

家兎移植VX2舌癌と頸部リンパ節転移巣およびヒト口腔扁平上皮癌細胞の電子顕微鏡学的観察

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
顎顔面機能再建学講座
顎顔面疾患制御学分野・研究生
(指導教員 杉原一正教授)

申請者 河野生司

悪性腫瘍細胞の自律性増殖や浸潤、転移に深く関わっていると考えられているものに細胞間結合装置の異常に基づく結合力の低下と細胞間相互連絡の異常がある。正常な口腔粘膜上皮細胞が異型細胞や悪性腫瘍細胞に変化するとこれらの細胞間結合装置の異常や数の減少により細胞隙は拡大し、細胞表面には、多数の微絨毛様細胞質突起が出現して細胞集団から遊離して浸潤性増殖や転移をきたすと考えられている。一方、口腔癌の大部分は、病理組織学的には扁平上皮癌であることから、口腔癌の実験モデルとして、その組織像がヒト口腔扁平上皮癌に類似しており、移植率も高い家兎移植VX2癌が口腔癌の実験モデルとして広く用いられている。

そこで、本研究では、家兎舌に移植されたVX2癌細胞の経時的増殖過程、特にVX2細胞の表面微細構造と凍結切断像を走査型電子顕微鏡（以下、SEM）にて観察するとともにヒト口腔扁平上皮癌細胞をフリーズ・フラクチャー電子顕微鏡法（以下、FF電顕法）で観察ことにより口腔扁平上皮癌細胞の浸潤、増殖、転移過程における細胞表面微細構造や細胞間結合装置の変化を明らかにすることを目的とした。

家兎舌筋内に移植されたVX2癌細胞と深頸リンパ節へ転移したVX2癌細胞の表面および切断面の微細構造の経時的変化をSEMにより観察した結果、移植後1～2週間目には直径10 μ mで多数のサボテン状や微絨毛様の細胞質突起に覆われており、その突起により隣在する細胞と強く連絡していた。すなわち、舌筋内の増殖活性の高いVX2癌細胞は増殖活性の低いVX2癌細胞よりも微絨毛様突起の数も多く、その形態もサボテン状を呈していた。VX2癌細胞は、腫瘍の増大とともに外層部のみに増殖活性の高い細胞が観察され、細胞の形態も1週目より4週目のほうがより扁平なVX2癌細胞が観察された。転移リンパ節内のVX2癌細胞は、直径10 μ mの球形の細胞として観察されたが、増殖活性の高い細胞においても舌におけるVX2癌細胞と比較して、微絨毛様突起は細く短かくものが多数観察され、細胞間結合も疎であった。

ヒトの口腔癌より生検および手術時に得られた腫瘍組織ならびに正常口腔粘膜をFF電顕法で観察し両者の比較検討を行った結果、正常口腔粘膜上皮細胞のFFレプリカ像では、desmosome (Des)、gap junction (GJ)、tight junction (TJ)などの細胞間結合装置がよく発達しているのが観察された。疣贅状癌細胞のFFレプリカ像では、正常口腔粘膜上皮細胞とほぼ頻度で細胞間結合装置が観察されたが、TJの網目構造は疎になっていた。口腔癌の原発巣ならびに頸部リンパ節巣の扁平上皮癌細胞のFFレプリカ像では、TJはほとんど観察されず、DesやGJ数が著明に減少し、細胞間隙の拡大も観察された。

以上の結果より、VX2癌細胞ならびにヒト口腔扁平上皮癌細胞は浸潤、増殖が進行して悪性度が増すにつれてDesの数の減少と細胞間隙の拡大、微絨毛様細胞質突起の増加が観察されたことより、腫瘍細胞の微絨毛様突起の数の増加とDesの数の減少による細胞間接着の減少は、口腔扁平上皮癌細胞の浸潤能、増殖能、転移能の一つの指標であることが示唆された。

報告番号	齒論第 59 号	氏名	河野生司		
論文審査担当者	主査	杉原 一正			
	副査	植村 正憲	田中 卓男	野添 悦郎	

家兔移植 VX2 舌癌と頸部リンパ節転移巣および ヒト口腔扁平上皮癌細胞の電子顕微鏡学的観察

本研究では、家兔舌に移植された VX2 癌細胞の舌および頸部リンパ節転移巣における経時的増殖過程での VX2 癌細胞の表面微細構造と凍結切断像を走査型電子顕微鏡（以下、SEM）にて観察するとともに、ヒト口腔扁平上皮癌細胞をフリーズ・フラクチャー電子顕微鏡法（以下、FF 電顕法）で観察することにより、口腔扁平上皮癌細胞の浸潤、増殖、転移過程における細胞表面微細構造や細胞間結合装置の変化を明らかにすることを目的とした。

家兔舌筋内に移植され充実性増殖をなす VX2 癌細胞の移植後 1～2 週目の SEM 像では、直径 10 μm で不整形を呈し細胞表面は多数のサボテン状細胞質突起と微絨毛様突起に覆われており、その突起により隣在する細胞と密に連絡していた。移植された腫瘍の周辺部の増殖活性の高い VX2 癌細胞は、表面に多数のサボテン状細胞質突起や微絨毛様突起を有し細胞間結合も密であるのに対し、腫瘍中心部の変性、壊死像の強い VX2 癌細胞は微絨毛様突起の数も減少し、細胞表面が平坦で無構造になっているのが観察された。また、移植後 3～4 週目の充実性増殖をなす VX2 癌細胞の SEM 像では、細胞間結合が弱くなり、細胞表面には短い微絨毛様突起が多数観察された。一方、深頸リンパ節転移巣内の VX2 癌細胞は、直径 10 μm で球形の細胞として観察され、舌筋内の VX2 癌細胞と比較すると細胞間結合は弱く細胞間隙は拡大していたが、細くて短い微絨毛様突起が多数観察された。

ヒトの口腔癌より生検および手術時に得られた腫瘍組織ならびに正常口腔粘膜上皮を FF 電顕法に観察し両者の比較検討した結果、正常口腔粘膜上皮細胞の FF 電顕像では、desmosome (Des)、gap junction (GJ)、tight junction (TJ) などの細胞間結合装置がよく発達しているのが観察された。疣贅状癌細胞の FF 電顕像では、正常口腔粘膜上皮細胞とほぼ同じ頻度で細胞間結合装置が観察されたが、TJ の網目状構造は疎になっていた。ヒト口腔癌の原発巣ならびに頸部リンパ節転移巣における口腔扁平上皮癌細胞の FF 電顕像では、TJ はほとんど観察されず Des や GJ は正常口腔粘膜上皮細胞のそれらと比較して数が著明に減少し、Des を構成する膜内粒子の数も減少していた。

以上、VX2 癌細胞ならびにヒト口腔扁平上皮癌細胞は、浸潤、増殖が進行したり頸部リンパ節に転移巣を形成すると細胞表面の微絨毛様突起の増加、細胞間隙の拡大、Des などの細胞間結合装置の減少が観察された。これらの結果より、腫瘍細胞表面の微絨毛様突起の数の増加と細胞間隙の拡大、Des などの細胞間結合装置の減少は、口腔扁平上皮癌細胞の浸潤能、増殖能、転移能の一つの指標となりうることが示唆された。

以上のことから、本研究は口腔扁平上皮癌細胞の表面微細構造と細胞間結合装置の検索から、腫瘍細胞表面の微絨毛様突起の数の増加と細胞間隙の拡大、Des などの細胞間結合装置の減少は、口腔扁平上皮癌細胞の浸潤能、増殖能、転移能に関連していることを明らかにし、今後の口腔扁平上皮癌の浸潤、増殖、転移能の解明のための指標を与えるものと評価できる。

よって、本審査委員会は、本論文が学位論文として十分に価値あるものと判断した。

試験（学力確認）の結果の要旨および担当者

様式 16

報告番号	歯論第 59 号	氏名 河野生司		
論文審査担当者	主査	杉原 一正		
	副査	植村 正憲	田中 卓男	野添 悦郎

審査委員会は、平成 18 年 2 月 2 日（木）に、上記学位申請者に面接して、学位論文の内容について説明を求めると共に、これと関連する口腔癌の病理組織学的特徴、電子顕微鏡の基礎的事項などについても試問を行った結果、いずれも満足すべき回答が得られた。

なお、第一外国語試験（英語）については、平成 6 年 2 月 16 日（水）に実施された学位取得のための第一外国語試験に合格していることが確認された（登録番号第 185 号）。また、第二外国語試験（独語）についても独文和訳の結果から、大学院博士課程修了者と同等の学力があると判断された。

以上のことから、申請者は大学院歯学研究科博士課程修了者と同等の学力と識見を有するものと認め、博士（歯学）の学位を与えるに十分な資格をもつものと判断した。