

氏名	林 勝 彦
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博甲第 1328 号
学位授与の日付	平成7年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻（学位規則第4条第1項該当）
学位論文題名	エナメル上皮腫，悪性エナメル上皮腫における細胞増殖能と癌遺伝子産物，癌抑制遺伝子産物の相関
論文審査委員	教授 永井教之 教授 松村智弘 教授 滝川正春

### 学位論文内容の要旨

#### 【緒言】

一般にエナメル上皮腫は，緩慢な膨張性発育を示す良性腫瘍とされているが，症例によっては侵襲性の浸潤増殖，再発，転移を示すものがあり，エナメル上皮腫の潜在的悪性能を示唆する報告もみられる。しかし，エナメル上皮腫の増殖能，悪性能に対する客観的な指標は未だ確立されていない。

近年，腫瘍細胞の増殖能からその細胞動態を解明する試みが多くなされ，腫瘍組織の悪性度侵襲度の指標としての有用性が指摘されている。一方，発癌の機構が分子レベルで明らかとなり，癌遺伝子，癌抑制遺伝子が発見され，これらのコードする蛋白の変化が，腫瘍組織の悪性度，転移性といった生物学的性格を反映することが指摘されている。

そこで本研究では，免疫組織化学的手法を用いエナメル上皮腫，悪性エナメル上皮腫における増殖細胞核抗原（PCNA）の分布と陽性率を検索し，さらに，3種類の癌遺伝子産物（c-myc 蛋白，ras 蛋白，c-erbB-2 蛋白），p53癌抑制遺伝子産物の発現と比較検討した。

#### 【材料および方法】

材料：本研究で使用した症例は，生検材料として切除されたエナメル上皮腫16例（濾胞型8例，叢状型8例），エナメル上皮腫再発例6例，および悪性エナメル上皮腫2例である。また対照として，正常歯肉上皮5例，16-20週齢ヒト胎児歯槽粘膜上皮3例を検索した。

方法：組織は10%中性緩衝ホルマリン浸漬固定後，常法に従いパラフィン包埋し，厚さ約3 $\mu$ mの連続切片を作製した。免疫組織化学的検索は，一次抗体として抗PCNA（Novocastra），抗c-myc（Oncogene Science），抗v-H-ras（Oncogene Science），抗c-neu（Oncogene Science），抗p-53（Japan tanner）を使用し，ABC法により行い光顕的に観察した。

各種蛋白の陽性率は，免疫染色を施した切片を400倍率の顕微鏡下で観察し，無作為に選んだ5ヶ所について1000個以上の腫瘍細胞に対する陽性細胞の比として算定し，平均値 $\pm$ S.D.として検討した。癌遺伝子産物，癌抑制遺伝子産物の陽性細胞率の判定は， $\pm$ ：陽性細胞率0~10%，+：10~40%，++：40~70%，+++：70~100%とした。

## 【結果】

細胞増殖能の検討：PCNA陽性細胞は、濾胞型エナメル上皮腫では腫瘍胞巣辺縁部の円柱状細胞に多く分布し、中央部細胞で少ない傾向にあったのに対し、叢状型エナメル上皮腫では腫瘍構成細胞全体に陽性細胞が散在した。しかし、PCNA陽性率はそれぞれ $13.1 \pm 3.3\%$ 、 $15.9 \pm 7.3\%$ を示し、有意差は認めなかった。エナメル上皮腫再発例のPCNA陽性率は $21.1 \pm 5.7\%$ であり、初発時症例群に比べ有意に高値を示した。悪性エナメル上皮腫のPCNA陽性率は $43.3 \pm 1.6\%$ であり、エナメル上皮腫に比し有意に高値を示した。また、成人正常歯肉上皮、および胎児歯槽粘膜では、基底細胞層およびその上層2～3層に陽性細胞の分布を認め、それぞれのPCNA陽性率は $7.5 \pm 1.9\%$ 、 $6.6 \pm 1.1\%$ であった。

癌遺伝子産物の発現：c-myc蛋白は、濾胞型エナメル上皮腫では腫瘍胞巣中央部細胞では核内に、辺縁部円柱状細胞では核、核と細胞質、あるいは核のみと多彩な染色性を示した。叢状型エナメル上皮腫では腫瘍構成細胞全体にわたり、核と細胞質、あるいは細胞質のみに局在した。悪性エナメル上皮腫では、核膜周囲の細胞質に強い陽性反応を示した。また、c-myc陽性細胞率はPCNA陽性率と正の相関を認めた。ras蛋白は、濾胞型エナメル上皮腫の腫瘍胞巣中央部細胞ではその細胞質に強い陽性反応を示すものの、濾胞型エナメル上皮腫辺縁部円柱状細胞、叢状型エナメル上皮腫では弱陽性、悪性エナメル上皮腫ではその局在をほとんど認めなかった。また、ras蛋白陽性細胞率はPCNA陽性率と負の相関を示した。c-erbB-2蛋白は、濾胞型エナメル上皮腫の胞巣辺縁部円柱状細胞においてのみ強陽性を示し、その陽性細胞率はPCNA陽性率と有意な相関を示さなかった。

p53癌抑制遺伝子産物の発現：p53蛋白は、エナメル上皮腫22例中2例（叢状型エナメル上皮腫1例、濾胞型エナメル上皮腫再発例1例）、悪性エナメル上皮腫2例中2例で腫瘍細胞の核内にその発現を認めた。さらに、p53陽性を示した症例のPCNA陽性率はいずれも高値を示した。

## 【考察】

PCNA染色結果から、濾胞型エナメル上皮腫と叢状型エナメル上皮腫では、増殖能を有する細胞の分布状態が異なることが示された。また、エナメル上皮腫再発時における増殖能の増加が示唆された。悪性エナメル上皮腫のPCNA陽性率はエナメル上皮腫に比し有意に高値を示し、PCNAが増殖能の指標として有用であると考えられた。エナメル上皮腫において、c-myc蛋白は細胞質へ分散しながら細胞増殖に関与することが示唆された。一方、ras蛋白は細胞増殖を直接促進する働きはないと考えられた。p53蛋白は、悪性エナメル上皮腫2例、PCNA陽性率で高値を示したエナメル上皮腫2例でその発現を認め、これらの症例におけるp53蛋白の異常が示唆された。さらに、p53蛋白陽性を示したエナメル上皮腫のc-myc蛋白、ras蛋白染色パターンは悪性エナメル上皮腫に類似したものだ。以上の結果から、PCNA、c-myc蛋白、ras蛋白、p53蛋白の免疫組織化学的検索が、エナメル上皮腫の悪性能に対するスクリーニングとして有用であると考えられた。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、エナメル上皮腫における増殖能，細胞学的悪性度を明らかにする目的で，エナメル上皮腫，エナメル上皮腫再発例，悪性エナメル上皮腫における増殖細胞核抗原（PCNA），5種の癌遺伝子産物，p53 癌抑制遺伝子産物の発現を免疫組織化学的に検索し，さらに，細胞増殖能と各種遺伝子産物の発現の相関性について検討したものである。その結果から以下のことが示された。

1. 悪性エナメル上皮腫の PCNA 陽性率は，エナメル上皮腫に比べ有意に高値を示し，PCNA がエナメル上皮腫の増殖能の指標として有用であることが示された。
2. c-myc 蛋白質は PCNA 陽性率と正の相関を，ras 蛋白は PCNA 陽性率と負の相関を示した。
3. c-erbB-2 蛋白質は，PCNA 陽性率と有意な相関を認めなかった。
4. c-erbB-1蛋白質，c-erbB-3 蛋白質の発現は認めなかった。
5. p53 蛋白質は，PCNA 陽性率で高値を示した悪性エナメル上皮腫，一部のエナメル上皮腫で発現を認め，これらの症例におけるp53 蛋白質の異常が示唆された。

本研究における，c-myc, ras, p53 蛋白質の免疫組織化学的検索結果，PCNA 陽性率で高値を示した一部のエナメル上皮腫で悪性エナメル上皮腫に類似した陽性細胞率および染色性を示したことから，これらのエナメル上皮腫が，悪性エナメル上皮腫と類似した生物学的性格を有することが示唆された。以上より，PCNA, c-myc, ras, p53 各蛋白質の免疫組織化学的検索がエナメル上皮腫の細胞学的悪性能に対するスクリーニングとして有用であることが示唆された。本結果は，エナメル上皮腫の本態を解明する上で組織学的，臨床病理学的に有意義な業績である。よって申請者は博士（歯学）の学位を得る資格があると認める。