

氏名	米 本 嘉 憲
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 1449号
学位授与の日付	平成8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	口腔扁平上皮癌と口腔粘膜上皮異形成におけるp53 およびRb癌抑制遺伝子産物と増殖細胞核抗原（PCNA）の免疫組織化学的検討
論文審査委員	教授 永井教之 教授 西嶋克巳 教授 松村智弘

### 学位論文内容の要旨

#### 【緒言】

癌化に関連する遺伝子のなかで、p53およびRb癌抑制遺伝子については、多くの癌組織において、それら遺伝子産物（p53およびRB蛋白質）の発現に変化が認められることが報告されている。また両蛋白質は、正常細胞において細胞周期と関連することが知られている。しかし、口腔扁平上皮癌の発生進展過程における両蛋白質の発現変化や、両蛋白質と増殖能との関連についての検索は少ない。

そこで本研究では、口腔扁平上皮癌の発生進展過程におけるp53およびRB蛋白質の発現変化、および両蛋白質と増殖能との関連を知る目的で、口腔扁平上皮癌とその前癌病変の一つである口腔粘膜上皮異形成について、両蛋白質と増殖細胞マーカーであるPCNAの発現を免疫組織化学的に検索した。

#### 【材料および方法】

材料：1990年4月から1994年3月までに、岡山大学歯学部第一口腔外科を受診し、生検材料の検索が可能であった口腔扁平上皮癌49例（高分化型24例，中分化型15例，低分化型10例），口腔粘膜上皮異形成45例（軽度28例，中等度10例，高度7例），対照として正常口腔粘膜上皮3例を用いた。また転移については、初回入院時に頸部郭清術を施行し、病理組織学的に頸部リンパ節転移の検索が可能であった20例について転移の有無を検索した。

免疫組織化学的染色：生検材料を10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定後、常法に従いパラフィン包埋し、3 $\mu$ mの薄切切片を作製した。1次抗体として、抗p53抗体（BP53-12, Japan tanner,  $\times 100$ ），抗RB抗体（3H9, MBL,  $\times 40$ ），抗PCNA抗体（PC10, Novocastra,  $\times 100$ ）を用い、ABC法により免疫組織化学的染色を行った。

p53蛋白質の評価：対象組織中にp53蛋白質陽性細胞を認めない症例を陰性，陽性細胞を認める症例を陽性とし，陰性を非過剰発現，陽性を過剰発現と評価した。

RB蛋白質の評価：対象組織中ほぼ全領域にRB蛋白質陽性細胞を認める症例を陽性，陽性細胞を認めない症例を陰性，明らかな陽性細胞欠落部位を認める症例を陽/陰性とし，陽性を正常発現，陰性，陽/陰性を発現異常と評価した。

PCNA 陽性細胞率：対象組織中1000個以上の細胞中のPCNA 陽性細胞数を計算し，百分率表示することでPCNA 陽性細胞率とした。

## 【結果および考察】

1. 口腔扁平上皮癌の発生進展過程における癌抑制遺伝子産物 (p53およびRB蛋白質) の発現について

### 1) 正常口腔粘膜上皮と口腔粘膜上皮異形成

正常口腔粘膜上皮ではp53蛋白質は3例とも過剰発現を認めず、RB蛋白質も発現異常は認めなかった。口腔粘膜上皮異形成ではp53蛋白質は、軽度25.0%、中等度60.0%、高度71.4%の症例に過剰発現を認めたが、RB蛋白質では発現異常例を認めなかった。

### 2) 口腔扁平上皮癌 (原発巣)

口腔扁平上皮癌ではp53蛋白質は、高分化型70.8%、中分化型73.3%、低分化型70.0%の症例に過剰発現を認め、RB蛋白質では、高分化型41.7%、中分化型40.0%、低分化型50.0%の症例に発現異常を認めた。

3) 口腔扁平上皮癌における癌抑制遺伝子産物の発現変化と頸部リンパ節転移の有無について

p53蛋白質非過剰発現群で転移を認めた症例は8例中5例、過剰発現群では12例中7例であり、両群間の転移頻度に有意な差は認めなかった。RB蛋白質正常発現群で転移を認めた症例は8例中2例、発現異常群では12例中10例であり、有意に発現異常群の転移頻度が高かった。

2. 口腔扁平上皮癌の発生進展過程におけるPCNAの発現について

### 1) 正常口腔粘膜上皮と口腔粘膜上皮異形成

正常口腔粘膜上皮では、基底細胞層、傍基底細胞層に陽性細胞を認め、陽性細胞率は $11.3 \pm 1.7\%$ であった。口腔粘膜上皮異形成では、軽度で上皮層の下1/3に陽性細胞を認め、陽性細胞率は $22.6 \pm 6.6\%$ 、中等度で上皮層の下1/3から中1/3にかけて陽性細胞を認め、陽性細胞率は $33.0 \pm 9.0\%$ 、高度で上皮層のほぼ全層に陽性細胞を認め、陽性細胞率は $38.4 \pm 10.6\%$ であった。

### 2) 口腔扁平上皮癌 (原発巣)

口腔扁平上皮癌では、高分化型で腫瘍胞巣辺縁部に多くの陽性細胞を認め、陽性細胞率は $37.1 \pm 10.9\%$ 、中分化型で胞巣中央部においても多くの陽性細胞を認め、陽性細胞率は $45.9 \pm 8.1\%$ 、低分化型で瀰漫性に陽性細胞を認め、陽性細胞率は $53.2 \pm 7.3\%$ であった。

3. 口腔扁平上皮癌における癌抑制遺伝子産物の発現変化とPCNAの発現について

口腔扁平上皮癌のp53蛋白質非過剰発現群と過剰発現群、RB蛋白質正常発現群と発現異常群において、それぞれのPCNAの発現様式、陽性細胞率に差は認めなかった。

以上より、口腔扁平上皮癌の発生進展過程において、p53蛋白質の過剰発現は前癌病変の比較的初期に、RB蛋白質の発現異常は癌組織の段階、しかもその進展の比較的后期に認められることが示唆された。また増殖能については、上皮異形成では異形の程度が高度になるほど、扁平上皮癌では組織分化度が低分化になるほど高くなることが示唆された。しかし、扁平上皮癌においてp53およびRB蛋白質の発現変化による増殖能の変化は認められない可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本論文は、前癌病変の一つである口腔粘膜上皮異形成と口腔扁平上皮癌における癌抑制遺伝子産物（p53およびRB蛋白質）の発現変化、および両蛋白質と増殖能との関連性について検討したものである。

p53蛋白質は口腔粘膜上皮異形成の比較的軽度の段階ですでに過剰発現症例がみられたが、RB蛋白質は口腔粘膜上皮異形成の段階では発現異常症例はみられなかった。

口腔扁平上皮癌では、p53蛋白質は71.4%と高頻度の症例に過剰発現が認められ、RB蛋白質は40.8%の症例に発現異常が認められた。

両蛋白質の発現変化と頸部リンパ節転移との関連については、p53蛋白質では非過剰発現群と過剰発現群との間に転移症例頻度に差はみられなかったが、RB蛋白質では正常発現群より発現異常群の転移症例頻度が有意に高かった。

増殖能については、口腔粘膜上皮異形成では上皮異形の程度が高度になるほど、口腔扁平上皮癌では組織分化型が低分化になるほど上昇する傾向がみられたものの、口腔扁平上皮癌において、p53蛋白質非過剰発現群と過剰発現群およびRB蛋白質正常発現群と発現異常群との間に増殖能の差はみられなかった。

これらより、p53蛋白質の過剰発現は前癌病変の一つである口腔粘膜上皮異形成の比較的初期の段階に、RB蛋白質の発現異常は癌組織の段階、しかも比較的後期に認められることが示唆された。また口腔扁平上皮癌において、p53およびRB蛋白質の発現変化と増殖能との間に相関は認められない可能性が示唆された。

以上の結果は口腔外科学および病理組織学領域において、有用な知見を示したものであり、博士（歯学）の学位論文として価値あるものと認めた。