涙腺多形性腺腫に関する免疫組織化学的検討

登坂 良雄，藤井 青
新潟市民病院眼科

要 約

涙腺の過形成1例，多形性腺腫3例に対してS-100蛋白とGFAP（glial fibrillary acidic protein）に対する各モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検索を行った．涙腺過形成は随伴するリンパ球浸潤以外には細胞異型は認められず，細胞学的に涙腺正常組織に相当するものと考えられた．涙腺過形成においてS-100蛋白は筋上皮細胞と一部の導管上皮に陽性に認められたが，GFAPの染色は認められなかった．多形性腺腫ではS-100蛋白とGFAPがミクソイド領域とコンドロイド領域の星芒状細胞に強陽性に認められた．多形性腺腫の充実性領域では紡錘形あるいは円形のS-100蛋白陽性細胞が見られ，GFAP陽性の円形細胞も認められた．S-100蛋白陽性細胞は筋上皮細胞に由来するものと考えられ，GFAPは腫瘍関連抗原と考えられた．これらの結果は近年報告されている唾液腺の多形性腺腫の免疫組織化学的所見と一致していた．涙腺の多形性腺腫も唾液腺の多形性腺腫と同様に筋上皮細胞の間葉系化生に基づくものであることが示唆された．（日眼会誌 94：307—313，1990）

キーワード：多形性腺腫，涙腺，免疫組織化学，S-100蛋白，GFAP（glial fibrillary acidic protein）

Immunohistochemical Study of Pleomorphic Adenoma of Lacrimal Gland

Yoshio Tosaka, Shigeru Fujii
Eye Clinic, Niigata Municipal Hospital

Abstract

We performed immunohistochemical examinations in 1 hypertrophy and 3 pleomorphic adenomas of the lacrimal glands with monoclonal antibodies to S-100 protein and GFAP (glial fibrillary acidic protein). It was thought that hypertophy of the lacrimal gland would be cytologicall equivalent to normal lacimal gland tissue because of the lack of cytological atypia except when accompanied by lymphoid infiltration. In hypertrophy of lacrimal gland, S-100 protein was identified in myoepithelial cells and parts of the ductal epithelia, but GFAP was not identified in any part. In pleomorphic adenomas of lacrimal glands, asteroid cells of myxoid and/or chondroid areas were strongly stained with both antibodies to S-100 protein and GFAP. In solid areas of pleomorphic adenomas, S-100 protein-positive fusiform or round cells and GFAP-positive round cells were observed. It was thought that S-100 protein-positive cells could have originated from myoepithelial cells and GFAP could be a tumor-associated antigen. The results coincided with recent immunohistochemical findings of pleomorphic adenoma of the salivary gland. It was suspected that pleomorphic adenoma of lacrimal gland could develop from mesenchymal metaplasia of myoepitheloal cells as in the case of pleomorphic adenoma of salivary gland. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94 : 307—313, 1990)

別刷請求先：〒950 新潟市紫竹山2－6－1 新潟市民病院眼科 登坂 良雄
（平成元年8月22日受付，平成元年9月13日改訂受理）
Reprint request to： Yoshio Tosaka, M.D. Eye Clinic, Niigata Municipal. Hospital.
Shichikuyama 2-6-1, Niigata 950, Japan
（Rceived August 22, 1989 and accepted in revised form September 13, 1989）

Key words: Pleomorphic adenoma, Lacrimal gland, Immunohistochemistry, S-100 protein, GFAP (glial fibrillary acidic protein)

I 緒 言

涙腺に発生する多形性腺腫は臨床病理学的に上皮性腫瘍に分類され，涙腺上皮性腫瘍の約半数を占めている[1]．多形性腺腫という名称は世界保健機構（WHO）が涙腺の上皮性腫瘍の分類において命名したもので，その組織学的所見の多様性による腫瘍の特性により記載されたものである．涙腺は唾液腺と類似の構造を持つ腺組織であり，頻度の差はあるが唾液腺と同様な腫瘍が発生するために，唾液腺腫瘍の分類がほぼ適用されている．

唾液腺および涙腺の多形性腺腫の組織学的特徴は，上皮性成分の他にミクソイド領域・コンドロイド領域と称される“間葉系”成分を含むことであり，1859年にBillroth[2]が最初に記載して以来，病理学者の議論の対象になってきた．1874年にMinssen[3]が上皮性組織と間葉系組織の混合性所見により“混合腫瘍”という名称を提起して以来，多形性腺腫は混合腫瘍とも呼ばれるようになった．多形性腺腫のいわゆる間葉系領域の発生の由来については様々な研究がなされてきたが，Willis[4]はこの腫瘍が上皮由来であるとし，“混合腫瘍”という名称に代わって“多形性腺腫”という名称を支持している．またMyliusら[5]は電顕を用いた研究でミクソイド・コンドロイド領域と筋上皮細胞の連続性を証明し，多形性腺腫の間葉系領域の母体が筋上皮細胞であることを主張した．眼科領域ではIwamotoら[6]が涙腺多形性腺腫の電顕的検索を行い，導管上皮とミクソイド・コンドロイド領域の細胞のフィラメントの類似性から“間葉系”細胞は上皮細胞の修飾されたものであると述べ，多形性腺腫の発生は上皮組織に由来すると述べた．

近年，免疫組織化学ことに酵素抗体法の発達に伴い，唾液腺の多形性腺腫の解析においても免疫組織化学的手法が応用されるようになってきた．1982年，Nakazatoら[7]は唾液腺多形性腺腫におけるミクソイド領域とコンドロイド領域にS-100蛋白とGFAPが存在していることを明らかにした．この研究では正常唾液腺ではS-100蛋白は染色が微弱であり，GFAPの染色は認められないことから，S-100蛋白とGFAPは腫瘍発育に伴って発現する腫瘍関連抗原であると述べている．またErlandsonら[8]も唾液腺多形性腺腫のミクソイド領域とコンドロイド領域におけるS-100蛋白とGFAPの存在を示したが，彼らは正常唾液腺の腺房と筋上皮にもS-100蛋白の存在を認めている．Haraら[9]は唾液腺においてS-100蛋白が筋上皮細胞のマーカーであることを強調し，“間葉系”領域を構成するS-100蛋白陽性細胞は筋上皮細胞に由来していると述べた．Steadら[10]も筋上皮細胞とミクソイド領域・コンドロイド領域の細胞との関連をS-100蛋白染色により示したが，彼らはGFAPもまた正常唾液腺の筋上皮に存在していると述べ，“間葉系”領域のGAFP陽性細胞も筋上皮由来であることを強調した．

一連の報告をまとめてみると，S-100蛋白は筋上皮のマーカーであり，GFAPは腫瘍関連抗原とする見解が一般的である．さらに多断性腺腫の“間葉系”領域を構成する多量のミクソイドまたはコンドロイド基質は化生した筋上皮細胞により産生され，多形性腺腫の組織発生は基本的に上皮由来であるとする考え方が多い．しかし今までの多形性腺腫に関する免疫組織化学的事実はすべて唾液腺に関して報告されてきたものであり，涙腺に関しては1例も報告がなされていない．我々は涙腺の多形性腺腫の組織学的解析において免疫組織化学の応用を試み，現在までに明らかにされた唾液腺多形性腺腫の免疫組織化学所見との比較を行った．

II 対象と方法

対象はリンパ球浸潤を伴った涙腺過形式1例，多形性腺腫3例である（表1）．

標本はすべて10％フォルマリン固定，パラフィン包埋されたものを用いた．HE染色に加え，以下のABC（avidin biotin complex）法による免疫組織化学染色を施行した．（1）脱パラ後ph 7.3 PBS（phoshate

表1 年齢，性，病理組織診断

症 例	年齢・性	病理組織診断	備 考
U. Y.	41，女	涙腺過形成	リンパ球浸潤を伴う
T. T.	44，女	多形性腺腫	涙腺浅葉に発生
Y. S.	22，男	多形性腺腫	
R. Y.	57，女	多形性腺腫	再発例

buffered saline）洗浄５分．３回，（2）0.3%H_2O_2 30分，（3）PBS 洗浄10分，３回，（4）正常山羊または馬血清，（5）１次血清，（6）PBS 洗浄10分，３回，（7）biotin 化抗家兎（またはマウス）抗体，30分，（8）PBS 洗浄10分，３回，（9）ABC 試薬，30分，（10）PBS 洗浄10分，３回，（11）10mg/50ml DAB（diaminobenzidine），0.02M トリス緩衝液．0.02M H_2O_2．

使用したモノクローナル抗体は S-100（Immuno Biological Lab.），GFAP（glial fibrillary acidic protein：DAKO 社）である．

III　結　　果

症例 U.Y. 涙腺過形成：細胞異型を伴わない涙腺腺房の増殖が特徴的であり，所々に胚中心形成を伴うリンパ球の浸潤が見られた（図１）．S-100免疫染色では腺房周囲の筋上皮細胞に染色が認められ，導管細胞の胞体にも弱い染色が認められたが，腺房細胞の染色は殆ど観察されなかった（図２）．GFAP 免疫染色では腺房・導管・リンパ球浸潤のいかなる細胞も染色されなかった．

症例 T.T. 多形性腺腫：典型的な多形性腺腫の組織像を呈し，ミクソイド領域（図３）とコンドロイド領域（図４）の形成が認められた．S-100免疫染色では導管上皮は染色微弱，腫瘍の充実性領域は中等度の染色性を示したが，ミクソイド領域（図５）とコンドロイド領域（図６）の細胞には強い染色が認められた．これらの細胞はミクソイド～コンドロイド基質の中へタコ足状あるいは星芒状に突起を伸ばしているのが特徴的であった．GFAP 免疫染色では S-100免疫染色に比して導管上皮と腫瘍の充実性領域の染色は殆ど認めら

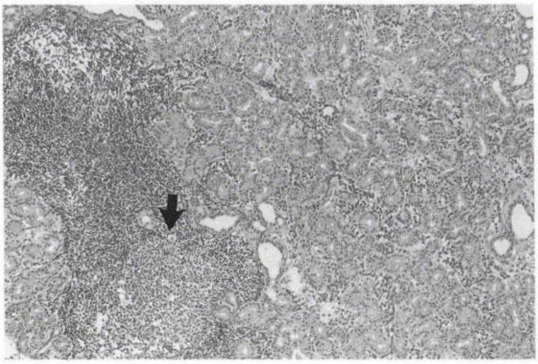

図１　症例 U.Y. 涙腺過形成の HE 染色像．腺房と導管に細胞異型は見られないが，リンパ球浸潤を伴っており，胚中心の形成（矢印）が認められる（HE 染色，×200）

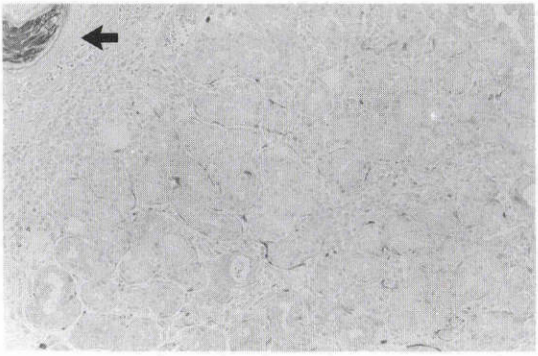

図２　症例 U.Y. 涙腺過形成の S-100免疫染色像．腺房を篭の様に取り囲む筋上皮細胞が染色されている．矢印は染色対照としての神経（S-100免疫染色，×200）．

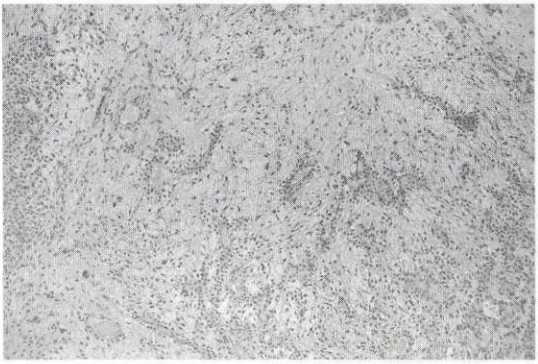

図３　症例 T.T. 多形性腺腫の HE 染色像．ミクソイド領域の形成が認められる（HE 染色，×200）．

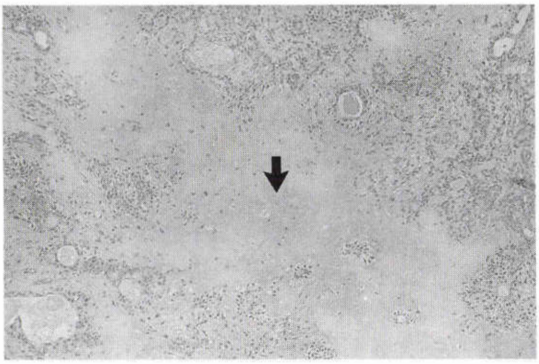

図４　症例 T.T. 多形性腺腫の HE 染色像．コンドロイド領域の形成が認められる．矢印は軟骨様化生の領域を示す（HE 染色，×200）．

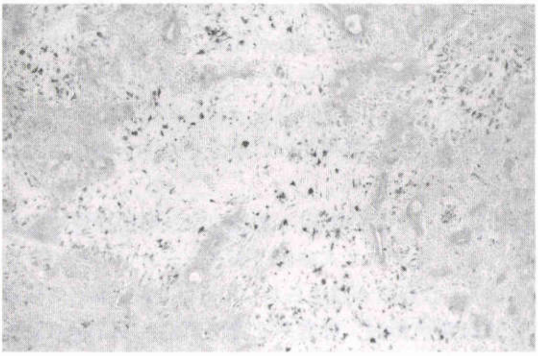

図5　症例 T.T. 多形性腺腫ミクソイド領域の S-100 免疫染色像．星芒状あるいはタコ足状の染色陽性細胞が認められる．これらの細胞に比べ，充実性領域の細胞は染色性が弱い（S-100免疫染色，×200）．

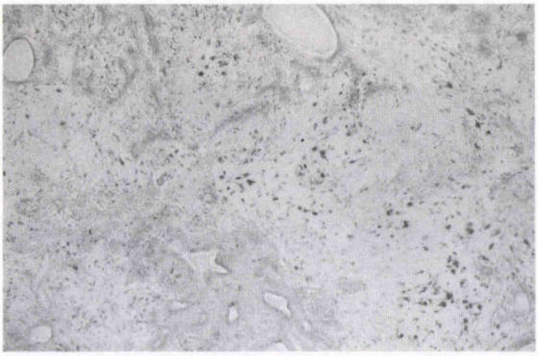

図6　症例 T.T. 多形性腺腫コンドロイド領域の S-100免疫染色像．ミクソイド領域と同様な染色パターンを示す（S-100免疫染色，×200）．

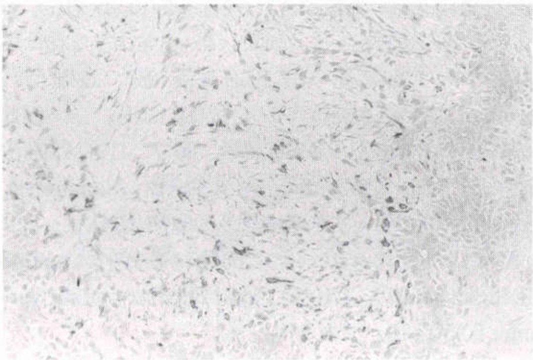

図7　症例 T.T. 多形性腺腫ミクソイド領域の GFAP 免疫染色像．星芒状の陽性細胞が認められる（GFAP 免疫染色，×400）．

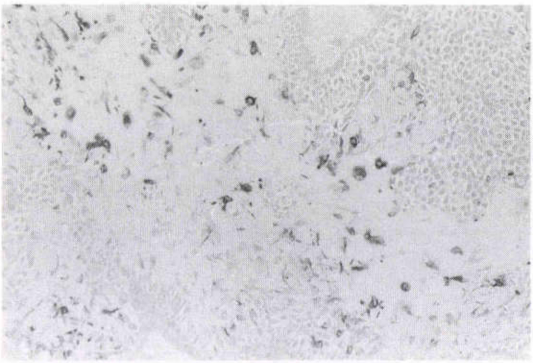

図8　症例 T.T.　多形性腺腫コンドロイド領域の GFAP 免疫染色像．星芒状の陽性細胞が認められるが，S-100免疫染色に比してややフィラメンタスな染色形態を示している（GFAP 免疫染色，×400）．

れなかったが，ミクソイド領域（図7）とコンドロイド領域（図8）の細胞には強い染色が認められた．これらの細胞は S-100免疫染色の結果と同様に基質の中へ突起を伸ばしている所見が認められたが，さらにフィラメンタスな染色形態を示した．

症例 Y.S. 多形性腺腫：ミクソイド領域の形成は認められるが，コンドロイド領域の形成は少なかった．光顕でも導管周囲の毛羽立った細胞がミクソイド領域へと連続している所見が認められた（図9）．S-100免疫染色ではミクソイド領域に症例 T.T. と同様な星芒状細胞の染色が見られたが，ミクソイド領域以外では充実性領域において紡錘形あるいは円形の染色陽性細胞が認められた（図10，11）．導管上皮は S-100免疫染色では微弱陽性を示した．GFAP 免疫染色ではミクソイド領域の細胞に症例 T.T. と同様なパターンで星芒状

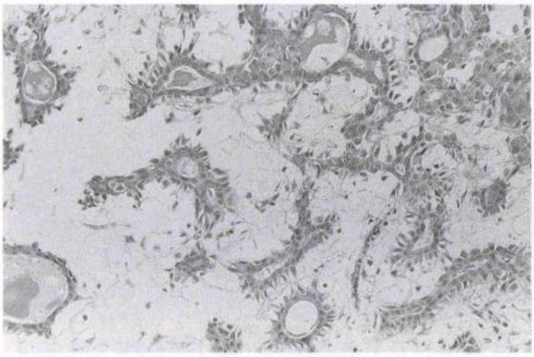

図9　症例 Y.S. 多形性腺腫の HE 染色像．導管周囲の毛羽立った細胞とミクソイド領域との連絡が認められる（HEC 染色，×400）．

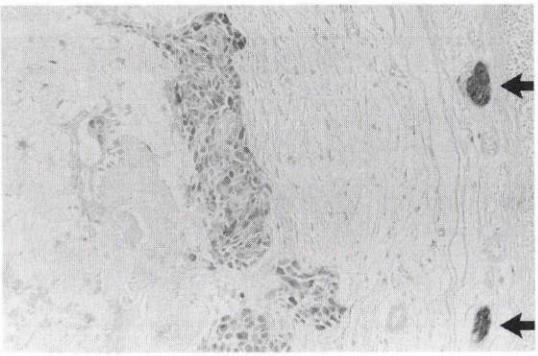

図10　症例 Y.S. 多形性腺腫充実性領域の S-100陽性細胞集簇．これらの細胞は紡錘形あるいは円形に近い形態をなしている．矢印は染色対照としての神経（S-100免疫染色，×400）．

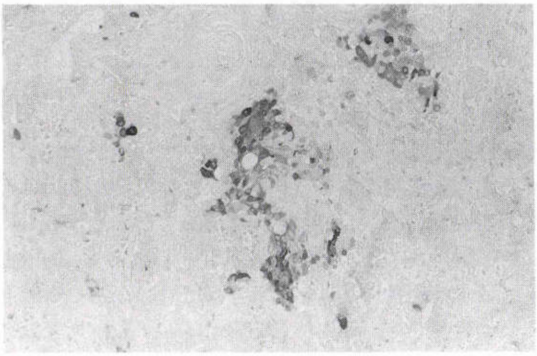

図11　症例 Y.S. 多形性腺腫充実性領域の S-100陽性細胞島（S-100免疫染色，×400）

細胞の染色が認められた(図12)．さらに充実性領域にも染色陽性細胞が見られたが，これらの細胞は胞体が円形のものであり，ミクソイド領域やコンドロイド領域で認められた星芒状細胞とは形態が異なっていた(図13)．導管上皮は GFAP 陰性であった．

症例 R.Y. 多形性腺腫（再発例）：他の症例に比して充実性領域が広く，ミクソイド領域やコンドロイド領域に代わって硝子化した基質形成が見られた（図14）．導管の残存は殆ど認められなかった．S-100免疫染色では充実性領域の細胞に染色が認められたが，染色強陽性の細胞はごく少数で全体的には染色は微弱であった．一方，GFAP 染色では充実性領域の円形細胞に染色が見られたが，他の症例と異なり核染が強い傾向が認められた(図15)．なお硝子化した領域はいずれの免疫染色でも染色は認められなかった．

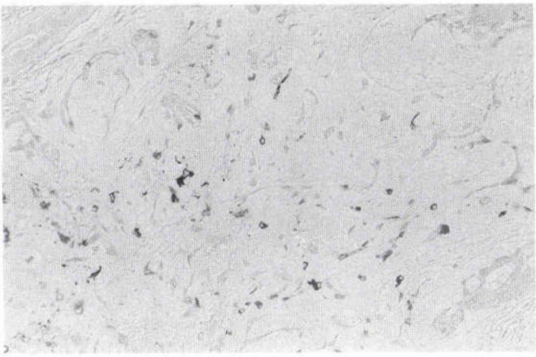

図12　症例 Y.S. 多形性腺腫ミクソイド領域の GFAP 免疫染色像．症例 T.T. と同様に星芒状の陽性細胞が認められる（GFAP 免疫染色，×400）．

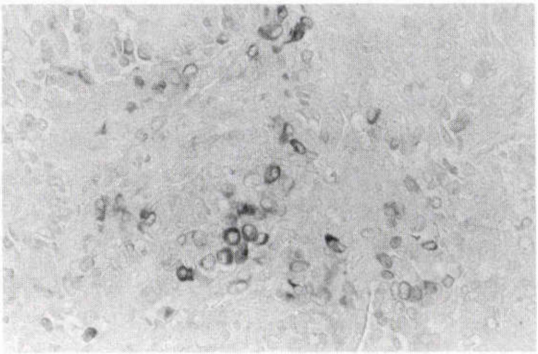

図13　症例 Y.S. 多形性腺腫充実性領域の GFAP 免疫染色像．円形の陽性細胞が認められる（GFAP 免疫染色，×800）．

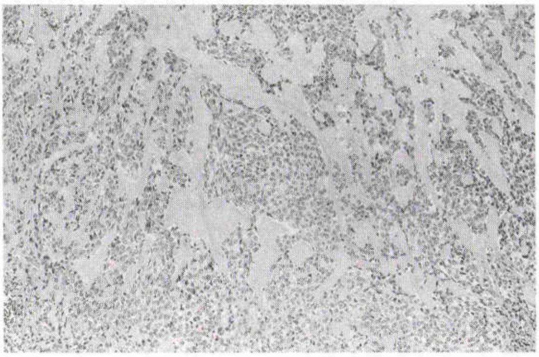

図14　症例 R.Y. 多形性腺腫（再発例）の HE 染色像．ミクソイド領域やコンドロイド領域の形成がなく，硝子化した基質が著明である．導管の残存も殆ど見られない（HE 染色，×200）．

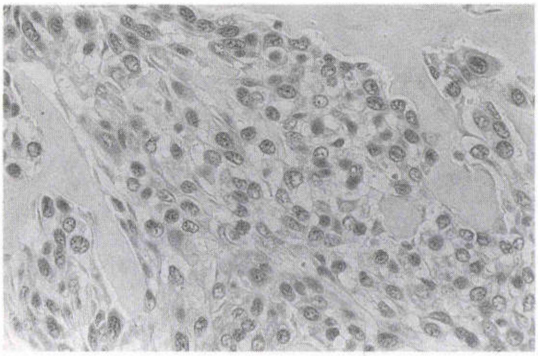

図15　症例 R.Y. の GFAP 免疫染色像．胞体よりも核に強く染色が認められる（GFAP 免疫染色，×800）．

表 2　症例の病理組織所見，S-100染色，GFAP 染色

	病理組織所見	S-100 染色	GFAP 染色
症例U．Y．	涙腺過形成		
腺房細胞		±	−
導管上皮		±〜+	−
筋上皮		+	−
症例T．T．	多形性腺腫		
導管上皮		±〜+	−
ミクソイド領域		++（星芒状）	++（星芒状）
コンドロイド領域		++（星芒状）	++（星芒状）
充実性領域		+	−
症例Y．S．	多形性腺腫		
導管上皮		±〜−	−
ミクソイド領域		++（星芒状）	++（星芒状）
コンドロイド領域	形成なし	……	……
充実性領域		++（紡錘〜円形）	++（円形）
症例R．Y．	多形性腺腫		
導管上皮	残存は稀	……	……
ミクソイド領域	形成なし	……	……
コンドロイド領域	形成なし	……	……
充実性領域	形成高度	±〜+	+（核>胞体）

以上の結果を表 2 に示した．

IV　考　　按

涙腺の正常組織を得ることは一般的に困難であるが，我々の用いた涙腺過形成はリンパ球浸潤を伴っているものの腺房や導管の細胞異型もなく，染色の対照として正常組織とほぼ同等と考えてよいものと思われる．涙腺過形成において S-100蛋白の存在が示されたのは腺房周囲の筋上皮細胞と導管上皮であった．唾液腺の他乳腺や汗腺のような筋上皮を含む外分泌腺においては，導管上皮の S-100蛋白の染色性については報告者によって差があるが，筋上皮細胞が S-100蛋白陽性であることに関しては完全な一致を見ている[7)~12)]．従って涙腺正常組織においても筋上皮細胞のマーカーとして S-100蛋白を考えてもよいと思われる．涙腺多形性腺腫では腫瘍組織により正常組織は置換され，筋上皮細胞を形態学的に同定することは困難であるが，ミクソイド・コンドロイド領域および充実性領域にも認められた S-100蛋白陽性細胞は筋上皮由来の可能性を示唆していると考えられる．ことにミクソイド・コンドロイド領域のタコ足状または星芒状の突起を持つ大型の細胞は S-100染色強陽性であり，多形性腺腫の特徴的所見とされる“間葉系”領域の発生に筋上皮細胞が強く関与していることを示している．従って，涙腺多形性腺腫の発生も唾液腺多形性腺腫の発生と同様に上皮組織由来であることが考えられる．唾液腺多形性腺腫の研究では，これらの“間葉系”領域はすべて keratin 陽性とされており，現在では上皮性であることが裏付けられている[13)]．

一方，症例 Y.S. で認められた充実性領域の S-100蛋白陽性細胞はミクソイド領域やコンドロイド領域で認められた星芒状細胞とやや異なり，紡錘形あるいは円形の染色形態を示しており，細胞島を形成しているのが特徴的であった．細胞の集簇性からこの S-100蛋白陽性領域は上皮性と考えられるが，S-100蛋白の導管上皮の染色性（±〜+）から類推すると，充実性領域にこのような S-100蛋白陽性の細胞島を部分的に形成する可能性が示唆される．あるいはミクソイド〜コンドロイド領域を形成する可能性を持った筋上皮系列の細胞であることも十分に考えられる．

GFAP は中間径フィラメントに属し，グリア組織のマーカーであるとされている．1982年に Nakazato ら[7)]は唾液腺多形性腺腫における GFAP の存在を示したが，これは GFAP が神経組織（グリア組織）以外に認められた唯一の例外的事項である．Nakazato らによれば GFAP は正常唾液腺には存在が認められないが，多形性腺腫において初めて出現してくるとされ，GFAP が腫瘍発生に伴って出現する腫瘍関連抗原ではないかと推測している．また彼らは多形性腺腫で認められる GFAP が中枢神経系の GFAP と同一の分子量を持つことを免疫ブロット法により確認している[11)]．我々の結果でも GFAP は涙腺過形成では存在が認められず，多形性腺腫におけるミクソイド・コンドロイド領域で強く認められた．これらの GFAP 陽性細胞の分布は S-100蛋白陽性細胞の分布と概ね一致して

いたが, S-100蛋白よりもフィラメンタスな染色形態を示したことは, GAFP本来の中間径フィラメントの示現が加わっているものと考えられる. 再発例の多形性腺腫（症例R.Y.）ではミクソイド・コンドロイド領域や管腔構造が認められず, 多形性腺腫の亜型としてのcellular typeまたはsclerosing type[14]に相当するものと考えられるが, GAFPの染色性は他の多形性腺腫２例と異なり, 核染を主体とするものであった. GFAPが多形性腺腫における腫瘍関連抗原と考えると, 再発という増殖能力旺盛な状況下では核でGFAPが強く認められることも妥当と思われる.

涙腺多形性腺腫は涙腺腫瘍の中では比較的頻度の多いものであるが, 唾液腺の多形性腺腫に比してその数ははるかに少なく, 免疫組織化学的な研究も殆ど行なわれていない. 我々の研究は唾液腺多形性腺腫の免疫組織化学的事実が涙腺の多形性腺腫にも該当するか否かを検証したものに過ぎないが, これを契機として涙腺に関する免疫組織化学的研究がさらに発展することを期待したい.

本稿の要旨は第93回日本眼科学会総会にて発表した.

文　献

1) **Rootman J**: Disease of the Orbit, New York, Lippincott Co, 391—395, 1988.
2) **Billroth T**: Beobach tungen über Geschwürste der Speichelrüsen. Virchoes Arch [Pathol Anat] 17 : 357—375, 1859.
3) **Minssen H**: Uber gemischte Geschwulste der Parotis. Dissentation, Gottingen, 1874.
4) **Willis RA**: Pathology of Tumors, Ed 3, London, Butterworths, 22, 1960.
5) **Mylius EA**: The identification and the role of the myoepithelial cells in salivary gland tumors. Acta Pathol Microbiol Scand 50(Suppl 139) : 1—59, 1960.
6) **Iwamoto T, Jakobiec FA**: A comparative ultrastructural study of the normal lacrimal gland and its epithelial tumors. Hum Pathol 13 : 236—262, 1982.
7) **Nakazato Y, Ishizaki J, Takahashi K,** et al: Localization of S-100 protein and glial fibrillary acidic protein related antigen in pleomorphic adenoma of the salivary glands. Lab Invest 46 : 621—626, 1982.
8) **Erlandson RA, Cardon-Cardo C, Higgins PJ**: Histogenesis of benign pleomorphic adenoma (mixed tumor) of the major salivary glands. Am J Surg Pathol 8 : 803—820, 1984.
9) **Hara K, Ito M, Takeuchi J,** et al: Distribution of S-100b protein in normal salivary glands and salivary gland tumors. Virchows Arch [Pathol Anat] 401 : 237—249, 1983.
10) **Stead R, Koutozoglou T, Riddel RM**: Immunohistochemical distribution of pleomorphic adenoma of the salivary gland. Glial fibrillary acidic protein-like immunoreactivity identifies a major myoepithelial component. Hum Pathol 19 : 32—40, 1988.
11) **Nakazato Y, Ishida Y, Takahashi K,** et al: Immunohistochemical distribution of S-100 protein and glial fibrillary acidic protein in normal and neoplastic salivary gland. Virchows Arch [Pathol Anat] 405 : 299—310, 1985.
12) **Kahn HJ, Marks A, Thom H,** et al: Role of antibody to S-100 protein in diagnostic pathlology. Am J Clin Pathol 79 : 341—347, 1983.
13) **Morinaga S, Nakajima T, Shimosato Y**: Normal and neoplastic myoepithelial cells in salivary gland. Hum Pathol 18: 1218—1226, 1987.
14) **長尾孝一**：唾液腺腫瘍の鑑別診断（1）. 病理と臨床　5 : 1307—1311, 1986.