより増強するためには、他種の制癌剤併用あるいは放射線療法との併用などが行われている³⁰⁻³³⁾。また、再発や転移の予防、末期癌の治療では制癌

剤療法は極めて重要な治療であることに異論をみない。

一方、今日市販されている制癌剤の多くは癌細胞にのみ特異的に作用するものではなく、正常な細胞や組織にも作用して重篤な障害をきたす場合が多い^{3-14, 34, 35)}。癌細胞にのみ特異的に取り込まれる制癌剤が開発されない限り、副作用を最小限にとどめ、治療効果をできるだけ高めるために投与方法や症例に適応した感受性制癌剤を投与する方法が行われているが、長期間にわたる制癌剤の維持療法がより効果的であることも報告されている^{36, 37)}。一方、手術創がすみやかに治癒し早期に機能の回復が待たれる。したがって、制癌剤が創傷治癒におよぼす影響を十分に把握しておく必要がある。

これまでに、口腔領域において創傷治癒に対する制癌剤の影響についての検索は、著者が渉猟しえた範囲内では、山根 (1974)⁴⁾が BLM とラット皮膚の創傷治癒過程を、鶴田ら (1977)³⁸⁾が腸管の創傷治癒過程と MMC の関係を、教室でも山隈 (1980)⁹⁾は BLM および MMC が家兎の下顎骨における骨創治癒過程に対する影響を、飯盛 (1981)¹⁰⁾が BLM および MMC が舌創傷治癒過程におよぼす影響をそれぞれ報告しているにすぎない。一方、創傷治癒過程の組織化学的研究は、阪本ら (1959)³⁹⁾がラットやモルモットの口腔粘膜、背部皮膚での創傷治癒過程における ALP, SDH, EST などを、谷岡ら (1962)⁴⁰⁾がモルモットの背部皮膚における創傷治癒過程で ALP, EST および ACP を、森山 (1968)⁴¹⁾が犬の抜歯創の治癒過程で SDH, ALP, ACP を、中村 (1975)⁴²⁾がラットの背部皮膚で創傷治癒過程における ALP を、松村 (1978)⁴³⁾がラットの冷凍創傷治癒過程における ALP を、それぞれ検索しているにすぎない。

そこで、著者は腫瘍一術創一薬剤相関のうえから、制癌剤の創傷治癒におよぼす影響を検索するため、家兎の舌に作創し、創傷治癒過程におよぼす制癌剤の影響を組織化学的に検索した。なお、被検制癌剤は、口腔癌の大多数が扁平上皮癌であり、扁平上皮癌に著効を示す抗腫瘍性抗生物質である Bleomycin (BLM) および広範囲にわたる抗癌スペクトラムを有し、多剤併用療法の基本となっている Mitomycin C (MMC) を選んだ。

また、研究の対象とした酵素反応については、体内に多数存在する酵素のうち、NAD 依存性脱水素酵素で最も活性の強いとされている^{44, 45)}乳酸脱水素酵素 (LDH) と、創傷治癒過程における再生組織に強い反応を示すとされている^{46, 47)}コハク酸脱水素酵素 (SDH) を、また、SDH と再生組織で反対の出現性を示すとき

れている⁴⁶⁾ 非特異的エステラーゼ (EST) を、さらに、炎症性結合組織などに強く反応するとされている⁴⁸⁾ アルカリフォスファターゼ (ALP) と、ALP と反応部位が対照的といわれる⁴⁹⁾ 酸性フォスファターゼ (ACP) についてそれぞれ検索した。

BLM は Umezawa ら (1966)^{50, 51)} によって開発された抗腫瘍性抗生物質で、市川ら (1966, 1967, 1969)⁵²⁻⁵⁴⁾ により臨床的応用が試みられ、扁平上皮癌に著効を示す^{55, 56)} ことが報告された。しかしながら、多量にしかも長期間投与された場合、肺線維症、皮膚や爪の硬化、色素沈着、脱毛、口内炎などの副作用^{7, 57-61)} が報告されている。また、MMC は、Hata ら (1956)^{62, 63)} により開発された抗腫瘍性抗生物質で、単独または多剤併用療法においては広く使用され⁶⁴⁻⁶⁸⁾、各種の腫瘍細胞に強力な効果を有する薬剤である。しかしながら、副作用も強く、骨髄系に障害をきたし強度の白血球減少や血小板減少、さらには消化管上皮への障害などが報告されている⁶⁹⁻⁷⁴⁾。一方、これらの制癌剤が口腔諸組織におよぼす影響としては、口腔粘膜組織の細胞質と核における退行性変化^{3, 4, 6, 8)}、唾液腺における終末部腺房細胞の細胞質や核、導管上皮細胞の細胞質や核に萎縮、変形、崩壊などの退行性変化^{7, 8, 11-14)} などが挙げられ、さらに機能的な面にまで影響を与えることが報告されている¹²⁾。

その原因としては BLM, MMC が投与された場合、口腔領域諸組織にも比較的高濃度の薬剤が分布し⁷⁵⁻⁸¹⁾、しかも DNA 合成を選択的に阻害することから⁸²⁻⁸⁴⁾、正常な口腔諸組織にも影響をもたらしたものと考えられている。

著者は家兎の舌に作創し、治癒過程におよぼす BLM と MMC の影響を組織化学的に検索した。その結果、教室の山隈 (1980)⁹⁾、飯盛 (1981)¹⁰⁾ らの成績とほぼ同様に、BLM 投与群においては投与回数を増すにつれて線維芽細胞、肉芽組織、上皮細胞などの増殖や成熟化が抑制され、とくに上皮層での成熟化が強く抑制されていた。また、MMC 投与群でも、投与回数を増すにつれて上皮層の上皮化や上皮層下の肉芽組織の形成、増殖、成熟化の遅延、浮腫などが認められた。したがって、BLM および MMC とともに舌創傷における上皮細胞の増殖、肉芽組織の成熟化、線維芽細胞の増殖を抑制していることなどにより治癒遅延をきたした。

細胞の生物活性に深いかかわりあいをもつ酵素である LDH, SDH は、ともに酸化還元酵素として、それぞれ好氣的あるいは嫌氣的にエネルギー代謝に関与し¹²⁾、

^{85, 86)}、とくに SDH はミトコンドリアの標識酵素とされている^{85, 86)}。正常な上皮における LDH 反応は、角化層をのぞく全層に強度な反応を呈する⁴⁹⁾。また、組織再生時にも強い反応が認められ、とくに舌では上皮細胞に強い反応を示し、粘膜上皮下の結合組織でもかなりの反応を示すとされている⁴⁷⁾。一方、SDH 反応は、正常な口腔粘膜などの重層扁平上皮では基底細胞に強く反応し、表層に向かうほど反応は徐々に低下するとされている^{47, 87-89)}。さらに、創傷部と健康部との境界に反応がみられ、再生上皮における基底細胞は正常な重層扁平上皮のそれよりも活性が強く、上皮下の再生結合組織細胞にもかなりの反応がみられると報告されている⁴⁹⁾。とくに、舌では粘膜上皮での反応は弱く、筋層に強い反応を示し、舌乳頭では強陽性の反応を示すといわれている⁴⁷⁾。

本実験では、正常な舌における LDH 反応は上皮層や上皮層直下の結合組織では中等度陽性に反応し、筋層では強陽性に反応していた。また、SDH 反応は上皮層では弱陽性に反応し、上皮層直下の結合組織ではわずかに反応がみられるが、筋層では強陽性に反応し、諸家の報告とほぼ同様な所見が得られた。

一方、阪本ら (1959)^{39, 90)} は口腔粘膜の創傷治癒過程における SDH 反応については、受傷後に出現する急性の炎症性細胞にはほとんど反応がみられないが、上皮の再生とともにしだいに反応が強くなっていたが、創傷面下の筋層では反応の低下が認められなかったと報告している。さらに、阪本ら (1959)^{39, 90)} は結合組織の修復機転が開始される時期より、肉芽組織中の線維芽細胞や幼若な結合組織に SDH 反応が強くなり、創傷治癒後期の増殖した結合組織にも SDH 反応がみられたと報告している。

本実験では対照群において、LDH 反応は創傷の治癒とともに新生上皮層や創面直下の肉芽組織、線維芽細胞層では徐々に強くなり、20回投与例では健康部とほぼ同程度であったが、筋層では治癒過程を通じて LDH 反応に変化はみられなかった。また、SDH 反応も同様に創傷治癒とともに反応はしだいに強くなり、筋層の反応にも変化はみられなかったが、20回投与例における新生上皮層では健康部の上皮層に比べ SDH 反応は強くなっていた。これらの所見は阪本ら (1959)⁹⁰⁾ の報告にみられるように、LDH 反応や SDH 反応などの脱水素酵素が結合組織や上皮の未成熟細胞に強い反応を示すことから、正常な治癒過程における LDH, SDH の細胞内代謝機能の増大によるものと思われ、舌の創傷治癒と密接な

関係を有しているものと考えられる。

BLM 投与群については、周囲健康上皮や筋層での LDH 反応は投与回数を増すにつれて、しだいに低下していた。また、新生上皮層での LDH 反応は 5, 10 回投与例では対照群とほぼ同程度であったが、15 回から 20 回へと投与回数を増すにつれて対照群より反応は低下していた。さらに、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織では、反応がしだいに強くなっていたものの、対照群に比べ、反応は著しく低下していた。また、SDH 反応でもほぼ同様な傾向で、周囲健康上皮や筋層では投与回数を増すにつれて低下していた。これに反し、新生上皮層では、上皮の形成が進むにつれて反応はしだいに強くなっていたが、対照群に比べ SDH 反応は低下していた。なお、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織では、BLM 各投与例で SDH 反応はほとんど認められなかった。

MMC 投与群での LDH 反応は、周囲健康上皮、新生上皮層、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織では創傷治癒が進むにつれてしだいに強くなっていたが、対照群に比べ反応は著しく低下していた。また、筋層での LDH 反応は投与回数と関係なく中等度の陽性であったが、対照群に比べ反応は弱くなっていた。一方、SDH 反応についてみると、周囲健康上皮は投与回数を増してもさほどの変化は認められなかったが、新生上皮層ではしだいに反応が強くなっていたものの、20 回投与例では対照例の SDH 反応よりは低下していた。また、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織では、5 回投与例では反応がみられなかったが、それ以後の投与例ではわずかに反応を認めたにすぎなかった。なお、筋層では投与回数を増しても反応にさほど変化はみられなかったが、対照群に比べ、SDH 反応は著しく低下していた。とくに、このような所見は創面直下の線維芽細胞や肉芽組織における反応の低下よりも、新生上皮層での反応が著しく低下し、BLM や MMC の影響がより強度に認められた。

したがって、BLM および MMC の投与は、正常な舌の上皮や筋層に影響を与えたのみならず、創傷治癒過程に関与すると考えられているミトコンドリア内の脱水素酵素である LDH, SDH に直接作用したものと思われる。さらに、病理組織学的な創傷治癒遅延とほぼ一致して、これらの酵素反応が低下していたことからすれば、組織の修復機転、とくに上皮細胞や結合組織の再生における糖代謝ならびに呼吸酵素系の反応が強く阻害されたものと考えられる。

一方、加水分解酵素としての ALP, ACP, EST は細胞の代謝機構に重要な酵素で、とくに ACP はライソゾームの標識酵素とされている^{91, 92)}。また、ALP は炎症巣の結合組織、毛細血管に強く反応し、上皮組織には反応を示さず⁴⁹⁾、粘膜上皮下の結合組織における毛細血管壁に強陽性で、遊走細胞、創面に滲出する細胞や結合組織の基質、さらには創縁より再生を開始した上皮組織や上皮修復後の再生上皮細胞などに反応するとされている⁴⁷⁾。舌では、上皮基底部に弱陽性、味蕾細胞に強陽性、毛細血管に強陽性に反応するといわれている⁹³⁾。本実験における正常な舌では、ALP 反応は上皮層で中等度陽性に反応し、結合組織ではわずかな反応がみられ、筋層には反応がみられなかった。

創傷治癒過程における ALP 反応について、阪本 (1959)⁹⁴⁾ はラットおよびモルモットの口腔粘膜および皮膚創傷治癒過程において、ALP 反応は創傷面下での急性炎症性細胞に強い反応を認め、肉芽組織の形成とともに低下するが、線維形成が進行すると上皮細胞の再生が著明となり、ALP 反応は強く、再生上皮が完全に創傷面を被っても、その直下の幼若な結合組織に ALP 反応が認められたと報告している。また、谷岡ら (1962)⁴⁰⁾ はモルモットの皮膚創傷治癒過程において、創傷治癒の初期に出現する炎症性細胞と組織再生の行われている線維芽細胞とに ALP 反応がみられたと報告している。さらに、中村 (1975)⁴²⁾ もラットの皮膚創傷治癒過程において、ALP 反応は初期炎症時に強く反応し、線維形成時にも反応がみられたとしている。また、松村 (1978)⁴³⁾ もラットの頬粘膜に冷凍創を作成し、その治癒過程において ALP 反応が初期の炎症性時とコラーゲンの成熟時の 2 相性に強くみられたと報告している。このように、創傷治癒過程における ALP 反応は炎症性細胞と治癒後期の線維芽細胞に強くみられる点で一致しているようである。さらに、ALP の役割として、コラーゲン線維の形成、ムコ多糖類の合成、細胞の成長と増殖、とくに上皮細胞の再生に関与しているのではないかと考えられている⁴⁰⁾。

本実験の対照群における ALP 反応は、新生上皮層で創傷治癒が進行するにつれて徐々に強くなっていたものの、創面直下の肉芽組織内の炎症性細胞に強陽性の反応がみられ、線維形成とともに ALP 反応はしだいに低下していた。したがって、再生上皮細胞に ALP 反応が強くみられ、対照群 5 回投与例での炎症性細胞には諸家の報告と同様に ALP 反応が強く認められたが、創傷治癒過程における線維形成に一致して ALP 反応の上昇はみ

られなかった。

BLM 投与群における ALP 反応では、新生上皮層において10回投与例までは反応がみられず、その後、投与回数を増すにつれて反応は強くなっていたが、対照群に比べ上皮層の成熟化の遅延とともに ALP 反応も低下していた。また、新生上皮層直下の肉芽組織や線維芽細胞層では投与回数を増すにつれ、しだいに反応は低下していたが、対照群に比べ、炎症性細胞浸潤は同程度であったにもかかわらず著しく弱くなっていた。なお、筋層では対照群と同様に反応は認められなかった。また、MMC 投与群でもほぼ同様に、新生上皮層では ALP 反応がしだいに強くなっていたが、新生上皮層直下の肉芽組織や線維芽細胞では投与回数を増すにつれ、しだいに反応は低下していた。しかしながら、対照群に比べ新生上皮層、新生上皮層直下の肉芽組織や線維芽細胞層での反応は弱くなっていた。さらに、筋層での反応は対照群や BLM 投与群と同様に、実験群を通じて ALP 反応はみられなかった。したがって、BLM および MMC が創傷治癒過程における肉芽組織の線維形成や上皮細胞の再生に影響を与え、ALP 反応が低下したものではないかと考えられる。

ACP は、上皮組織の基底細胞や角化層に反応が強く⁴⁹⁾、とくに上皮表層の顆粒細胞層および角化層に強く反応する⁸⁸⁾ことから、上皮層の角化の程度と相関性があるといわれている⁸⁹⁾。また、ACP は先述したようにライソゾームの標識酵素⁴¹⁾とされ、組織の再生、細胞分化、細胞小器官の更新、骨・結合組織の再吸収、細胞分裂、炎症などと密接に関係すると考えられている⁹³⁾。さらに、森山 (1968)⁴¹⁾は ACP が ALP と同様にコラーゲンの合成や細胞の代謝に関与しているものと推測されるが、その作用は ALP に比較するとやや弱いと述べている。また、倉橋 (1970)⁹¹⁾は炎症性病巣において多核白血球、ことに好中球の著明な浸潤がみられ、好中球の活発な防御反応をライソゾームが中心に行っているため、ACP 反応が強くみられたと報告している。

本実験では、正常な舌において上皮層で強陽性に反応し、結合組織や筋層ではわずかな ACP 反応がみられた。また、対照群では ALP 反応とほぼ同様に、上皮組織の再生とともに ACP 反応は徐々に強くなり、急性炎症層に ACP 反応が強くみられた。

一方、本実験の BLM 投与群での ACP 反応は、周囲健康上皮や筋層では投与回数を増しても、さほど変化はみられなかったが、新生上皮では投与回数を増すにつれ、わずかに反応が強くなっていた。また、新生上皮層

直下の線維芽細胞や肉芽組織では、投与回数を増すにつれ著しく反応は低下していた。しかしながら、対照群に比べ周囲健康上皮、新生上皮、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織、筋層での ACP 反応は著しく低下していた。また、MMC 投与群でもほぼ同様に、周囲健康上皮では本実験群を通じて ACP 反応にさほど変化はみられなかったが、新生上皮では投与回数を増すにつれ、しだいに反応が強くなる傾向にあった。また、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織では投与回数を増すにつれ、著しく反応は低下していた。さらに、筋層でも投与回数を増すにつれ、わずかに反応は低下していた。しかしながら、対照群に比べ周囲健康上皮、新生上皮、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織、筋層での反応は著しく低下していた。以上のことから、BLM および MMC の投与により ACP 反応が低下したことは、創傷治癒に関与するライソゾームの生物学的機能になんらかの影響を与えたものと思われる。

EST の生理学的、機能的な意義については十分に解明されていないのが現状であるが、細胞内での物質の運搬作用が挙げられており⁹⁵⁾、EST 反応は歯肉口腔粘膜上皮に陽性⁴⁹⁾で、SDH 反応とともに創傷部と健康部との境界に反応がみられるとされている^{39,40,49)}。また、顆粒細胞層に強く反応し、皮膚付属腺、毛嚢上皮にも反応すると報告されている^{95,96)}。本実験での正常な舌では上皮層に強陽性に反応していたが、結合組織や筋層では反応は認められなかった。

一方、創傷治癒過程における EST 反応について、阪本ら (1959)³⁹⁾は創傷辺縁部における上皮細胞中の EST 反応は初期において増減不定の反応を示すが、再生上皮組織には強い EST 反応を認めないことから、上皮の新生には EST は直接関与しないものと考えられると報告している。また、結合組織の再生時には ALP 反応に類似した消長を示すが、実験期間を通じて細胞の新生、増殖に著明な変動を示さず、むしろ創傷部表面の痂皮または壊死組織に強い EST 反応が認められたことから、結合組織の形成には直接関与せず、細胞の新生にわずかに関与しているものの、創面の保護あるいは表面痂皮の維持という点に関与するものと考えられると報告している。

本実験における対照群では、EST 反応は上皮組織の再生期ではほとんど認められず、諸家の見解、すなわち EST 反応は上皮組織の再生とは直接関係ないものと思われた。また、肉芽組織では経日的にその反応が低下し、阪本ら (1959)^{39,90)}の所見とほぼ同様に ALP 反

応と類似した消長を示していた。しかしながら、結合組織の再生に **EST** が関与しているかどうかは明確にできなかった。

一方、**BLM** 投与群では、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織では投与回数を増すにつれ、しだいに **EST** 反応は低下していたが、新生上皮では、しだいに反応が強くなっていた。しかしながら、対照群に比べ新生上皮、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織での反応は著しく低下していた。また、**MMC** 投与群でも、新生上皮では投与回数を増すにつれ、しだいに **EST** 反応は強くなっていた。しかしながら、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織では投与回数を増すにつれ、しだいに反応は低下し、また、対照群に比べ、新生上皮、新生上皮層直下の線維芽細胞や肉芽組織での反応は著しく低下していた。このことは **BLM** および **MMC** が創傷治癒過程において、再生上皮や肉芽組織の線維形成における **EST** の機能に影響を与えたものと思われる。

以上の実験成績を総括すれば、舌の創傷治癒過程においても **BLM** および **MMC** の投与が上皮細胞、肉芽組織や線維芽細胞の増殖、成熟化などに支障を与え、明らかな創傷治癒遅延が認められた。また、このような形態学的な創傷治癒遅延にはほぼ一致して、酸化還元酵素や加水分解酵素などの各酵素反応が低下していた。これは、創傷治癒過程における活発な代謝機能や核酸代謝阻害剤である両制癌剤が細胞核に直接的な影響をおよぼすという作用機序などを考慮すれば、創傷治癒に関与するミトコンドリアの機能やコラーゲンの成熟化、さらにはライソゾームの機能などの細胞の代謝機能にまで強く影響を与えたものと考えられる。

結 論

著者は家兎の舌に実験的な創傷を作成し、その治癒過程におよぼす抗腫瘍性抗生物質である **Bleomycin** および **Mitomycin C** の影響を病理組織学的ならびに組織化学的に検索し、以下の結果を得た。

I. 一般組織所見

A. Bleomycin (3.0mg/kg/day) 投与群では、投与回数を増すにつれて上皮細胞、肉芽組織、線維芽細胞などの増殖および成熟化が抑制され、とくに上皮層の創傷

治癒が著しく遅延されていた。

B. Mitomycin C (0.5mg/kg/day) 投与群では、投与回数を増すにつれて上皮化や上皮層下の肉芽組織、線維芽細胞の増殖および成熟化の遅延が認められた。

II. 組織化学的所見

A. Bleomycin 投与群では、上皮層の創傷治癒遅延にともない **LDH**, **SDH**, **ALP**, **ACP**, **EST** 反応がしだいに弱くなっていた。また、肉芽組織や線維芽細胞の増殖、成熟化の抑制にはほぼ一致して **LDH**, **ALP**, **ACP** および **EST** 反応は弱くなっていたが、**SDH** 反応ではさほどの変化はみられなかった。

B. Mitomycin C 投与群では線維芽細胞、肉芽組織などの増殖および成熟化の抑制にともない **LDH**, **SDH**, **ALP**, **ACP** および **EST** 反応が弱くなっていた。しかしながら、新生上皮層における各酵素反応の低下は比較的軽度であった。

C. 以上のような酵素反応の変化は、上皮層、肉芽組織や線維芽細胞層において、とくに強度にみられ、投与回数を増すにつれて反応はしだいに強くなっていたが、対照群に比較すればその反応は著しく弱くなっていた。また、これらの変化は組織学的な創傷治癒遅延にはほぼ一致していた。

III. 以上の実験成績からすれば、舌の創傷治癒過程において **Bleomycin** および **Mitomycin C** の投与は上皮細胞、肉芽組織や線維芽細胞の増殖、成熟化などによる創傷治癒遅延のみならず、酸化還元酵素や加水分解酵素などの酵素反応が低下していたことから、創傷治癒に関与するミトコンドリアの機能やコラーゲンの成熟化、さらにはライソゾームの機能などの細胞代謝機能にまで強く影響を与えると考えられた。

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黒川英雄助教授、児玉高広博士に感謝します。あわせて本研究に御協力を戴いた教室員各位に謝意を表します。

本論文の要旨は第45回九州歯科学会総会（昭和60年5月25日、北九州市）において発表した。

引 用 文 献

- 1) Klopp, C.T., Alford, T.C., Bateman, J., Berry, G.N. and Winship, T.: Fractionated intra-arterial cancer, chemotherapy with methyl bis amine hydrochloride; A preliminary

- report. *Ann. Surg.* **132**: 811—832, 1950.
- 2) Klopp, C.T., Bateman, J., Berry, G.N., Alford, T.C. and Winship, T.: Fractionated regional cancer chemotherapy. *Cancer Res.* **10**: 229, 1950.
 - 3) 多部田義美: 制癌剤の動脈内持続注入が歯および歯周組織におよぼす影響に関する実験的研究.
口科誌 **19**: 100—132, 1970.
 - 4) 山根源之: 抗癌物質の作用機序に関する電子顕微鏡的研究. 第1編 Bleomycin のラット正常口腔粘膜上皮におよぼす影響について. 歯科学報 **74**: 83—95, 1974.
 - 5) 立石聡明: 培養正常細胞に対する諸種制癌剤の影響に関する研究. 九州歯会誌 **29**: 486—522, 1976.
 - 6) 藤 英俊: Bleomycin 投与後のカイウサギ葉状乳頭味蕾の微細構造. 九州歯会誌 **31**: 249—277, 1977.
 - 7) 山崎一郎: ブレオマイシンの副作用に関する研究—とくに唾液腺に及ぼす影響について—.
日口外誌 **22**: 196—210, 1976.
 - 8) 中村保子: 総頸動脈結紮後に動注された Bleomycin の生体に及ぼす影響. 口科誌 **26**: 8—25, 1977.
 - 9) 山隈正人: 制癌剤の骨創治癒におよぼす影響に関する実験的研究. 九州歯会誌 **33**: 692—711, 1980.
 - 10) 飯盛康光: 制癌剤の舌創傷治癒におよぼす影響に関する実験的研究. 九州歯会誌 **34**: 720—736, 1981.
 - 11) 重住十成: 抗癌剤の家兎顎下腺におよぼす影響に関する実験的研究. 九州歯会誌 **36**: 997—1011, 1982.
 - 12) 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.
 - 13) 野村信人: 家兎顎下腺に対する制癌剤の影響に関する研究—とくに Bleomycin, Mitomycin C と Vitamin A との併用について—. 九州歯会誌 **41**: 296—312, 1987.
 - 14) 桑原一尋: Bleomycin, Mitomycin C と Vitamin A との併用による家兎耳下腺への影響に関する実験的研究. 九州歯会誌 **41**: 1065—1083, 1987.
 - 15) 斎藤達雄: 癌化学療法の臨床. 癌臨 **8**: 111—121, 1962.
 - 16) 黒川利雄: 癌療法の現況. 診と療 **51**: 310—315, 1963.
 - 17) 石川浩一・草間 悟: 癌細胞世代時間に基づく抗癌剤投与方法. 最新医学 **19**: 2312—2318, 1964.
 - 18) 鷺津邦雄: 顎口腔領域における悪性腫瘍に対する局所灌流法および動脈内注入法に関する研究; 第1編 生理学的変動に関する実験的研究. 口科誌 **13**: 118—131, 1964.
 - 19) 池尻 茂: 口腔癌の治療について. 九州歯会誌 **18**: 40—46, 1964.
 - 20) 鷺津邦雄: 顎口腔領域における悪性腫瘍に対する局所灌流法および動脈内注入に関する研究; 第2編 臨床的研究. 口科誌 **16**: 20—46, 1966.
 - 21) 林 進武: 顎口腔領域における Regional cancer chemotherapy. 口科誌 **15**: 93—141, 1966.
 - 22) 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.
 - 23) 野村 和・松村祐二郎・高山一雄・江口実美・柳田とも子・寺嶋廣美: 舌癌に対する動注・放射線併用療法の検討. 癌と化学療法 **11**: 1174—1181, 1984.
 - 24) 塩田重利・天笠光雄: 口腔悪性腫瘍治療の現状—とくに舌癌を中心に—. 医学のあゆみ **134**: 955—961, 1985.
 - 25) 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.
 - 26) 佐野 豊: 組織学研究法—理論と術式—. 南山堂, 東京, 1965, 505—517.
 - 27) 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.
 - 28) Barka, T. and Anderson, P.J.: Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. *J. Histochem. Cytochem.* **10**: 741—753, 1962.
 - 29) Burstone, M.S.: Esterase. In: *Enzyme histochemistry and its application in the study of neoplasms*. Academic Press, New York and London, 1962, 324—325.
 - 30) Richard, J.M., Sancho, H., Lepintre, Y., Rodary, J. and Pierquin, B.: Intra-arterial meth-

otrexate chemotherapy and telecobalt therapy in cancer of the oral cavity and oropharynx. *Cancer* 34: 491—496, 1974.

- 31) 菅原克彦・長尾 桓：癌の集学療法. 医学のあゆみ 121: 1015—1025, 1982.
- 32) 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.
- 33) 犬山征夫・藤井正人・田中寿一・高岡哲郎・細田兵之助・甲能直幸：上顎洞がん—Neo-adjuvant chemotherapy を組み入れた新しい集学的治療について—. 癌と化学療法 11: 1165—1173, 1984.
- 34) 山形徹一・宇塚善郎：制癌剤の副作用とその対策—内科の立場から—. 最新医学 19: 2407—2418, 1964.
- 35) 神前五郎・青木行俊・天方義邦・高井新一郎・土井 修：制癌剤の副作用とその対策—外科の立場から—. 最新医学 19: 2419—2430, 1964.
- 36) 梶山 稔・久恒一雄：制癌剤の感受性に関する研究, 2. —口腔癌化学療法に際し, 感受性試験としての S.D.I. 法の追試経験—. 九州歯会誌 19: 92—98, 1965.
- 37) 梶山 稔：口腔癌化学療法にあたっての S.D.I. 法の評価. 最新医学 33: 2248—2253, 1978.
- 38) 鍋田典夫・豊田 元・高見 博・中川自夫・阿部令彦・丸山圭一：抗癌剤術中大量全身投与時の腸管吻合の創傷治癒におよぼす影響—Mitomycin C を中心に—〔会〕. 日癌治 12: 454—455, 1977.
- 39) 阪本義樹・大鶴 栄・森 昌彦：創傷治癒過程のエステラーゼに関する組織化学的研究, 特にアルカリフォスファターゼとコハク酸脱水素酵素との関係について. 阪大歯学誌 4: 741—749, 1959.
- 40) 谷岡博昭・二宮昭雄・横野久昭：創傷治癒過程の酸性 phosphatase に関する組織化学的研究 (特にアルカリ性 phosphatase・Esterase との関係について). 日口外誌 8: 268—272, 1962.
- 41) 森山平八郎：実験的抜歯創の治癒過程に関する組織化学的研究. 京大口科紀要 8: 65—96, 1968.
- 42) 中村正之：創傷治癒過程におけるグルココルチコイドの影響および亜鉛の効果. 阪大歯学誌 20: 105—119, 1975.
- 43) 松村隆司：冷凍創治癒過程の組織化学的研究. 日口外誌 24: 217—224, 1978.
- 44) 西村秀雄・清水信男：新組織学. 第2版, 医学書院, 東京, 1970, 289—293.
- 45) 山内昭雄：リーソン組織学図譜. 医学書院, 東京, 1980, 150—151.
- 46) Argyris, T.S.: Succinic dehydrogenase and esterase activities of mouse skin during regeneration and fetal development. *Anat. Rec.* 126: 1—13, 1956.
- 47) 武内忠男・清水信夫・小川和朗：酵素組織化学. 朝倉書店, 東京, 1967, 105—134, 239—306.
- 48) 森 昌彦：組織化学的診断. 歯科ジャーナル 14: 723—724, 1981.
- 49) 森 昌彦：口腔領域における組織化学. 日口外誌 9: 207—229, 1963.
- 50) Umezawa, H., Maeda, K., Takeuchi, T. and Okami, Y.: New antibiotics, bleomycin A and B. *J. Antibiotics Ser. A* 19: 200—209, 1966.
- 51) Umezawa, H., Suhara, Y., Takita, T. and Maeda, K.: Purification of bleomycins. *J. Antibiotics Ser. A* 19: 210—215, 1966.
- 52) 市川篤二・中野 巖・市川 勲：新制癌抗生物質ブレオマイシンの臨床的研究について〔会〕. 日癌治 1: 92—93, 1966.
- 53) Ichikawa, T., Matsuda, A., Miyamoto, K., Tsubosaki, M., Kaihara, T., Sakamoto, K. and Umezawa, H.: Biological studies on bleomycin A. *J. Antibiotics Ser. A* 20: 149—155, 1967.
- 54) 市川篤二：ブレオマイシンの扁平上皮癌に対する効果の発現とその後の研究の発展. 日医師会誌 62: 153—158, 1969.
- 55) 市川篤二：ブレオマイシン (BLM) の紹介. 癌臨 14: 295—296, 1968.
- 56) 市川篤二：新しい制癌剤ブレオマイシン—扁平上皮癌に対する特効について—.

日本臨床 27: 64—72, 1969.

- 57) 市川篤二: 制癌剤ブレオマイシンについて. 内科 22: 630—633, 1968.
- 58) 岡本 堯・天野富薫・和田達雄・原田昌興・田中俊夫: 実験的ブレオマイシン肺線維症.
医学と生物学 80: 299—301, 1970.
- 59) 近藤有好・高頭正長・野沢幸男: 薬剤による肺障害—Bleomycin pneumonitis の臨床的研究—.
新潟医学会誌 86: 403—415, 1972.
- 60) 市橋正光・新海 宏・武井美保子: Bleomycin による線維化機序の解析. 皮膚 14: 217—226, 1972.
- 61) Burkhardt, A., Gebbers, J.O. und Höltje, W.J.: Die Bleomycin-Lunge. Systematische pathologisch-anatomische Untersuchungen an 15 Fällen.
Dtsch. Med. Wochenschr. 102: 281—289, 1977.
- 62) Hata, T., Sano, Y., Sugawara, R., Matsumae, A., Kanamori, K., Shima, T. and Hoshi, T.: Mitomycin, a new antibiotic from streptomyces. I.
J. Antibiotics Ser. A 9: 141—146, 1956.
- 63) Sugawara, R. and Hata, T.: Mitomycin, a new antibiotic from streptomyces. II. Description of the strain. J. Antibiotics Ser. A 9: 147—151, 1956.
- 64) Wakaki, S., Marumo, H., Tomioka, K., Shimizu, G., Kato, E., Kamada, H., Kudo, S. and Fujimoto, Y.: Isolation of new fraction of antitumor mitomycins.
Antibiot. Chemother. 8: 228—240, 1958.
- 65) Sugiura, K.: Studies in a tumor spectrum VIII. The effect of mitomycin C on the growth of variety of mouse, rat, hamster tumors. Cancer Res. 19: 438—445, 1959.
- 66) 河辺義孝: 悪性腫瘍の化学療法における多剤併用療法 (METT 療法) について. 日耳鼻 69: 513, 1966.
- 67) 木村禎代二: 多剤併用療法. 癌臨 14: 184—191, 1968.
- 68) 太田和雄: 多剤併用療法とその意義. 日本臨床 27: 1571—1577, 1969.
- 69) 中里博昭・鶴飼典司・大山 峻・伊藤泰逸: マイトマイシンCの使用経験について.
癌臨 5: 384—386, 1959.
- 70) 清水健太郎: マイトマイシンCに依る出血傾向について. 癌臨 5: 388—389, 1959.
- 71) 神前五郎・奥村明一・永岡浩夫・広瀬俊太: マイトマイシンCの使用経験, 殊にその副作用について.
癌臨 5: 391—394, 1959.
- 72) 田崎勇三・畔柳 繁・星野智雄・五味 誠: マイトマイシンCの臨床経験. 癌臨 5: 403—405, 1959.
- 73) 山田一正・栗田宗次・野村 聡: 抗腫瘍薬の副作用. 内科 11: 1077—1086, 1963.
- 74) 副島清治・西田 伝・永野 勲・稲葉 馨・角田秀雄・石川義信: 胃癌治療手術と MMC 併用に際しての副作用: I. 骨髄造血機能におよぼす影響. 癌と化学療法 3: 743—750, 1976.
- 75) 深谷昌彦・大谷端夫・高井克憲・西川原弘亜: 新抗癌物質 Bleomycin の口腔組織内濃度について.
口科誌 18: 625—627, 1969.
- 76) 藤田 浩・沢部孝昭・土田裕子・木村禎代二: Bleomycin の不活性化—とくに SH 化合物および磷酸塩との親和性について—. 癌臨 16: 89—94, 1970.
- 77) 中村雄一郎: 動脈結紮による薬物の組織内濃度の変動に関する研究 3. 抗腫瘍性抗生物質の組織内濃度について. 日口外誌 19: 142—149, 1973.
- 78) 秋本英生: 制癌剤の組織内濃度, 殊に顎口腔組織内濃度について 第1報 Bleomycin.
口病誌 43: 245—254, 1976.
- 79) Randolph, V.L., Vallejo, A., Spiro, R.H., Shah, J., Strong, E.W., Huvos, A.G. and Wittes, R.E.: Combination therapy of advanced head and neck cancer, Induction of Remissions with Diamminedichloroplatinum (II), Bleomycin and radiation therapy.
Cancer 41: 460—467, 1978.

- 80) Hong, W.K., Shapshay, S.M., Bhutani, R., Craft, M.L., Ucmakli, A., Yamaguchi, K.T., Vaughan, C.W. and Strong, M.S.: Induction chemotherapy in advanced squamous head and neck carcinoma with high-dose cisplatin and bleomycin infusion. *Cancer* 44: 19—25, 1979.
- 81) Vogl, S.E. and Kaplan, B.H.: Chemotherapy of advanced head and neck cancer with methotrexate, bleomycin, and cis-diamminedichloroplatinum II in an effective outpatient schedule. *Cancer* 44: 26—31, 1979.
- 82) Usubuchi, I., Oboshi, S., Tsuchida, R. and Tanabe, H.: The effect of mitomycin C on the growth of a variety of rat and mouse tumors. *Gann* 49: 209—222, 1958.
- 83) 田中信夫: プレオマイシンの作用機作. 医学のあゆみ 69: 255—256, 1969.
- 84) 井伊健一・日坂照幸・江角謙三・赤嶺正之・田村浩一・高田和彰: 正常家兎各種臓器組織の Bleomycin 取り込みと不活性化能について〔会〕. 広歯誌 7: 86, 1975.
- 85) 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.
- 86) 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.
- 87) 森 昌彦・田中淑郎・下里常弘・保志信男・高田嘉定: 歯肉の脱水素酵素反応に関する組織化学的研究. 口科誌 7: 483—491, 1958.
- 88) 森 昌彦・出口正治・村上 勝・谷 孝夫: 口腔粘膜ならびに歯周組織疾患歯肉における Alkaline phosphatase と Acid phosphatase の組織化学的研究. 口科誌 9: 239—245, 1960.
- 89) 森 昌彦: 口腔領域における組織化学. 歯界展望 23: 709—713, 1964.
- 90) 阪本義樹・大鶴 栄・森 昌彦: 創傷治癒過程のコハク酸脱水素酵素に関する組織化学的研究. 阪大歯学誌 4: 733—740, 1959.
- 91) 倉橋和啓: ライソゾームの機能. 細胞 2: 14—25, 1970.
- 92) 馬屋原 宏: Acid phosphatase. 新酵素組織化学 (武内忠男・小川和朗編), 朝倉書店, 東京, 1980, 298—314.
- 93) 馬屋原 宏: Alkaline phosphatase. 新酵素組織化学 (武内忠男・小川和朗編), 朝倉書店, 東京, 1980, 271—298.
- 94) 阪本義樹: 創傷治癒過程の組織化学的研究, 第1編 正常ラット並びにモルモットの創傷治癒経過の Alkaline phosphatase, Nucleotidase, 多糖体に関する組織化学的研究. 阪大歯学誌 4: 643—659, 1959.
- 95) 川勝賢作・森 昌彦: 人の口腔歯肉粘膜上皮代謝の組織化学的, 細胞化学的研究. 口科誌 7: 128—137, 1958.
- 96) 川勝賢作・森 昌彦・村上 勝・出口正治: 口腔粘膜ならびに炎症歯肉における Esterase の組織化学的研究. 口科誌 9: 246—252, 1960.