

# 犬の嗅神経上皮腫に関する病理学的研究

山口大学大学院連合獣医学研究科

平成10年度入学

原 一弥

## 目 次

第 1 章	犬における鼻腔内悪性上皮性腫瘍の病理学的診断ならびに分類	
	緒言	1
	材料および方法	2
	結果	2
	考察	3
第 2 章	犬の鼻腔内に発生した未分化癌の病理学的研究	
	緒言	8
	材料および方法	10
	結果	11
	考察	12
第 3 章	犬の鼻腔内発生未分化癌と p53 癌抑制遺伝子の変異との関連性	
	緒言	20
	材料および方法	21
	結果	21
	考察	22

総括	28
引用文献	30
謝辞	37

## 第1章

### 犬における鼻腔内悪性上皮性腫瘍の病理学的診断ならびに分類

#### 緒言

腫瘍性疾患は、犬の高齢化に伴い、小動物臨床の現場においてその診断および治療の大きな割合を占めつつある。近年、腫瘍性疾患に対する治療は、生検材料の病理学的診断による腫瘍の性質（種類、悪性度、遠隔転移の有無、臨床的予後）を考慮しながら行われることが多い。そのため、臨床医にとって、腫瘍の性質を理解することは、最適な治療方法および正確な Informed Consent を導く。動物の鼻腔内腫瘍に関しての体系的な病理学的研究は乏しく、犬での発生（上部気道腫瘍）は 100,000 件でわずか 2.5 例である [22]。

長期間にわたる鼻汁排出、鼻出血、くしゃみなどの上部気道障害が臨床的に認められた場合、鼻腔内に発生した腫瘍がその原因であることが多い。鼻腔内の腫瘍は、上皮由来の乳頭腫、腺腫、扁平上皮癌、腺癌、未分化癌および非上皮由来の線維腫（肉腫）、軟骨腫（肉腫）、骨腫（肉腫）、粘液腫（肉腫）、肥満細胞腫、血管腫（肉腫）、脂肪腫（肉腫）、未分化肉腫などに分類される [22]。犬の上部気道内腫瘍 81 例を検索し、64 例が上皮由来であったと Moulton は記載している [22]。犬の鼻腔内に発生した癌のほとんどは鼻甲介を被う粘膜上皮細胞由来であると考えられており、犬の鼻腔内に発生した 217 例の癌のうち、73 例が扁平上皮癌、91 例が腺癌、そして残りの 53 例が未分化癌であったと報告されている [22]。また、カリフォルニア大学の調査では 63 例の鼻腔内の癌のうち、22 例が扁平上皮癌、18 例が腺癌、23 例が未分化癌であった [22]。一般に、鼻腔内に発生したこれらの未分化癌は、腺構造をほとんど欠き、小円形、紡錘形あるいは多形の腫瘍細胞が束状充実性に増殖する傾向があると報告されている [22]。

そこで著者は、鳥取大学、帯広畜産大学および北海道大学にて1990年～2000年に登録されている症例、鼻腔内に発生した犬の悪性腫瘍25例を病理組織学的に分類した。

#### 材料および方法

鳥取大学、帯広畜産大学および北海道大学にて1990年～2000年に登録されている症例、犬の鼻腔内に発生した悪性腫瘍25例を検索の対象とした。腫瘍組織を、10%中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋の後、常法に従いヘマトキシリン・エオジン（HE）染色標本を作製し、顕微鏡観察を実施した。

症例の年齢は4歳から17歳。品種は柴、シェットランドシープドッグ、ゴールデンレトリバー、雑種等様々であった。臨床症状として、数週間から数ヶ月にわたる膿性鼻汁の排出、鼻出血、鼻梁部の腫脹、頻回のくしゃみ、呼吸困難等が認められた。これらの所見は鼻腔内の腫瘍の大きさにおおむね一致して強く認められた。経過観察が可能であった未分化癌7例のうち5例は、腫瘍の再発あるいは転移を伴っていた。

腫瘍の大きさは、米粒大から小児手拳大。白色あるいは赤色充実性で、前頭洞あるいは篩板を超えて嗅球にまで浸潤増殖するものもあった。1例では、耳下腺リンパ節の腫大を伴っていた。

#### 結 果

組織学的所見：検索した25例の腫瘍を、*Tumors in Domestic Animals* (Moulton JE, 1990) に準じて、扁平上皮癌4例、腺癌12例および未分化癌9例に分類した。扁平上皮癌は、有糸分裂像の散見を伴った、好酸性の細胞質を持つ

島状および乳頭状の細胞により構成されていた。また、扁平上皮癌に特徴的とされるケラチン真珠構造が認められた。炎症性細胞の浸潤を伴った腫瘍細胞の壊死がみられた。腺癌は、クロマチンに富む核と好塩基性の細胞質を持ち、異型を有し、充実状および腺状構造を示していた。腺癌のいくつかには、円柱線毛上皮様構造を示し、偽層状および乳頭状増殖を特徴とするものがみられた。一部の腺癌は、管状および充実状を示し、腫瘍細胞の細胞質内好酸性顆粒を特徴としていた。腺癌に見られる有糸分裂像は、ほとんど認められないものから頻繁に見られるものまで様々で、症例により異なっていた。未分化癌は、好塩基性の細胞質と異型を示し、クロマチンに富む腫瘍細胞が円柱状あるいは丈の高い細胞が管状構造をとる部分（図 1）と線維性の隔壁により囲まれた紡錘形の細胞が充実性増殖を示す部分（図 2）とが混在し、その割合は症例により異なっていた。未分化癌 9 例において、ロゼット様構造（図 3）が 5 例に、柵状配列（図 4）が 4 例に見られた。

顕著な有糸分裂像を伴う腫瘍組織には、出血、腫瘍組織それ自体の壊死および炎症性細胞浸潤が見られた。また、耳下腺リンパ節の腫大を伴っていた症例は未分化癌と診断され、同様の組織構造を示す腫瘍組織のリンパ節転移が認められた。

## 考 察

動物の鼻腔内上皮系腫瘍に関する体系的な病理学的研究は乏しく、犬での発生（上部気道腫瘍）は稀である[22]。鼻腔内の腫瘍は、上皮由来の乳頭腫、腺腫、扁平上皮癌、腺癌、未分化癌および非上皮由来の線維腫（肉腫）、軟骨腫（肉腫）、骨腫（肉腫）、粘液腫（肉腫）、肥満細胞腫、血管腫（肉腫）、脂肪腫（肉腫）、未分化肉腫などに分類される[22]。犬の上部気道内腫瘍 81 例を検索し、64 例が

上皮由来であったと Moulton は記載している [22]。犬の鼻腔内に発生した癌のほとんどは鼻甲介を被う粘膜上皮細胞由来であると考えられており、犬の鼻腔内に発生した 217 例の癌のうち、73 例が扁平上皮癌、91 例が腺癌、そして残りの 53 例が未分化癌であったと報告されている [22]。また、カリフォルニア大学の調査では 63 例の鼻腔内の癌のうち、22 例が扁平上皮癌、18 例が腺癌、23 例が未分化癌であった [22]。このように、鼻腔内の癌の約 25~40%が未分化癌と診断されており、他の臓器・組織での発生に比べ未分化癌の割合が高く大変興味深い。少ない症例数であるが、今回検索の鼻腔内発生 of 悪性腫瘍 25 例は、扁平上皮癌 4 例、腺癌 12 例および未分化癌 9 例であり、Moulton の報告 [22] に示されているそれぞれのタイプの腫瘍の発生割合とほぼ一致していた。

組織学的検索では、扁平上皮癌および腺癌に、比較的分化した偽層状の円柱線毛上皮様構造が認められ、腫瘍細胞が呼吸上皮に由来することが示唆された。また、一部の腺癌は、管状および充実状を示し、腫瘍細胞の細胞質内好酸性顆粒を特徴としていた。鼻腺 (Olfactory gland) は鼻粘膜下に存在し、導管を粘膜表面に開口している [43]。鼻腺由来の腺癌は、細胞質内に Periodic acid- Schiff (PAS) 陽性の顆粒もしくは空胞が特徴とされる [9]。今回の症例において、一部の腺癌は、細胞質内に好酸性の顆粒を持ち、粘膜下組織に存在する鼻腺に由来することが示唆されたが、異型性が強く、その起源を特定することはできなかった。

未分化癌は、円柱状あるいは丈の高い細胞が管状構造をとる部分と線維性の隔壁により囲まれた紡錘形の細胞が充実性増殖を示す部分とが混在し、その割合は症例により異なっていた。未分化癌 9 例において、ロゼット様構造が 5 例に、柵状配列が 4 例に見られた。未分化癌には、腺構造がほとんど認められず、小円形、紡錘形あるいは多形の腫瘍細胞が束状充実性に増殖する傾向があると報告されている [22]。今回の 4 例の腫瘍は、いずれも立方形あるいは円柱状の上皮様細

胞が増殖する部分と紡錘形の細胞が充実性増殖を示す部分の二つのパターンを示した。すなわち、上皮性細胞が作る真性ロゼットあるいは腺構造および未分化で小型の核と線維性突起が集合する部分である。また、二つの異なった腫瘍細胞から構成されている未分化癌は、再発や転移する傾向が強く、予後は非常に悪かった。今回の検索により、未分化癌と診断される腫瘍の中に上皮細胞と非上皮細胞の特徴を有し、再発や転移の強い傾向を持つ未分化癌の存在が明らかになった。



図1 未分化癌。犬、雑種、9歳。腫瘍組織内に見られた円柱状あるいは  
丈の高い細胞によって構成される管状構造。(HE染色 x 600)

図2 未分化癌。犬、雑種、9歳。線維性隔壁によって囲まれた小円形核を有  
する紡錘形細胞の充実性増殖。(HE染色 x 600)

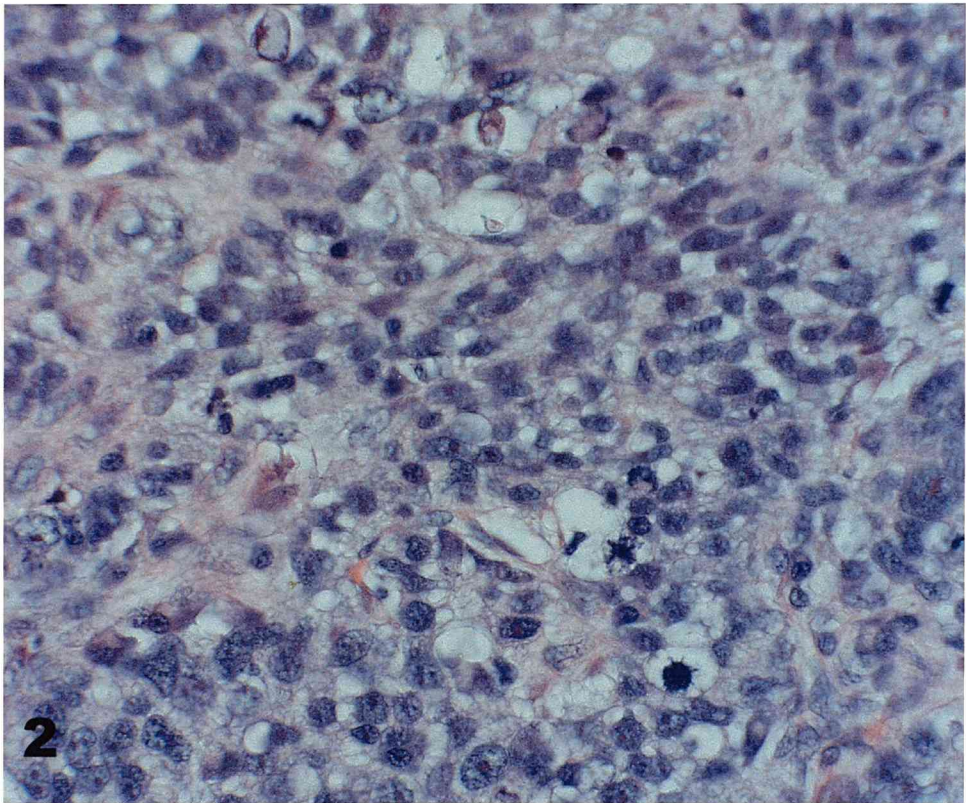
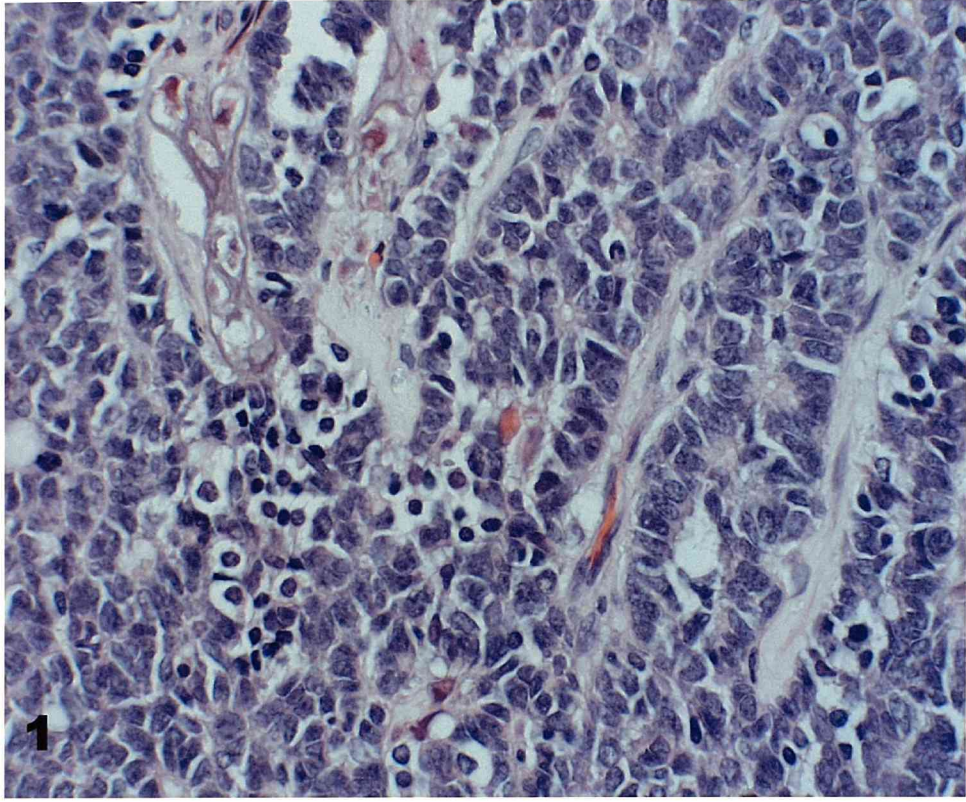
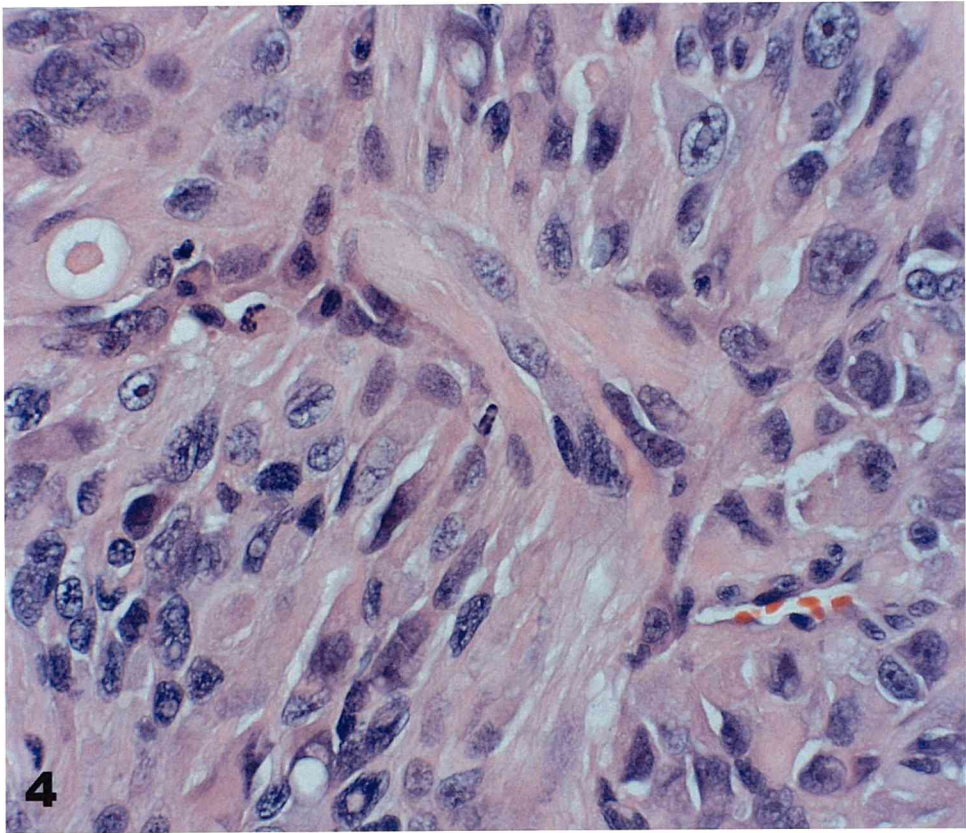
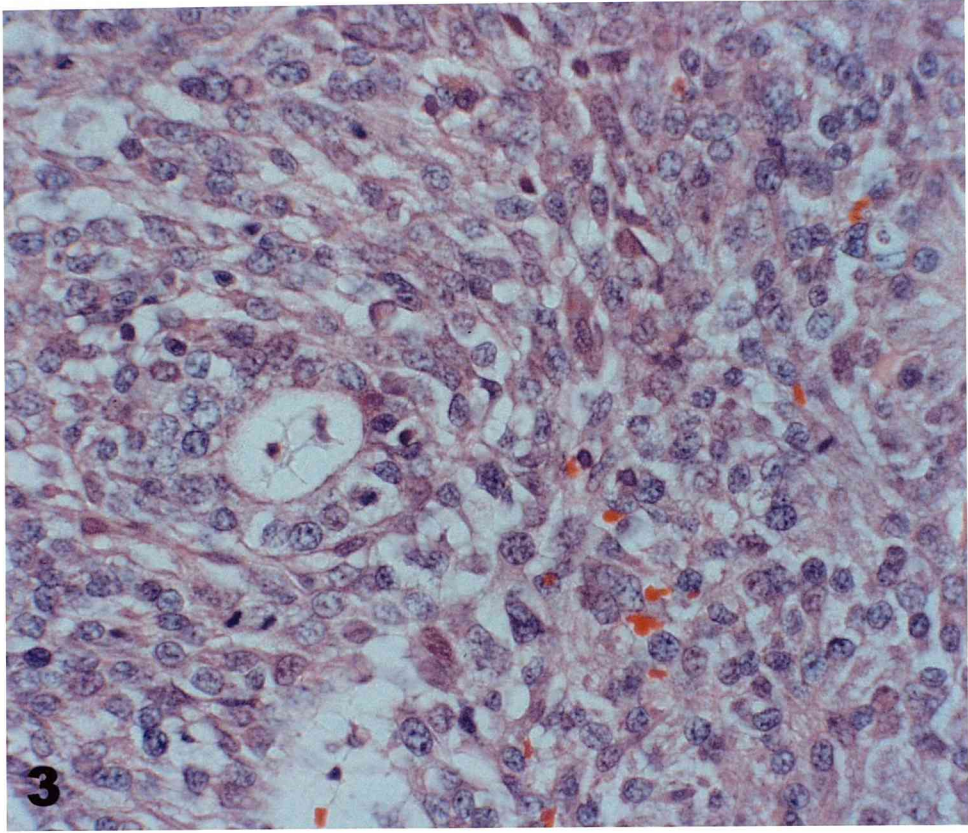


図3 未分化癌。犬、雑種、9歳。紡錘形腫瘍細胞の増殖巣におけるロゼット様構造。(HE染色 x 600)

図4 未分化癌。犬、雑種、9歳。紡錘形腫瘍細胞の柵状配列。(HE染色 x 600)



## 第2章

### 犬の鼻腔内に発生した未分化癌の病理学的研究

#### 緒言

鼻腔内の腫瘍は、上皮由来の乳頭腫、腺腫、扁平上皮癌、腺癌、未分化癌および非上皮由来の線維腫（肉腫）、軟骨腫（肉腫）、骨腫（骨肉腫）、粘液腫（肉腫）、肥満細胞腫、血管腫（肉腫）、脂肪腫（肉腫）、未分化肉腫などに分類される[22]。犬の上部気道内腫瘍 81 例を検索し、64 例が上皮由来であったと Moulton は記載している[22]。犬の鼻腔内に発生した癌のほとんどは鼻甲介を被う粘膜上皮細胞由来であると考えられており、犬の鼻腔内に発生した 217 例の癌のうち、73 例が扁平上皮癌、91 例が腺癌、そして残りの 53 例が未分化癌であったと報告されている[22]。また、カリフォルニア大学の調査では 63 例の鼻腔内の癌のうち、22 例が扁平上皮癌、18 例が腺癌、23 例が未分化癌であった[22]。このように、鼻腔内の癌の約 25~40%が未分化癌と診断されており、他の臓器・組織での発生に比べ未分化癌の割合が高く大変興味深い。

ヒトにおいて、嗅神経芽腫 Olfactory neuroblastoma は、鼻腔内に発生する稀な神経性腫瘍の総称（属名）である。Berger ら [4]の最初の記載以来、その発生起源、名称、分類に多くの議論がある。この中には Olfactory neuroblastoma [2, 8, 11, 28]、Olfactory esthesioneuroblastoma [5, 24]、Esthesioneurocytoma [3]、Esthesioneuroepithelioma [4]、Olfactory neuroepithelioma [32]、Intranasal neuroblastoma [29]および Olfactory placode tumor [38]などの名称が含まれている。腫瘍細胞の細胞的特徴は、リンパ球と同大あるいはそれより多少大きい小型の細胞で、その細胞境界は不明瞭である。しかし、分化の程度が低くなるにつれ、核の腫大や核型の不整が出現し、核小体も明瞭になる。定型的

な例では、腫瘍細胞は密な細胞配列をとり、シート状に増殖する。このシート状増殖巣が血管の豊富な柵状間質により分けられ、互いに連続する小葉構造を成す。一方、明瞭な内腔を有する円柱上皮の同心円配列すなわち真性ロゼットの形成をみるものもあり、それは嗅上皮の支持細胞由来と考えられている。そのほか、細胞が同心円状に配列して、その内部を細胞突起である細線維が満たす Homer-Wright 型ロゼットの形成や細胞間に豊富な細線維の出現も見られる。このように、本腫瘍には、単一の像ではないいくつかの特徴的な像が見られ、これはこの腫瘍の組織発生、分化ということと密接に関連している[12]。

近年、電子顕微鏡および免疫組織化学的検討から、Olfactory neuroblastoma は上鼻腔に発生する神経性腫瘍であるが、その性格は末梢交感神経系に好発するいわゆる古典的 Neuroblastoma と同一のもの (regional neural crest 由来) であり、その嗅上皮起源説に強い疑いが持たれている [8]。そして、1993 年の新しい WHO 分類では、Olfactory neuroblastoma の項目に、variant として新たに嗅神経上皮腫 Olfactory neuroepithelioma が追加された [30]。しかし、ヒトにおいても、本腫瘍の発生は稀であり、特徴や起源に関しての体系的な研究は乏しい。1999 年の動物の新しい WHO 分類においても、Olfactory neuroblastoma は神経上皮の前駆細胞由来とされ、Olfactory neuroepithelioma との病理学的な区別はない[17]。

本研究の目的は、犬の鼻腔に発生した悪性腫瘍を分類し、そのうち特に未分化癌と過去に診断された症例を免疫組織学および電子顕微鏡学的に再検索し、未分化癌の細胞起源を検討することにある。

## 材料および方法

組織学的および免疫組織学的検索：鳥取大学、帯広畜産大学および北海道大学にて1990年～2000年に実施した病理組織診断症例のうち、鼻腔内に発生した犬の悪性腫瘍25例を検索の対象とした。腫瘍組織を、10%中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋の後、常法に従いヘマトキシリン・エオジン（HE）染色標本を作製し、顕微鏡観察を実施した。その中で、未分化癌と診断した9例の腫瘍（表1）について、免疫組織学的に検索した。一次抗体は、モノクローナル抗サイトケラチン抗体（10倍希釈、DAKO, U. S. A.）、抗ニューロフィラメント抗体（10倍希釈、Sanbio b.v., Netherlands）を用いた。また、症例3については、嗅細胞に対するマーカーとしてポリクローナル抗カルノシン抗体（2,000倍希釈、藤田保健衛生大学 医学部解剖学教室 酒井博士より分与）およびモノクローナル抗シナプトフィジン抗体（50倍希釈、DAKO, U. S. A.）を使用した。切片を脱パラフィン後、トリプシン処理、0.3%過酸化水素水による内因性ペルオキシターゼ処理および正常ヤギ血清による非特異反応阻止の前処理を行った。一次抗体を、over night、4°Cでインキュベートし、標識ストレプトアビジン・ビオチン（LSAB法、DAKO, U. S. A.）を用いて標識し、diaminobenzidine（D A B）で発色した。なお、対比染色としてメチルグリーン染色を施した。

電子顕微鏡学的検索：電子顕微鏡学的検索では、10%中性緩衝ホルマリン固定された症例3の検査材料を1mm<sup>3</sup>に細切した後、0.1M緩衝液（pH 7.4）で洗浄し、1%オスミウム酸固定し、アルコール系列で脱水後、Epon 812に包埋した。超薄切片は酢酸ウランと硝酸鉛で二重染色し、電子顕微鏡（JCM-100CXII）で観察した。

## 結 果

組織学的所見：検索 25 例の腫瘍は、ケラチン真珠構造を特徴とする扁平上皮癌 4 例、腺構造の形成が著明な腺癌 12 例および未分化癌 9 例に分類された。未分化癌は、円柱状あるいは丈の高い細胞が管状構造をとる部分と線維性の隔壁により囲まれた紡錘形の細胞が充実性増殖を示す部分とが混在し（図 5）、その割合は症例により異なっていた。未分化癌 9 例において、ロゼット様構造が 5 例に（表 1）、柵状配列が 4 例に見られた。顕著な有糸分裂像を伴う腫瘍組織には出血、腫瘍組織それ自体の壊死および炎症性細胞浸潤が見られた。また、耳下腺リンパ節の腫大を伴っていた症例は未分化癌と診断され、同様の組織構造を示す腫瘍組織のリンパ節転移が認められた。

免疫組織学的所見：未分化癌と診断された 9 症例中 8 例では、管状構造を構成する細胞がサイトケラチン陽性を示した（図 6a）（表 1）。一方、4 例において、小型の核をもつ円形あるいは紡錘形細胞が増殖する部位に、ニューロフィラメント陽性の細胞質を有する細胞（図 6b）が混在していた（表 1）。また、症例 3 において、小型の核をもつ円形あるいは紡錘形細胞がシナプトフィジン陽性を示し（図 6c）、小巣状構造を示した腫瘍細胞がカルノシン陽性を示した（図 6d）。以上の HE および免疫組織学的所見から、症例 3、4、5 および 6 の 4 例の未分化癌を嗅神経上皮腫と診断した。転移していた腫瘍組織も免疫組織学的に原発腫瘍と同様の所見を示した。

電子顕微鏡学的所見：腫瘍細胞は、管状構造を示し（図 7）、多くの微絨毛（図 8）及び細胞間接着装置（図 9）が、腫瘍細胞間に認められた。しかし、神経分泌顆粒やシナプスは、管状構造を構成する部位および円形あるいは紡錘形細胞が増殖する部位にも認められなかった（図 10）。



## 考 察

嗅上皮は、嗅覚の一次ニューロンである嗅細胞、円柱上皮細胞の形態をとる支持細胞および基底側に位置する基底細胞の3種類の細胞により構成されている [23]。支持細胞は、大気中の様々な物質に暴露されている鼻腔内の嗅上皮、特に嗅細胞の防御的役割を担っていると考えられ、詳細な性格は不明である。基底細胞は、嗅細胞および支持細胞に分化することができる未熟な細胞として知られている。近年、電子顕微鏡学的研究により、Olfactory neuroblastoma は細胞質内に電子密度の高い神経分泌顆粒を持つため、上顎洞などのある種の交感神経系 cell nests から発生する腫瘍であり、その嗅上皮起源説に強い疑いが持たれている [8]。免疫組織学的研究により、嗅細胞は神経系のマーカーとしてのニューロフィラメント、Neuron-specific enolase 陽性、支持細胞および基底細胞はサイトケラチン陽性と報告されている [19, 36, 39]。Hassoun ら [13] や高橋ら [35] は、免疫組織学的検索および電子顕微鏡学的検索により、嗅神経上皮腫 Olfactory neuroepithelioma こそが真に嗅粘膜上皮の未分化な多分化能を持つ細胞から発生する腫瘍であると報告した。

1991年に改訂されたヒトの上部気道腫瘍のWHO分類 [30]では、鼻腔内に発生する嗅神経性腫瘍として、従来の「嗅神経芽腫 Olfactory neuroblastoma」の項目に variant として新たに嗅神経上皮腫 Olfactory neuroepithelioma が追加された [15]。嗅神経上皮腫は、Olfactory esthesioneuroepithelioma として1924年に Berger ら [4]によって報告された鼻腔内腫瘍であり、それは性格の異なる二つの構成要素を有する。すなわち、上皮性細胞が作る真性ロゼットあるいは腺構造および未分化で小型の核と線維性突起が集合する部分である。Berger らは、その報告の中で、この腫瘍は嗅上皮細胞が起源であり、その腫瘍細胞 (Esthesioneuroblast) はロゼットを形成する嗅上皮のうちの支持細胞および未

分化な核と線維性突起を持つ感覚神経細胞（嗅細胞）へ分化したものとしてとらえた。一方、Berger らは、未分化な核と線維状突起のみからなる上鼻腔内腫瘍を報告し [3]、この腫瘍を Olfactory estheioneurocytoma と命名した。この腫瘍は、嗅上皮に起源する神経性腫瘍のより分化した型であり、感覚神経細胞のみの一方向の分化を示したものとした。その組織像は、副腎などに好発する neuroblastoma の組織像と同様の組織像であり [41]、WHO 分類においては Olfactory neuroblastoma としてとり扱われている。これらの二つの腫瘍、特に後者の起源については嗅上皮あるいは交感神経系組織のいずれかについていまだに議論されている。しかし、交感神経系組織は、鼻腔や上鼻腔に現在のところ、解剖学的に明示されているものはない [35]。嗅神経芽腫はヒトにおいても大変まれな腫瘍とされているが、再発および転移することが多く、悪性腫瘍として位置付けられている [35]。これまでに動物では、猫 2 例 [10] および牛 1 例 [1] で嗅神経芽腫の報告がある。過去に嗅神経芽腫として報告されているこれらの腫瘍の中には、1993 年に改訂されたヒトの腫瘍の WHO 分類において「嗅神経芽腫」の項目に variant として新たに追加された嗅神経上皮腫が含まれている可能性がある。

少ない症例数ではあるが、今回検索した鼻腔内発生の悪性腫瘍 25 例は、扁平上皮癌 4 例、腺癌 12 例および未分化癌 9 例であり、Moulton の報告 [22] に示されているそれぞれのタイプの腫瘍の発生割合とほぼ一致していた。また、今回の検索では、未分化癌と過去に診断された 9 例のうち 4 例が上皮細胞のマーカーとしてのサイトケラチンおよび神経系のマーカーとしてのニューロフィラメント陽性像を示した。また、症例 3 では、シナプトフィジンおよび嗅細胞に対するマーカー [28, 29] としてのカルノシン陽性像を示した。神経系腫瘍である Neuroblastoma、Ganglioneuroblastoma や Ganglioneuroma は、ニューロフィラ

メント陽性像を示し [6, 25]、一方、上皮系腫瘍は、サイトケラチンに陽性を示す [21, 25]。

電子顕微鏡学的特徴としては、Olfactory neuroblastoma は電子密度の高い分泌顆粒やシナプス、未熟な軸索など幼若ニューロンの形態を有する [8, 20, 31, 37]。それに対して Olfactory neuroepithelioma は電子密度の高い分泌顆粒を持たず [13, 18, 34]、少なくとも二つの異なるタイプの細胞を認め [13, 34]、1つは神経細胞突起に似た突起をもち、線毛、中心子を特徴とし、もう1つは多くの微絨毛を持ち管状に配列し、隣接細胞間には細胞間接着装置を認める。前者は嗅粘膜上皮の嗅細胞、後者は支持細胞に類似するとされる [34]。今回の検索では、多くの微絨毛及び細胞間接着装置（デスモゾーム）が、管状構造を構成する腫瘍細胞間にしばしば認められた。しかし、Olfactory neuroblastoma に特徴的とされる神経分泌顆粒やシナプスは、管状構造を構成する部位および円形あるいは紡錘形細胞が増殖する部位にも認められなかった。

以上の所見により、未分化癌と過去に診断されたこれらの4例の腫瘍は、上皮系および神経系両者の特徴を有しており、過去にヒトで報告されている嗅神経上皮腫の所見と一致していた [13]。また、再発および転移の強い傾向も共通して認められた。上皮系および神経系の腫瘍の特徴を有する腫瘍としてカルチノイド (Neuroendocrine carcinoma) について検討することが鑑別診断上重要である。カルチノイドは、一般的に、多型性に乏しい小型の腫瘍細胞により構成され、蜂窩状あるいはリボン状のパターンを備えた充実性構造を示し、時に小管腔をつくることがある。カルチノイドはセロトニンやキニンなどの活性物質を産生する機能性腫瘍として位置付けられており、臨床的にカルチノイド症候群を伴うことがある。したがって、カルチノイドの場合は、臨床的にも注意が必要である。今回の4例の腫瘍は、いずれも立方形あるいは円柱状の上皮様細胞が増殖する部分と

紡錘形の細胞が充実性増殖を示す部分の二つのパターンを示したことからカルチノイドは除外したが、鼻腔内に発生しうる機能性腫瘍として今後カルチノイドを考慮し病理組織学的検索を進める必要がある。今回の検索より、未分化癌と診断される腫瘍の中に、上皮系および神経系腫瘍の特徴を併せ持ち、また、再発や転移の強い傾向を有する嗅神経上皮腫を考慮する必要がある腫瘍が混在することが明らかになった。したがって、鼻腔内未分化癌の診断に際しては、免疫組織化学的検索および電子顕微鏡学的検索結果も合わせて検討することが望まれる。

表 1 未分化癌と診断された 9 症例の臨床および病理学的所見

症例番号	品種	年齢 (歳)	転帰	HE 所見		免疫染色	
				ロゼット様構造		CK	NF
1	Shelty	4	再発、死亡	-		+	-
2	柴	8	安楽死	-		+	-
3	雑	9	転移、安楽死	+		+	+
4	雑	9	再発、転移	+		+	+
5	雑	9	再発	+		+	+
6	柴	11	死亡	+		+	+
7	Golden	12	不明	+		+	-
8	雑	13	不明	-		+	-
9	雑	17	安楽死	-		-	-

Shelty: シェットランドシープドッグ Golden: ゴールデンレトリバー  
 CK: サイトケラチン NF: ニューロフィラメント

図 5 症例 3。腫瘍組織内には、円柱状あるいは丈の高い細胞が管状構造をとる部分と線維性の隔壁により囲まれた紡錘形の細胞が充実性増殖をす部分とが混在している。(HE 染色 x 580)

図 6a 症例 3。管状構造を構成する一部の腫瘍細胞の細胞質に見られたサイトケラチン陽性所見。(サイトケラチン免疫染色 x 750)

図 6b 症例 3。充実状増殖を示す小円形腫瘍細胞の細胞質に見られたニューロフィラメント陽性所見。(ニューロフィラメント免疫染色 x 750)

図 6c 症例 3。小型の核をもつ円形あるいは紡錘形細胞がシナプトフィジン陽性を示している。(シナプトフィジン免疫染色 x 750)

図 6d 症例 3。小巣状構造を示した腫瘍細胞がカルノシン陽性を示している。(カルノシン免疫染色 x 750)

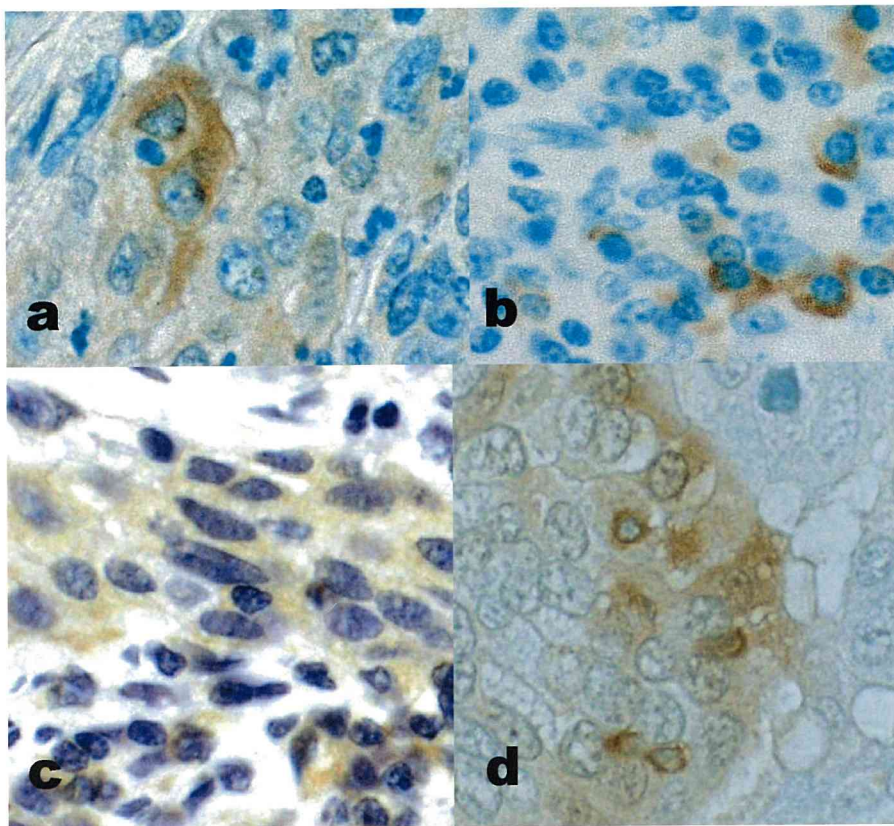
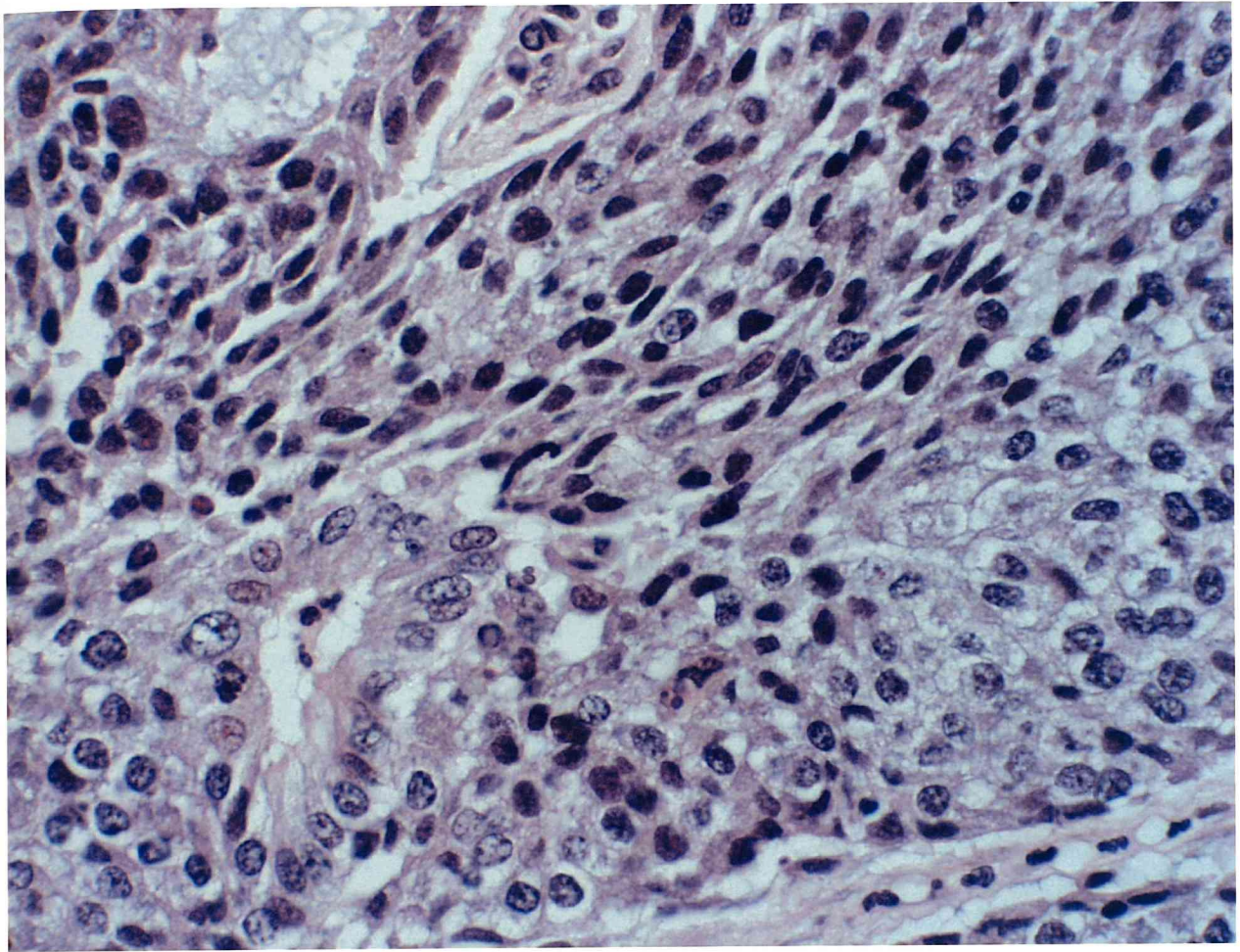


図 7 症例 3。腫瘍組織内に見られた明瞭な内腔を伴った管状構造。  
(電顕写真 x 13,500)

図 8 症例 3。腫瘍細胞の内腔側に見られた微絨毛。(電顕写真 x 32,000 )



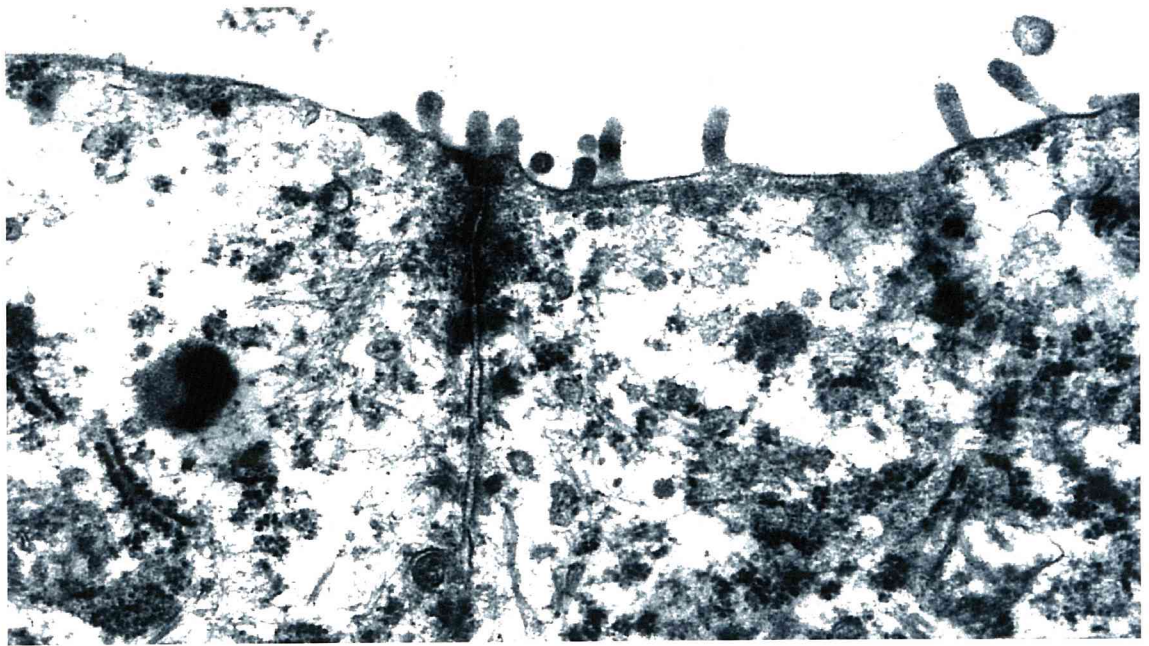
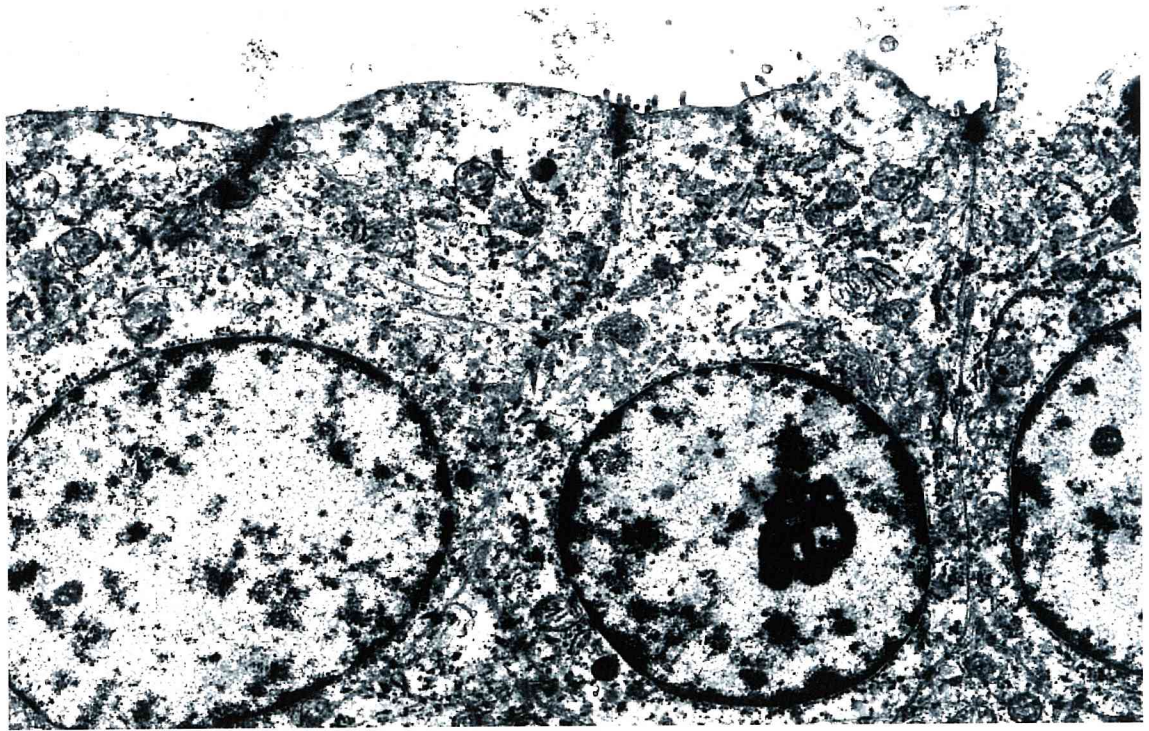
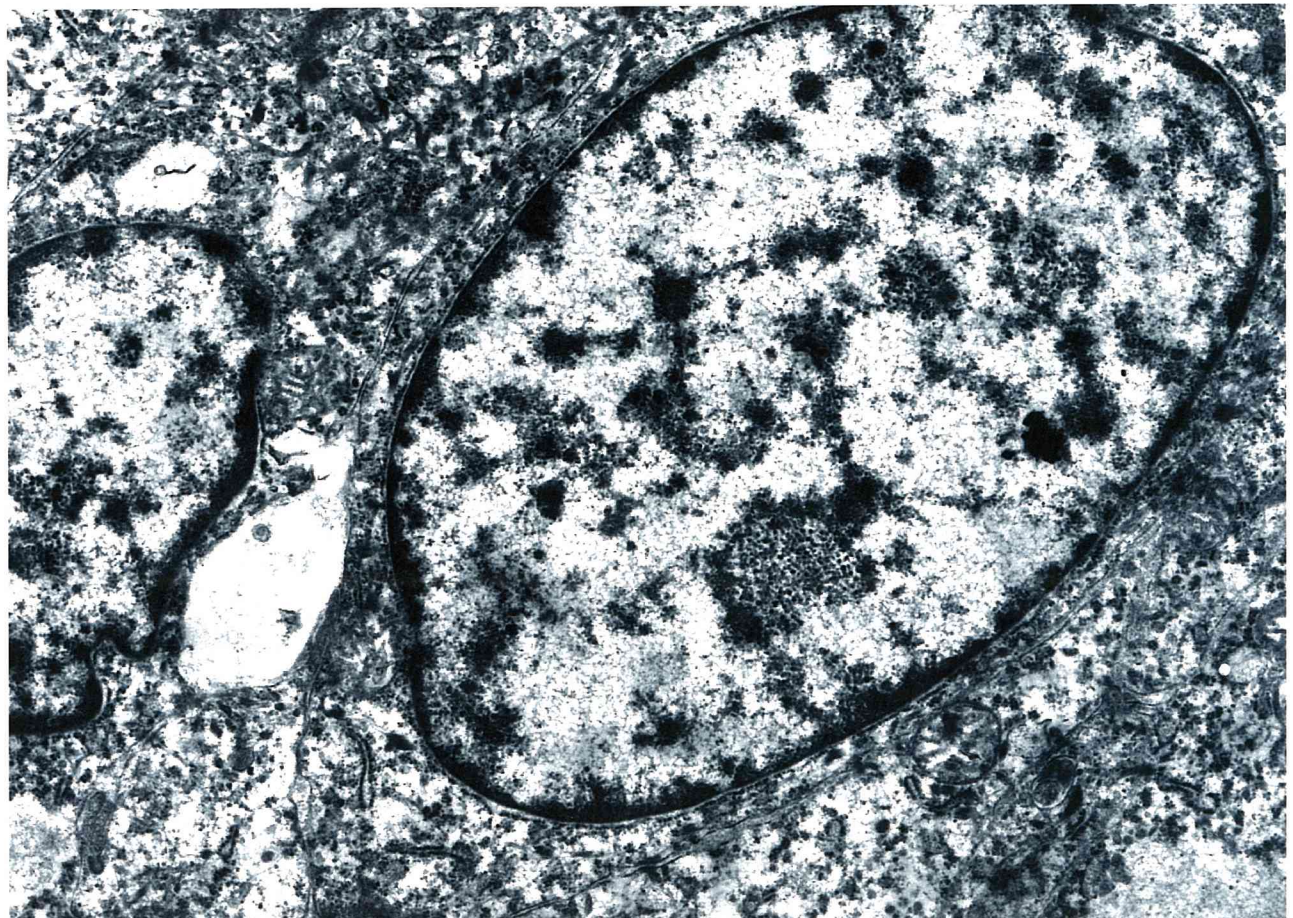
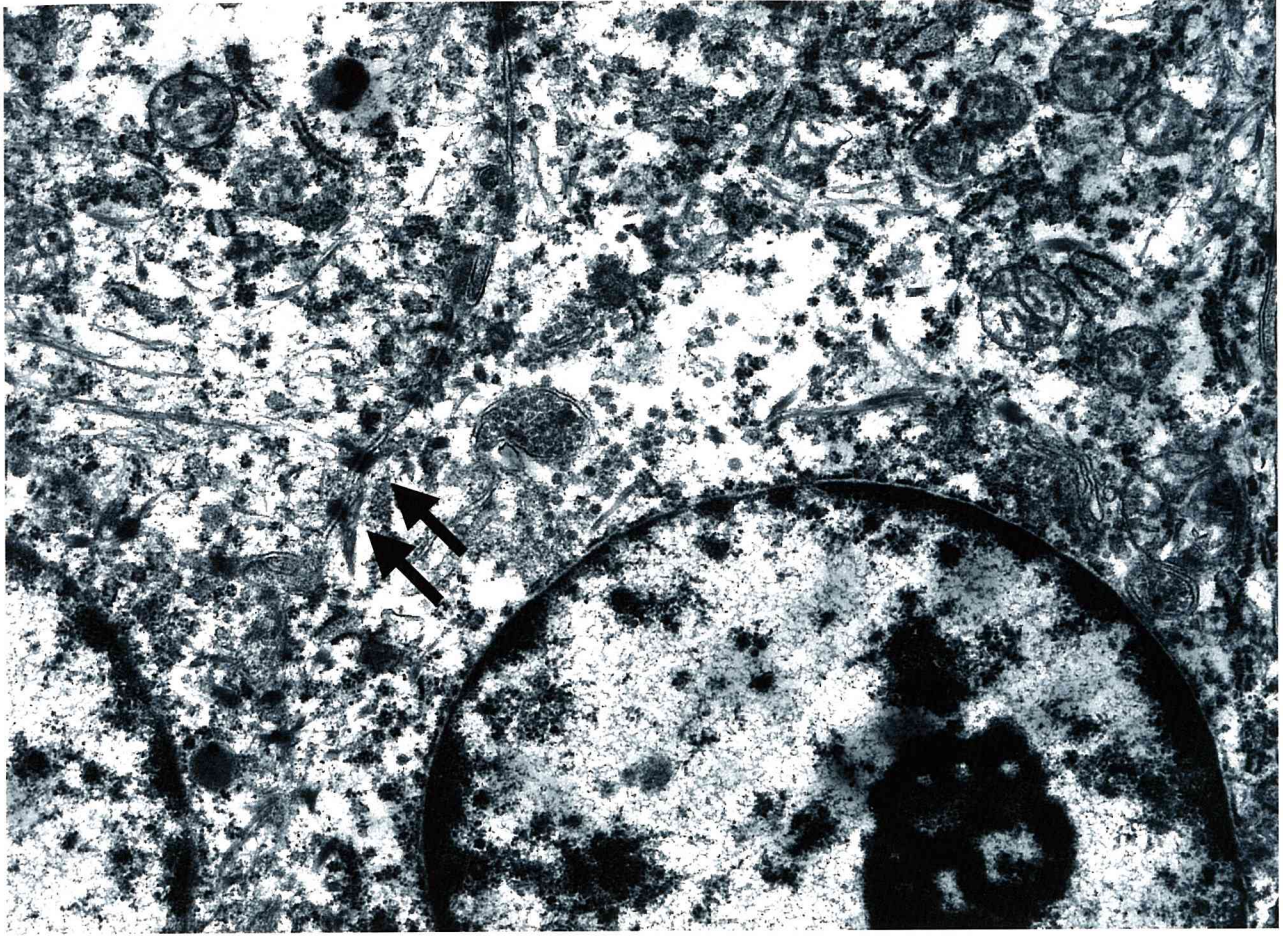


図9 症例3。腫瘍細胞間に見られた細胞間接着装置（矢印）。  
（電顕写真 x 20,000）

図10 症例3。神経分泌顆粒は腫瘍細胞の細胞質内に認められない。  
（電顕写真 x 16,500）



### 第3章

#### 犬の鼻腔内発生未分化癌と p53 癌抑制遺伝子の変異との関連性

##### 緒言

癌抑制遺伝子 p53 の異常はほとんどすべての悪性腫瘍において共通に認められている遺伝子異常である [7, 14]。p53 は、転写調節機能、他の細胞内タンパク質と結合することによるシグナル伝達機能、DNA 複製に関与するタンパク質複合体の構成要素、DNA 結合能およびエキソヌクラーゼ活性など機能を持ち、これらの機能が複合的に作用し、細胞周期停止、アポトーシス誘導、DNA 修復、DNA 複製調節および分化誘導を引き起こす。p53 癌抑制遺伝子の変異とヒトのおける各種の腫瘍の性質（種類、悪性度、遠隔転移の有無、臨床的予後など）との関連が研究され、乳腺癌、骨肉腫や脳腫瘍において p53 の構成アミノ酸の組成変化等につながる遺伝子変異のパターンが腫瘍の性質に深く関与することが報告されている [16]。p53 遺伝子の突然変異のほとんどはアミノ酸置換を伴うミスセンス変異である。これは他の癌抑制遺伝子、例えば APC (adenomatous polyposis coli) 遺伝子における変異が不完全な蛋白質を産生するようなナンセンス変異であることと比べると、p53 遺伝子の大きな特徴である。変異は p53 遺伝子の中でも動物種を越えてよく保存されている領域に集中しており、ホットスポットも見出されている [33, 42]。p53 遺伝子異常は良性の段階では認められず、悪性になって初めて見つかっている。しかし、獣医病理学の領域では本遺伝子の変異と腫瘍の病理発生・悪性度との関連性を検索した報告は乏しく、また、ヒトにおいても嗅上皮由来腫瘍を含む鼻腔内腫瘍での p53 癌抑制遺伝子の変異検索の報告は我々の知る限り無い。鼻腔は、大気中のさまざまなリスクファクター（オゾン、ニッケルやコバルトなどの腫瘍原因子）に直接暴露され

ているため、遺伝子変異の機会が多いことが推定されている。

そこで、著者は犬の鼻腔内発生未分化癌および嗅神経上皮腫における p53 癌抑制遺伝子の変異と本腫瘍の性格（分類や悪性度）に関する検索を行った。

### 材料および方法

組織学的および免疫組織学的検索：鼻腔内に発生した犬の悪性腫瘍 25 例のうち未分化癌と診断した 9 例の腫瘍について、組織学的および免疫組織学的に検索した。腫瘍組織を、10%中性緩衝ホルマリン固定、パラフィン包埋の後、常法に従いヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本を作製し、顕微鏡観察を実施した。免疫組織学的検索一次抗体は、抗ヒト p53 モノクローナル抗体 (PAb 240、10 倍希釈、N 末端 213-217 アミノ酸をエピトープとする、ONCOGENE RESEARCH PRODUCTS) を用いた。また、犬の乳腺癌の腫瘍組織を陽性コントロールとして用いた (図 11a, b)。切片を脱パラフィン後、トリプシン処理、0.3%過酸化水素水による内因性ペルオキシターゼ処理および正常ヤギ血清による非特異反応阻止の前処理を行った。一次抗体を、over night、4°Cでインキュベートし、標識ストレプトアビジン・ビオチン (LSAB 法、DAKO, U. S. A.) を用いて標識し、diaminobenzidine (D A B) で発色した。なお、対比染色としてメチルグリーン染色を施した。

### 結果

検索した 9 例のうち、8 例の腫瘍に中等度から高度の陽性所見が見られた。陽性像は、細胞質および核の両者に見られたが、核の陽性像が強い傾向が見られた。未分化癌 9 例の構造は多岐にわたり、小型顆粒状細胞 (図 18a, b)、紡錘形細胞、管腔構造、柵状構造 (図 19a, b)、大型の上皮様細胞による充実性癌様の構造などが見られたが、そのうち、上皮様に分化している大型の細胞に p53 免

疫染色陽性所見が多く認められた（図 12a, b、図 16a, b）。紡錘形の細胞による管状構造を主体とする腫瘍も陽性像を示した（図 14a, b）。大小さまざまな異型細胞から構成される充実性癌様構造の腫瘍においては、大型の細胞に陽性像が見られた（図 13a, b、図 15a, b、図 17a, b）。症例 9 の腫瘍細胞において p53 疫染色陽性所見は認められなかった（図 20a, b）。これらの結果から、鼻腔内に発生した未分化癌の発生に、p53 癌抑制遺伝子変異が関与する可能性のあることが示唆された。構成細胞による陽性所見局在の違いの意義や予後との関連については不明である。

## 考 察

ヒトの腫瘍、特に乳腺、肺、直腸、白血球、骨、脳や膀胱腫瘍の検索により、検索された腫瘍の 50% 以上の症例において、p53 癌抑制遺伝子異常の関与が示されている [41]。本蛋白をコードする遺伝子の点突然変異、対立遺伝子消失、再構成、欠失などの異常が知られており、その結果、細胞増殖抑制機構の破綻それに続く腫瘍発生が起こることが示されてくる。エクソン 5-8 領域によって構成される 5 つのドメイン構造は脊椎動物の進化の過程でよく保存されており、また、この領域における遺伝子異常が本蛋白の異常のほとんどを占めることがわかっている。ヒトでは、1 塩基対の置換によるミスセンス変異が最もよく知られている変異であり、変異の部位や置換される塩基対の種類は臓器や腫瘍の種類、腫瘍原因により異なる傾向がある。

正常の p53 癌抑制遺伝子蛋白は細胞内で速やかに分解される（15 分以内）ため、免疫組織化学的に検出が困難である。一方、変異蛋白は分解が困難なため細胞間に長く存在し（数時間以上）、また、悪性の腫瘍細胞内に蓄積する傾向があるため、抗体により検出が可能となる。ただし、正常の本遺伝子の転写活性

が増大した場合にも理論的には陽性所見が増加する場合もありうるので免疫組織化学検索結果の理解には注意を要する。

動物の腫瘍発生と p53 癌抑制遺伝子異常との関連についての免疫組織化学的検索の報告は少ないが、乳腺、直腸、骨腫瘍等で報告されている[40]。しかし、予後や腫瘍の病理発生との関連についての詳細は今尚不明である。

今回の検索対象 9 例はいずれも未分化癌と診断された悪性腫瘍であったため、本蛋白陽性所見と予後との関連についての情報は得ることができなかった。ヒトの腫瘍を用いた検索では、腫瘍の組織学的悪性度と p53 癌抑制遺伝子蛋白陽性所見との関連性について報告されている[41]。動物の腫瘍においても、組織学的悪性度や腫瘍の進行における本蛋白陽性所見の広がりや強さの程度の推移等についての情報を得ることが今後必要と思われる。ただし、用いる抗体やプローブが認識する抗原決定基（アミノ酸配列）や塩基配列の種間の相同性についての詳細な情報をもとにヒトやその他の動物での結果と比較検討するよう注意を要する。

P53 癌抑制遺伝子蛋白陽性所見は、これまでの報告と同様に、核内あるいは細胞質内に認められ、核内でより強い陽性所見が見られた。腫瘍組織内では、ある腫瘍細胞群に限局的に、あるいはび慢性に陽性像が見られ、また、異なるタイプの複数の腫瘍細胞から構成される腫瘍組織内では、一方の細胞集団に限って陽性所見が見られる場合および両者にみられる場合があり、一定の傾向は示さなかった。しかしながら、少数ではあるが検索 9 例のうち 8 例に陽性所見が認められたことから、鼻腔内未分化癌および嗅神経上皮腫の発生における p53 癌抑制遺伝子異常の関与について分子生物学的な手法を用いた詳細な検索を実施する必要がある。

図 11a 陽性コントロール（乳腺癌、HE 染色 x 400）。

図 11b 陽性コントロール。腫瘍細胞の核内に p53 陽性所見が認められる。  
(p53 免疫染色 x 400)

図 12a 症例 1。腫瘍組織内に管状構造を示す腫瘍細胞が見られる。  
(HE 染色 x 400)

図 12b 症例 1。管状構造を示す腫瘍細胞の核内に p53 陽性所見が認められる。  
(p53 免疫染色 x 400)

図 13a 症例 2。腫瘍組織内に上皮様を示す腫瘍細胞が充実性構造を示している。  
(HE 染色 x 400)

図 13b 症例 2。充実状構造を示す腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見が認められる。  
(p53 免疫染色 x 400)



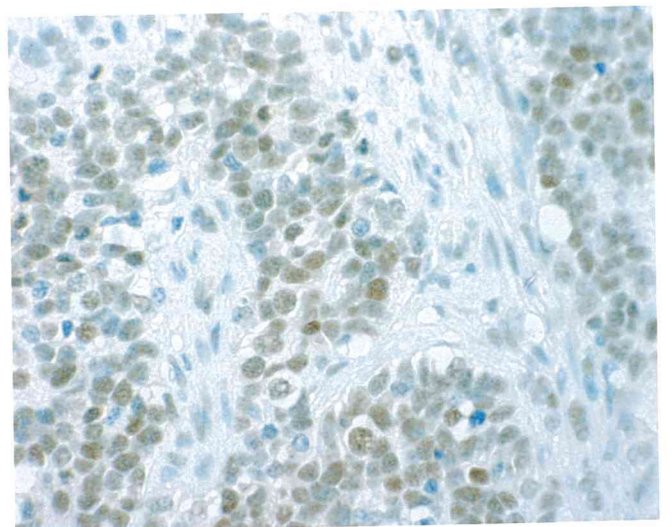
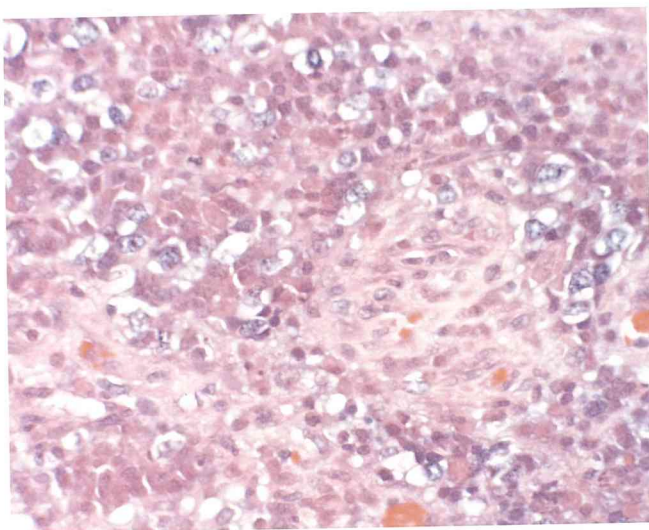
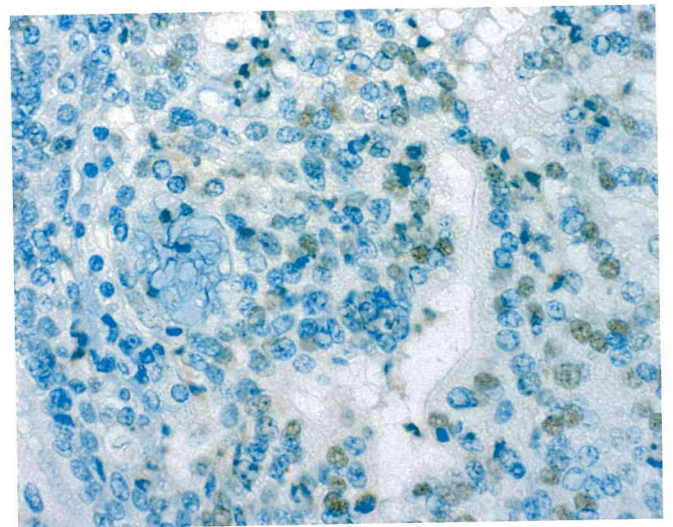
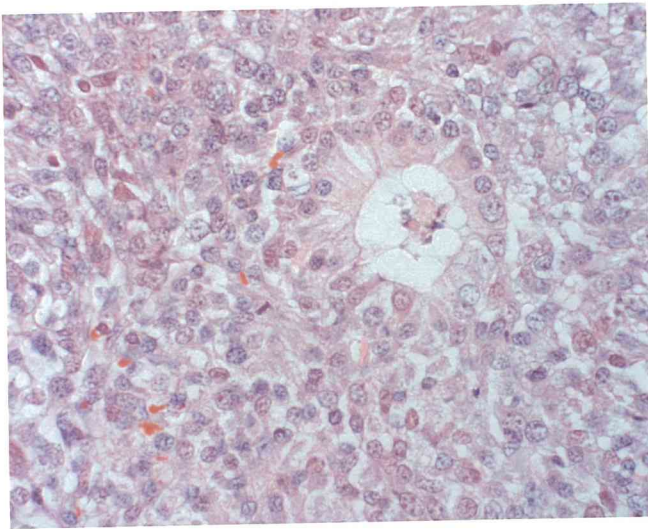
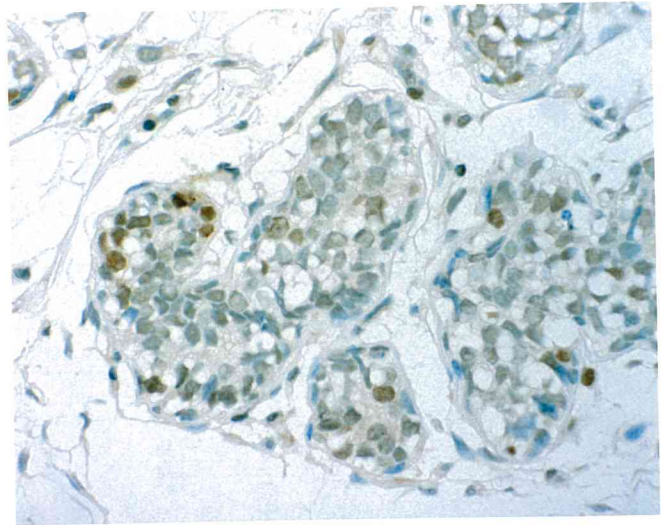
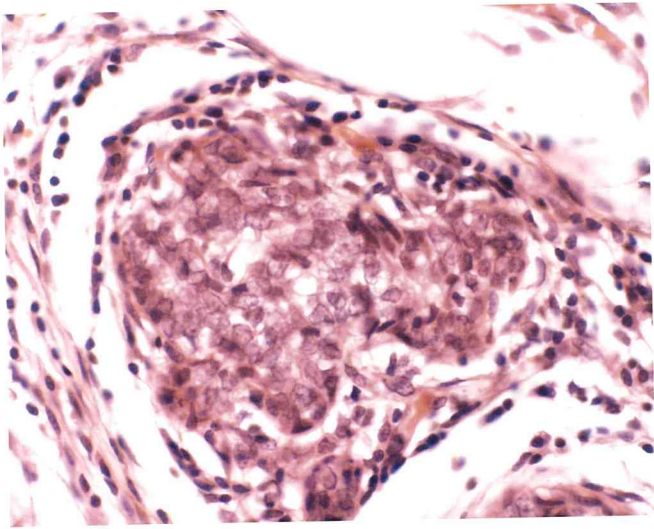


図 14a 症例 3。大型の腫瘍細胞と紡錘形の腫瘍細胞が、腫瘍組織内に混在している。(HE 染色 x 400)

図 14b 症例 3。大型の腫瘍細胞および紡錘形を示す腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見が認められる。(p53 免疫染色 x 400)

図 15a 症例 4。充実性構造を示し、大型の核をもつ腫瘍細胞と小型で顆粒状の腫瘍細胞が、腫瘍組織内に混在している。(HE 染色 x 400)

図 15b 症例 4。小型の腫瘍細胞に比べて、充実性構造を示す腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見が多く認められる。(p53 免疫染色 x 400)

図 16a 症例 5。腫瘍組織内に上皮様に分化している腫瘍細胞が見られる。(HE 染色 x 400)

図 16b 症例 5。上皮様構造を示す腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見が認められる。(p53 免疫染色 x 400)

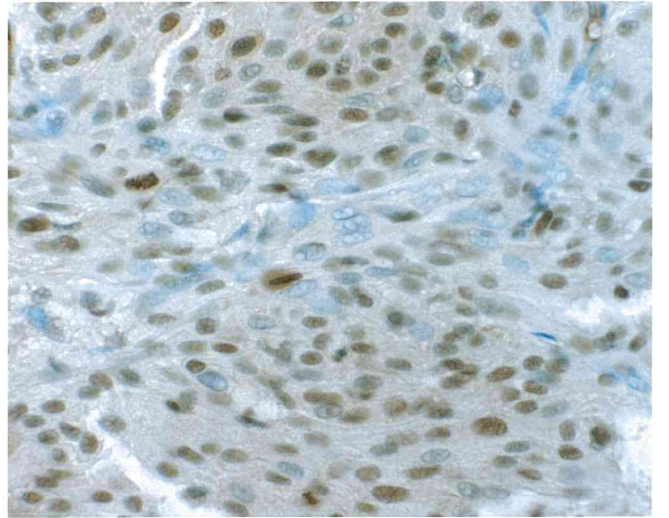
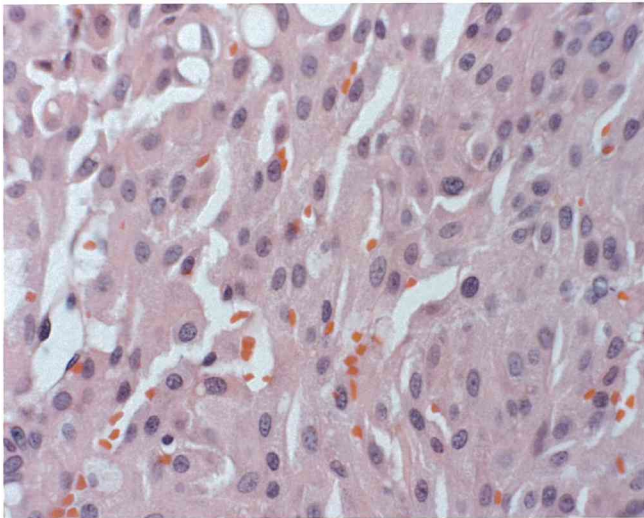
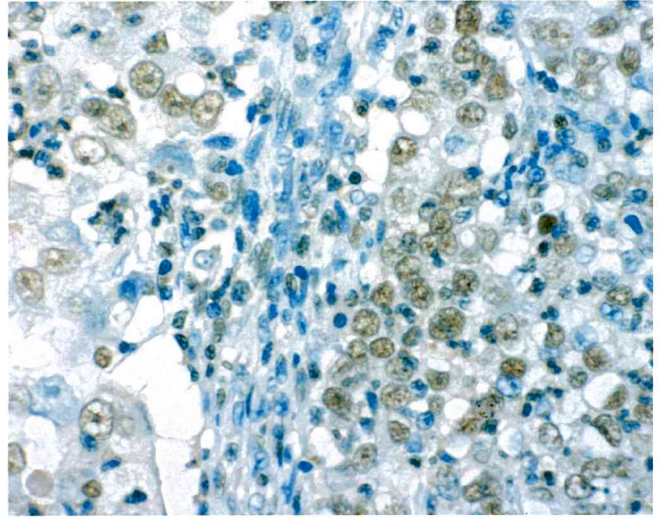
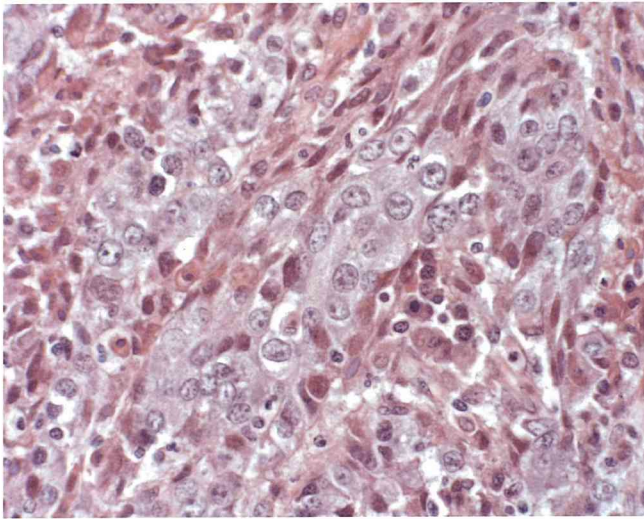
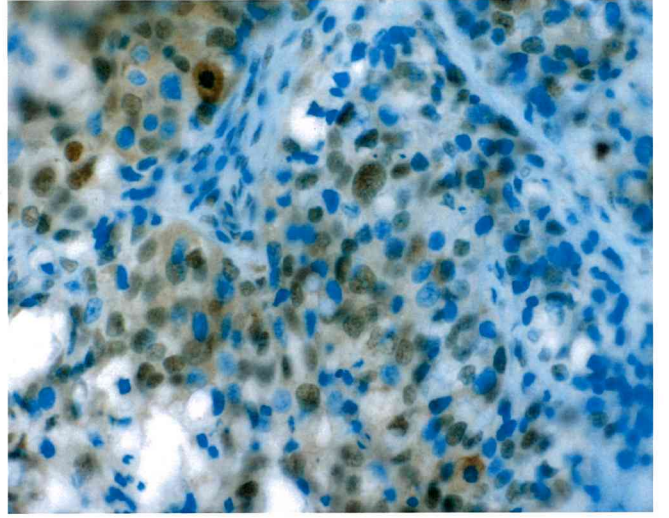
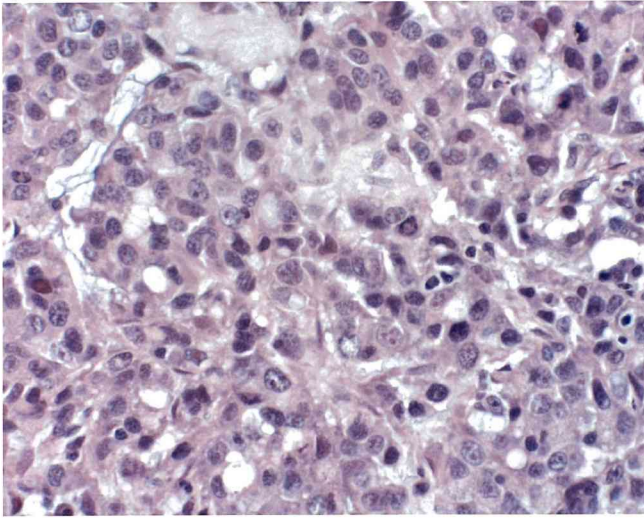


図 17a 症例 6。大型の核をもつ腫瘍細胞と紡錘形を示す腫瘍細胞が腫瘍組織内に認められる。(HE 染色 x 400)

図 17b 症例 6。大型の核をもつ腫瘍細胞および紡錘形を示す腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見が認められる。(p53 免疫染色 x 400)

図 18a 症例 7。腫瘍組織内に比較的小型の腫瘍細胞が巣状に増殖している部位が見られる。(HE 染色 x 400)

図 18b 症例 7。巣状に増殖している腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見が認められる。(p53 免疫染色 x 400)

図 19a 症例 8。腫瘍組織内に腫瘍細胞が柵状に増殖している部位が見られる。(HE 染色 x 400)

図 19b 症例 8。柵状構造を示す腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見が認められる。(p53 免疫染色 x 400)

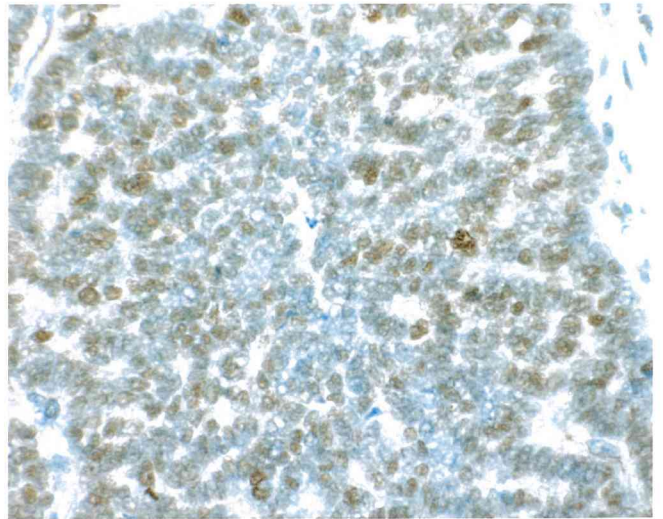
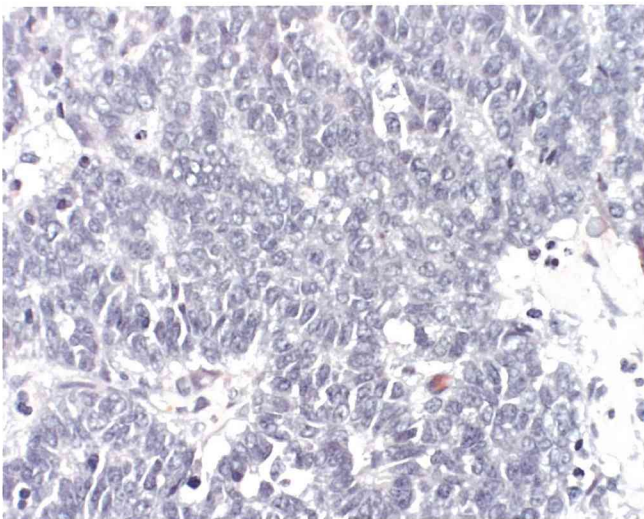
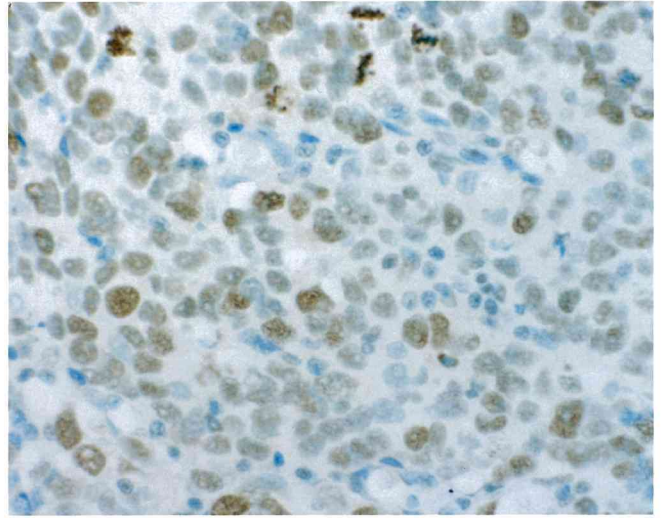
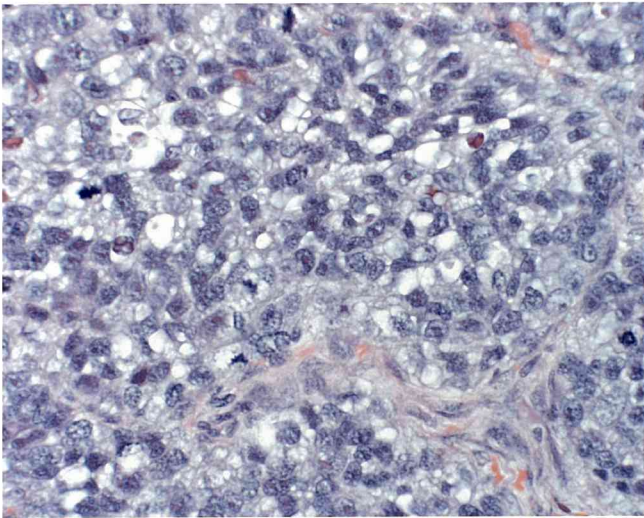
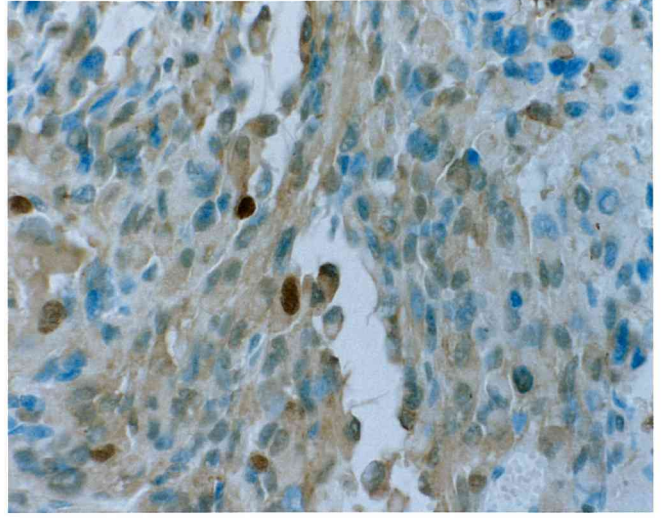
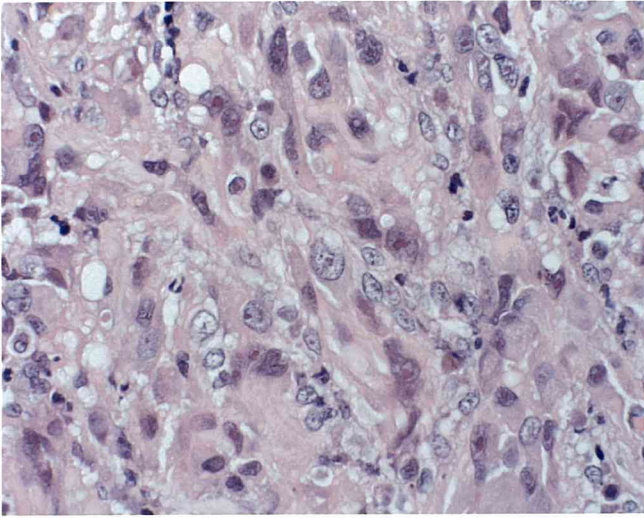
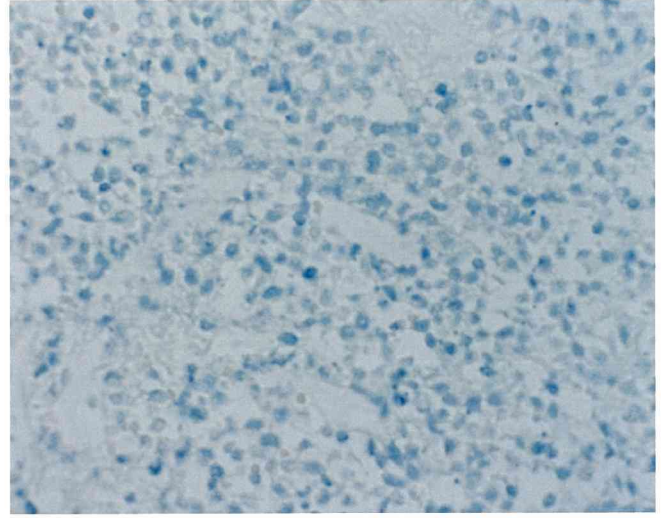
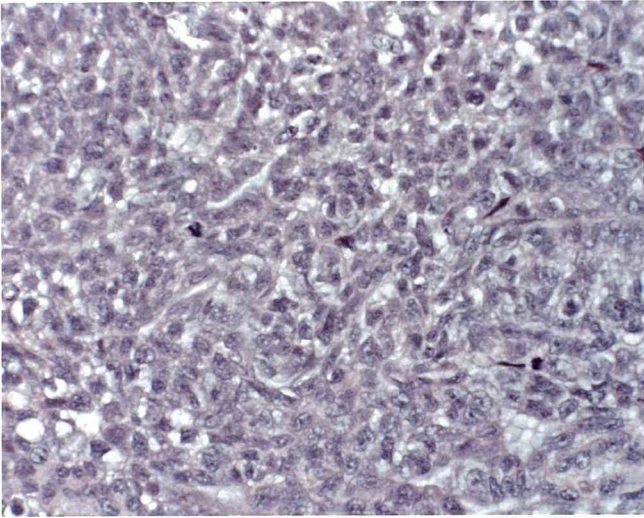


図 20a 症例 9。腫瘍組織内に比較的小型の腫瘍細胞が巣状に増殖している部位が見られる。(HE 染色 x 400)

図 20b 症例 9。巣状構造を示す腫瘍細胞の核内および細胞質内に p53 陽性所見は認められない。(p53 免疫染色 x 400)



## 総 括

今回検索した犬の鼻腔内に発生した悪性腫瘍 25 例は、扁平上皮癌 4 例、腺癌 12 例および未分化癌 9 例であり、Moulton の報告に示されているそれぞれのタイプの腫瘍の発生割合とほぼ一致していた。組織学的検索では、腺癌に比較的分化した偽層状の円柱線毛上皮様構造が認められ、腫瘍細胞が呼吸上皮に由来することが示唆された。一部の腺癌は、管状および充実状を示し、腫瘍細胞の細胞質内に認められる好酸性の顆粒を特徴としていた。また、細胞質内に好酸性の顆粒を有する一部の腺癌は、粘膜下組織に存在する鼻腺に由来することが示唆されたが、異型性が強く、腫瘍性腺細胞の起源を特定することはできなかった。

未分化癌は、円柱状あるいは丈の高い細胞が管状構造をとる部分と線維性の隔壁により囲まれた紡錘形の細胞が充実性増殖を示す部分とが混在し、その割合は症例により異なっていた。未分化癌 9 例において、ロゼット様構造が 5 例に、柵状配列が 4 例に見られた。今回の 4 例の腫瘍は、いずれも立方形あるいは円柱状の上皮様細胞が増殖する部分と紡錘形の細胞が充実性増殖を示す部分の二つのパターンを示した。すなわち、上皮性細胞が作る真性ロゼットあるいは腺構造および未分化で小型の核と線維性突起が集合する部分である。また、二つの異なった腫瘍細胞から構成されている未分化癌は、再発や転移する傾向が強く、予後は非常に悪かった。今回の検索により、未分化癌と診断される腫瘍の中に上皮細胞と非上皮細胞の特徴を有し、再発や転移の強い傾向を持つものの存在が明らかになった。

また、今回の検索では、未分化癌と過去に診断された 9 例のうち 4 例が上皮細胞のマーカーとしてのサイトケラチンおよび神経系のマーカーとしてのニューロフィラメント陽性像を示した。また、症例 3 では、シナプトフィジンおよび嗅細胞に対するマーカーとしてのカルノシン陽性像を示した。電子顕微鏡学的特徴



としては、多くの微絨毛及び細胞間接着装置（デスモゾーム）が、管状構造を構成する腫瘍細胞間にしばしば認められた。しかし、Olfactory neuroblastoma に特徴的とされる神経分泌顆粒やシナプスは、管状構造を構成する部位および円形あるいは紡錘形細胞が増殖する部位にも認められなかった。よって、未分化癌として過去に診断されたこれら 9 例のうち、4 例は、上皮系および神経系腫瘍の特徴を有する嗅神経上皮腫と再診断された。

9 例の犬の鼻腔内発生未分化癌における p53 癌抑制遺伝子蛋白異常との関連性を免疫組織化学的に検索した。抗体としてヒト由来（PAb 240）抗原（異なる種間で保持されている）由来のモノクローナル抗体を用いた。その結果、検索した 9 例のうち、8 例の腫瘍に中等度から高度の陽性所見が見られた。陽性像は、細胞質および核の両者に見られたが、核の陽性像が強い傾向が見られた。未分化癌 9 例の構造は多岐にわたり、小型顆粒状細胞、紡錘形細胞、管腔構造、管状構造、大型の上皮様細胞による充実性癌様の構造などが見られたが、そのうち、上皮様に分化している大型の細胞に p53 免疫染色陽性所見が多く認められた。これらの結果から、鼻腔内に発生した未分化癌の発生に、p53 癌抑制遺伝子変異が関与する可能性のあることが示唆された。

### 引用文献

- [1] Anderson BC and Cordy DR. Olfactory neuroblastoma in heifer. *Vet Pathol* 1981; 18: 536-540
  
- [2] Banerjee AK, Sharma BS, Vashista RK and Kak VK. Intracranial olfactory neuroblastoma: evidence for olfactory epithelial origin. *J Clin Pathol* 1992; 45: 299-302
  
- [3] Berger L and Coutrat H. L'Esthesioneurocytome olfactif. *Bull Assoc Fr Etude Cancer* 1926; 15: 404-414
  
- [4] Berger L, Luc G and Richard D. L'Esthesioneuroepitheliome olfactif. *Bull Assoc Fr Etude Cancer* 1924; 13: 410-421
  
- [5] Cantrell RW, Ghorayeb BY and Fitz-Hugh GS. Esthesioneuroblastoma; Diagnosis and treatment. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1977; 86: 760-765
  
- [6] Carlei F, Polak JM, Ceccamea A, Marangos PJ, Dahl D, Cocchia D, Michetti F, Lezoche E and Speranza V. Neuronal and glial markers in tumors of neuroblastic origin. *Virchows Arch [A]* 1984; 404: 313-324
  
- [7] Caron de Fromentel C and Soussi T. p53 tumor suppressor gene: a model for investigating human mutagenesis. *Genes Chromosomes Cancer* 1992; 4: 1-15

- [8] Chaundhry AP, Haar JG and Koul A, Nickerson PA. Olfactory neuroblastoma (esthesioneuroblastoma). A light and ultrastructural study of two cases. *Cancer* 1979; 44: 564-579
- [9] Confer AW and DePaoli A. Primary neoplasms of the nasal cavity, paranasal sinuses and nasopharynx in the dog. A report of 16 cases from the files of the AFIP. *Vet Pathol* 1978; 15: 18-30
- [10] Cox NR and Powers RD. Olfactory neuroblastomas in two cats. *Vet Pathol* 1989; 26: 341-343
- [11] Friedmann I and Osborn DA. The ultrastructure of the olfactory neuroblastoma. *Minerva Otorhinolaryngol* 1974; 24: 66-74
- [12] 羽野寛, 牛込新一郎, 杉下雅美, 原田徹. 頭頸部の神経外胚葉性腫瘍. *病理と臨床* 1993; 11: 1415-1421
- [13] Hassoun J, Gambarelli D, Grisoli F, Henric A and Toga M. Esthesioneuroepithelioma, a true neurosensorial tumor. Light and electron microscopic study of a case with endocranial extension. *Acta Neuropathol (Berl)* 1981; 55: 77-80
- [14] Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B and Harris CC. p53 mutations

in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53

- [15] 石田陽一. 改訂された WHO 国際脳腫瘍組織分類について. *病理と臨床* 1991; 9: 584-591
- [16] Kleihues P, Schauble B, Zurhausen A, Esteve J and Ohgaki H. Tumors associated with p53 germline mutations: A synopsis of 91 families. *Am J Pathol* 1997; 150: 1-13
- [17] Koestner A, Bilzer T, Fatzer R, Schulman FY, Summer BA and Van Winkle TJ. Histological Classification of Tumors of the Nervous System of Domestic Animals 1999; Second Series, vol 5: 24
- [18] Kudo M, Aoyama A, Tanaka F and Nakajima T. An electron microscopic investigation of olfactory esthesioneuroepithelioma. *Jpn J Clin Pathol* 1972; 20: 754-763
- [19] 真鍋宏, 森山隆志, 斎藤和子, 鈴木重晴, 高橋 均, 生田房弘. 頭蓋内 Esthesioneuroepithelioma の 1 例. *脳神経* 1991; 43: 787-792
- [20] Miller DC, Goodman ML, Pilch BZ, Shi SR, Dickersin GR, Halpern H and Norris Jr CM. Mixed olfactory neuroblastoma and carcinoma. *Cancer* 1984; 54: 2019-2028

- [21] Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B and Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11-24
- [22] Moulton JE. *Tumors in Domestic Animals*, Moulton JE ed, 3rd ed, Univ California Press, Berkely 1990: 308-313
- [23] 岡野真臣 : 神経進歩 1981; 25: 249-260
- [24] Osamura RY and Fine G. Ultrastructure of the esthesioneuroblastoma. *Cancer* 1976; 38: 173-179
- [25] Osborn M and Weber K. Tumor diagnosis by intermediate filament typing: a novel tool for surgical pathology. *Lab Invest* 1983; 48: 372-394
- [26] Sakai M, Ashihara M, Nishimura T and Nagatsu I. Carnosine-like immunoreactivity in human olfactory mucosa. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1990; 109: 450-453
- [27] Sakai M, Yoshida M, Karasawa N, Teramura M, Ueda H and Nagatsu I. Carnosine-like immunoreactivity in the primary olfactory neuron of the rat. *Experientia* 1987; 43: 298-300
- [28] Schenck NL and Ogura JH. Esthesioneuroblastoma. An enigma in diagnosis,

a dilemma in treatment. Arch Otolaryngol 1972; 96: 322-324

- [29] Shall LA and Lineback M. Primary intranasal neuroblastoma. Report of 3 cases. Ann Otol Rhinol Laryngol 1951; 60: 221-229
- [30] Shanmugaratnam K. Histological typing of tumors of the upper respiratory tract and ear. *In* WHO International Histological Classification of Tumors. 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin, 1991
- [31] Silva EG, Butler JJ, Mackay B and Goepfert H. Neuroblastomas and neuroendocrine carcinoma of the nasal cavity. A proposed new classification. Cancer 1982; 50: 2388-2405
- [32] Skolnik EM, Massari FS and Tenta LT. Olfactory neuroepithelioma. Review of the world literature and presentation of two cases. Arch Otolaryngol 1966; 84: 666.
- [33] Soussi T, Caron de Fromental C and May P. Structural aspects of the p53 protein in relation to gene evolution. Oncogene 1990; 5: 945-952
- [34] Takahashi H, Ohara S, Yamada M, Ikuta F, Tanimura K and Honda Y. Esthesioneuroepithelioma: a tumor of true olfactory epithelium origin. An ultrastructural and immunohistochemical study. Acta Neuropathol (Berl) 1987; 75: 147-155

- [35] 高橋均. 嗅神経芽腫と嗅神経上皮腫について. 脳神経 1994; 46: 1134-1141
- [36] Takahashi S, Iwanaga T, Takahashi Y, Nakano Y and Fujita T. Neuron-specific enolase, neurofilament protein and S-100 protein in the olfactory mucosa of human fetuses. An immunohistochemical study. Cell Tissue Res 1984; 238: 231-234
- [37] Taxy JB and Hidvegi DF. Olfactory neuroblastoma. An ultrastructural study. Cancer 1977; 39: 131-138
- [38] Tingwald FR. Olfactory placode tumors. Laryngoscope 1966; 76: 196-211.
- [39] Vollrath M, Altmannsberger M, Weber K and Osborn M. An ultrastructural and immunohistological study of the rat olfactory epithelium: unique properties of olfactory sensory cells. Differentiation 1985; 29: 243-253
- [40] Wolf JC, Ginn PE, Homer B, Fox LE and Kurzman ID. Immunohistochemical detection of p53 tumor suppressor gene protein in canine epithelial colorectal tumors. Vet Pathol 1997; 34: 394-404
- [41] 柳下三郎. 神経細胞系腫瘍. 病理と臨床 1991; 9: 597-603
- [42] 矢ノ下玲, 宮木美知子. 悪性腫瘍と p53. 病理と臨床 1996; 14: 52-55

[43] Zaki FA and Liu SK. Adenocarcinoma of the olfactory gland in the dog.

Vet Pathol 1974; 11: 138-143



## 謝 辞

本稿を終えるにあたり、本研究に対し終始適切なる御指導、御助力を賜りました鳥取大学農学部獣医学科 家畜病理学教室 島田章則先生、森田剛仁先生、澤田倍美先生、宮崎大学農学部獣医学科 家畜病理学教室 山口良二先生、鳥取大学農学部獣医学科 家畜解剖学教室 上原正人先生を始め、山口大学大学院連合獣医学研究科の諸先生方に謹んで謝意を表します。

研究に際し、終始御懇意な御指導および貴重な症例を賜りました北海道大学大学院獣医学研究科 診断治療学講座 比較病理学教室 梅村孝司先生、落合謙爾先生、朴天鍋先生、北海道大学大学院 診断治療学講座 獣医外科学教室 廉澤剛先生、帯広畜産大学畜産学部獣医学科 家畜病理学教室 古岡秀文先生に深謝致します。

**END**