

(様式4)

学位論文の内容の要旨

信澤 愛子 印

Immunohistochemical staining patterns of cytokeratins 13, 14, and 17
in oral epithelial dysplasia including orthokeratotic dysplasia
(正角化性上皮異形成を含む口腔内上皮異形成におけるCytokeratin 13、14、17発現の
免疫組織学的検討)
Pathology International (in press) [英語論文]
Aiko Nobusawa, Takaaki Sano, Akihide Negishi, Satoshi Yokoo, Tetsunari Oyama

(学位論文の要旨)

サイトケラチンは上皮細胞の中間径フィラメントを成す細胞骨格の1つであり、上皮の種類や腫瘍によりその発現する種類が異なる。口腔内病変においても、扁平上皮癌や口腔上皮異形成とサイトケラチンの発現パターンが関連しているとの報告がある。

口腔内上皮異形成は、単独もしくは浸潤癌周囲にしばしば認められる。その病理組織学的診断は困難で、病理医間や施設間でも差違が認められることが問題としてあげられる。近年、WHOの定義する上皮異形成の分類とは異なる、口腔上皮特有の上皮内癌の存在が報告され、さらに診断が複雑となった。口腔上皮内病変の診断に、Cytokeratin(CK)13および17が有用であることがこれまでに報告されている。CK13は正常口腔粘膜上皮に発現し、悪性化に伴い消退する。CK17は正常粘膜上皮には発現せず、悪性病変で発現が認められる。また、CK14は上皮幹細胞を含む基底細胞層での発現が報告されている。CK13、17、14のmRNAの発現については、CK13は正常粘膜から軽度の上皮異形成に、CK14、17は高度異形成や扁平上皮癌に発現が高値を示すことが報告されている。また、新しい口腔上皮内病変として、正角化性上皮異形成 (Orthokeratosis dysplasia : OKD) が近年報告されている。OKD病変はCK10に陽性、CK13およびCK17陰性を示し、真の悪性病変ではないとされている。今回の研究では、口腔癌切除標本および生検検体を用いて、口腔内上皮異形成について、OKDを含め病理組織診断に有用なCK13、14、17の発現パターンを免疫組織学的に明らかにすることを目的とする。

対象は、過去に群馬大学医学部付属病院で切除術を行った口腔癌症例のうち、浸潤癌周囲に上皮異形成が認められ、術前治療および検体の脱灰処理を行っていない症例23例82病変、生検症例85例とした。正常粘膜21例、上皮異形成をmild dysplasia群43例、moderate dysplasia群63例、CIS群40例に分類し、CK13、14および17の発現を、二重染色にて評価した。また、上皮異形成に伴って、正角化および顆粒層の出現、CK10陽性を認めるものをOKDと定義した。

従来、免疫組織化学的染色の二重染色法は、一方の抗体を反応した後、二次抗体を反応させ、発色後反応停止と熱処理による抗体の不活化の後に、もう一方の抗体を反応させ、二次抗体を反応後、発色させる。今回は種の異なるモノクローナル抗体をカクテル化することで、工程を簡略化した。すなわち、CK13はmouse由来の一次抗体を使用し、二次抗体は抗mouse抗体を、CK14およびCK17はrabbit由来の抗体を使用し、二次抗体に抗rabbit抗体を用いた。CK13+17およびCK13+17/14の一次抗体

のカクテル抗体を作成し、同時に反応させた。二次抗体は抗mouse抗体および抗rabbit抗体を順番に反応させ、CK13は茶、CK17および14は赤で発色した。これは独自の手法であり、この手法を用いることで、染色工程の短縮および簡便化を図ることが可能であった。

結果、mild dysplasia群ではCK13は100%陽性を示し、CK14の発現亢進を認めた。異形成の程度があがるに伴い、CK17およびCK14発現率が上昇し、moderate dysplasia群ではCK17は89%で陽性、CIS群では100%陽性であった。異型が高度になるに従い、CK13の発現率は低下し、CK14、17の発現率は上昇した。上皮異形成症例を、OKD症例と非OKD症例に群を分けて比較検討した。OKD症例（61例）と非OKD症例（85例）との間に、異形成のgrade別症例数の分布、およびCK13、17の発現率の統計学的な差は認められなかった。

CK13は正常粘膜では有棘層以上の層に発現し、上皮の正常な層状分化や角化に関与していると考えられる。上皮異形成でのCK13消失は、上皮が正常な分化を成し得ていないことを示していると考えられた。一方、高度な分化を示すCIS病変では、異所性にCK13陽性細胞を認めた。

CK17は口腔扁平上皮癌だけでなく、食道や肺、子宮頸部の扁平上皮癌にも発現が認められている。また、CK17はタンパク質合成や細胞成長に関わり、運動能の高い細胞にも発現が亢進していると報告されている。今回の研究でCK17は高い異型度を示す症例に発現亢進が認められ、腫瘍性変化に伴う細胞成長や構造異型の亢進に関与していることが考えられる。

CK14は、正常粘膜では基底細胞層のみに発現が認められる。CK14は未分化なケラチノサイトに発現するとの報告もあり、細胞の分化に関与するものと考えられる。今回の研究において、CK14の発現はmild dysplasia群から亢進が認められた。

CK10は正常粘膜では発現しないが、癌真珠に発現が見られ、異常角化を示すとされている。CK10陽性を示すOKD病変は、その異型度はmild dysplasiaからCISまでを含み、その分布やCK13、17の発現率も非OKD病変と差違は無かったことから、OKDの評価は細胞の異型度で評価し問題ないと考えられた。

以上より、CK17は中等度異形成以上の異形成や腫瘍性変化を、CK14はより軽度な異形成の存在を評価するにあたり有用と考えられ、またこの発現パターンは、OKD病変においても有用であると考えられた。