

ふりがな氏名	なるせ かおり 成瀬 かおり
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 845 号
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 8 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Expression of E-, P-, and N-cadherin and $\alpha$ -, $\beta$ -, and $\gamma$ -catenin with respect to invasion in ameloblastoma (エナメル上皮腫における E-, P-, N-cadherin, $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -catenin の発現の検討)
学位論文掲載誌	Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology 第 31 巻 第 3 号 平成 31 年 5 月
論文調査委員	主査 井関 富雄 教授 副査 中嶋 正博 教授 副査 富永 和也 教授

### 論文内容要旨

エナメル上皮腫は、歯原性上皮からなり、歯原性外胚葉性間葉を伴わない良性腫瘍である。主に顎骨に発生し、局所侵襲性に増殖する。

エナメル上皮腫の侵襲性に関与する因子を明らかにするため、39 例のエナメル上皮腫を対象として、E-, P-および N-cadherin と  $\alpha$ -,  $\beta$ -および  $\gamma$ -catenin の発現を免疫組織化学的および Western blotting を用いて解析した。

免疫組織化学染色の評価方法は、E-, N-cadherin,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -catenin では 200 倍顕鏡下で、腫瘍細胞 500 個のうち細胞膜に 50%以上の発現を強発現(++), 50%未満で 10%以上の発現を弱発現(減弱)(+), 10%未満を未発現(-)とした。一方、P-cadherin については、腫瘍細胞 500 個のうち腫瘍胞巣の周辺細胞から星状細胞の細胞膜に 50%以上の発現を強発現(++), 腫瘍胞巣の周辺細胞や一部の星状細胞の 50%未満で 10%以上の発現を弱発現(+), 腫瘍胞巣の周辺細胞の 10%未満を未発現(-)とした。

Cadherin と Catenin は、腫瘍細胞膜に発現していた。E-cadherin は(++ )が 27 例, (+)が 12 例であった。これに対し、N-cadherin は(+ )が 7 例, (-)が 32 例であった。P-cadherin は(++ )が 12 例, (+)が 24 例, (-)が 3 例であり, (+)が最も多い結果となり, 間葉性のマーカーである N-cadherin よりは上皮性の E-cadherin に近い分布であった。裏打ちタンパクである  $\alpha$ -catenin は(++ )が 19 例, (+)が 15 例, (-)が 5 例であり, (++), (+), (-)それぞれに認められた。 $\beta$ -catenin は(++ )が 31 例, (+)が 8 例,  $\gamma$ -catenin は(++ )が 6 例, (+)が 20 例, (-)が 13 例であった。

E-cadherin の 12 例は発現が減弱し、P-cadherin の 12 例は過剰発現した。そして N-cadherin の 7 例に発現がみられ、 $\alpha$ -catenin の 20 例、 $\beta$ -catenin の 8 例および  $\gamma$ -catenin の 33 例に発現の減弱がみられた。

各タンパクの確認を Western blotting にて行ったところ、E-cadherin、P-cadherin、N-cadherin、 $\alpha$ -catenin、 $\beta$ -catenin、 $\gamma$ -catenin は、それぞれ 120kDa、120kDa、140kDa、102kDa、92kDa、83kDa で検出された。

E-cadherin の発現減弱は細胞接着の低下、そして P-cadherin の過剰発現は細胞増殖と関連している。N-cadherin の発現は腫瘍浸潤に関連し EMT への関与を、また E-cadherin の発現領域における  $\alpha$ -catenin の減弱は、E-cadherin の機能の異常を示唆している。

これらの結果から、Cadherin および Catenin が EMT やエナメル上皮腫の局所侵襲性に関与していることを示している。

### 論文審査結果要旨

本研究はエナメル上皮腫の侵襲性に関与する因子を明らかにするため、39 例のエナメル上皮腫を対象として、E-、P-および N-cadherin と  $\alpha$ -、 $\beta$ -および  $\gamma$ -catenin の発現を免疫組織化学的および Western blotting を用いて解析したものである。

39 例のエナメル上皮腫（濾胞型 15 例、網状型 24 例）の生検組織および切除標本を 10%ホルマリンで固定し、パラフィン包埋した。厚さ 2 $\mu$ m の切片を作製し、免疫組織化学的染色を行った。

Western blotting は細胞溶解物から抽出したタンパク質をポリアクリルアミドゲル上で電気泳動し、タンパク質を PVDF 膜に転写したのち、一次抗体と共にインキュベートした。サンプルをペルオキシダーゼ結合二次抗体とともにインキュベートし、ECL 検出試薬を用いて可視化した。

また、N-cadherin と E-cadherin の免疫二重染色を行った。

その結果、Cadherin と Catenin は、腫瘍細胞の細胞膜に発現していた。E-cadherin の 12 例は発現が減弱し、P-cadherin の 12 例は過剰発現した。そして N-cadherin の 7 例に発現がみられた  $\alpha$ -catenin の 20 例、 $\beta$ -catenin の 8 例および  $\gamma$ -catenin の 33 例に発現の減弱がみられた。

Western blotting による各タンパクは E-cadherin、P-cadherin、N-cadherin、 $\alpha$ -catenin、and  $\beta$ -catenin  $\gamma$ -catenin がそれぞれ 120kDa、120kDa、140kDa、102kDa、92kDa、83kDa で検出された。

E-cadherin の発現の減弱は細胞接着の低下、そして P-cadherin の過剰発現は細胞増殖と関連している。N-cadherin の発現は腫瘍浸潤に関連しており、EMT への関与を、また、E-cadherin の発現領域における  $\alpha$ -catenin の減弱は、E-cadherin の機能の異常を示唆している。

これらの結果は、Cadherin および Catenin の発現が EMT を誘導しエナメル上皮腫の局所侵襲性に関与を示している。以上より Cadherin や Catenin の発現は従来考えられていた以上に様々な発現様式を示していたことが本研究において明らかになったことより博士論文に値すると判定した。