

学位研究紹介
--------

## 口腔粘膜上皮内癌と浸潤癌で対比的な パールカン結合増殖因子の発現様式 Differential expression profiles of perlecan-binding growth factors between carcinoma in-situ and invasive squamous cell carcinoma of the oral mucosa

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻  
顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野  
長谷川真弓

Divisions of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial  
Region, Department of Tissue Regeneration and Reconstruction  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental  
Sciences  
Mayumi Hasegawa

### 【緒 言】

口腔粘膜の悪性境界病変である異型上皮、上皮内癌、微小浸潤癌の病理組織学的鑑別診断はヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色のみでは、現在までのところ不可能である。客観的な病理組織学的判定には客観的かつ科学的根拠が必要との認識のもとに、種々の有用な補助手段が開発されてきたが、その経過で、上皮下半層の基底細胞様細胞の単調増殖と上半層の角化細胞層とが明瞭な組織学的な対比をしめす特徴的な二層性異型上皮が悪性転化の可能性の高い病態として注目され、その病態形成の分子機序も解明されて、口腔扁平上皮癌の成立過程を理解するのに最も重要な病理組織学的疾患概念と把握されてきた。二層性異型上皮の下半層の増殖細胞間隙には細胞外基質分子パールカン (perlecan) が沈着していることが知られており、この上皮下半層が細胞増殖中心とみなされている。そこで、perlecan と結合してその作用を発揮することが判明している血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)、ソニック・ヘッジホッグ (SHH)、ケラチノサイト増殖因子 (KGF) の口腔粘膜の腫瘍性病変における詳細な発現状況が不明であることに着目し、それらの発現様式を明らかにすることで、二層性異型上皮の病態のさらに深い理解をえて扁平上皮癌の浸潤性獲得への関与について検討するとともに、病理組織学的診断の補助手段としての可能性を検証するために本実験を計画した。

### 【材料と方法】

新潟大学口腔病理検査ファイルから、主病巣周囲に正常上皮と異型上皮をとまなう口腔扁平上皮癌または上皮内癌 81 例を抽出し、30 部位の正常上皮、二層性異型上皮をふくむ中等度異型上皮 50 病変、上皮内癌 45 病変、扁平上皮癌 30 病変を検討対象とした。同症例のホルマリン固定パラフィン包埋材料から 3 μm 厚の連続切片を作製して HE 染色をほどこすとともに、perlecan および perlecan 結合因子の VEGF, SHH, KGF ならびに二種の VEGF 受容体 Flt-1 と Flk-1, さらに細胞増殖マーカー Ki-67 について免疫組織化学を用いて発現様式を比較検討した。免疫組織化学には、デキストランポリマー・ペルオキシダーゼ標識酵素抗体法をもちいて、DAB で発色させて、ヘマトキシリンで核の対比染色をおこなった。抗原賦活化のための前処理として、VEGF には 0.15% トリプシン消化を、SHH, Flt-1, Flk-1 および Ki-67 にはクエン酸緩衝液 (pH 6.0) 中でオートクレーブ処理した。VEGF, SHH, KGF の発現に関しては、染色強度を (-), (+), (++) の 3 段階で、上皮層を基底細胞層、傍基底細胞層、棘細胞層下半層、棘細胞層上半層、角化層の 5 層にわけて評価した。

### 【結果と考察】

正常粘膜では、perlecan は粘膜固有層の結合組織と粘膜上皮傍基底層の細胞間にごくわずかに陽性、VEGF は基底細胞層と傍基底細胞層の主として細胞質内、SHH は基底細胞層から棘細胞層 (下層) の核内にそれぞれ弱陽性であったが、KGF の陽性はみられなかった。いっぽう Flt-1, Flk-1 は基底細胞層から棘細胞層までの核内に陽性であった。二層性異型上皮では、perlecan は上皮下半層細胞間隙に網目模様を呈するように陽性で、Ki-67 は perlecan 陽性域の細胞核に陽性であった。VEGF と SHH も同様に上皮下半層に強陽性、KGF は弱陽性をしめた。Flt-1 と Flk-1 は共に下半層の核に陽性であった。異型上皮から上皮内癌に移行すると共にその傾向は強調され、とくに VEGF と Flk-1, SHH の陽性傾向が下半層で増強された。これら分子の陽性域は基本的に Ki-67 陽性域すなわち病変の細胞増殖帯と一致しており、細胞増殖に機能していると推定された。浸潤癌では、perlecan 陽性は癌胞巢内から消失して間質空間に移行したが、KGF も perlecan と同様の挙動をしめし

た。しかし、VEGFとFlt-1, Flk-1およびSHHの発現は癌細胞胞巣周縁部にとどまり、perlecanとKGFとは異なる発現態度をしめした(表1)。すなわち、口腔粘膜扁平上皮癌の発生進行段階でperlecanをリザーブとして三種の増殖因子がオートクラインにシグナル受容されて増殖活性が上昇している一般原則は確認されたが、浸潤前後で個々の増殖因子の産生と受容機序が異なっていることが示唆された。

以上のとおり、perlecan結合という現象は同一でも、

その供給様式と受容様式が異なることによって口腔扁平上皮癌の浸潤が制御されている可能性が明らかになった。さらにこれらの細胞増殖因子の免疫組織化学が上皮内癌とその前後の悪性段階との鑑別診断に有用であることも判明した。今後は、癌細胞・間質細胞共培養システムを用いるなど試験管レベルでperlecanを基軸とした浸潤を制御している分子機構を解明すべく新たな研究展望が開拓された。

表1. パールカン結合増殖因子の層ごとにおける陽性率の比較

病変	部位数	陽性率(%)											
		VEGF				SHH				KGF			
		基底層	傍基底層	棘細胞層(下層)	棘細胞層(上層)	基底層	傍基底層	棘細胞層(下層)	棘細胞層(上層)	基底層	傍基底層	棘細胞層(下層)	棘細胞層(上層)
正常上皮	30	53	40	13	3	65	41	12	0	0	0	0	0
中等度異型上皮	50	100	100	86	36	89	86	71	29	62	62	62	62
上皮内癌	45	100	100	100	98	100	100	94	91	95	95	95	95
浸潤癌	30	100	100	100	97	100	100	100	100	0	0	0	0