

ふりがな氏名	きたよし まりな 北吉 麻理奈
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 963 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 3 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	Immunohistochemical study of CK13, CK17, CK19, Ki-67, p53, p63, p21, p27 and Cyclin D1 in oral epithelial dysplasia (口腔粘膜の上皮性異形成における CK13, CK17, CK19, Ki-67, p53, p63, p21, p27 および Cyclin D1 に関する免疫組織化学的検討)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第 57 巻 第 1 号 令和 5 年 4 月
論文調査委員	主査 井関 富雄 教授 副査 富永 和也 教授 副査 竹信 俊彦 教授

論文内容要旨

World Health Organization (WHO)は 1997 年に口腔前癌病変, 2005 年に口腔前癌状態という概念を提言した. しかし, 2017 年に WHO はこの 2 つを統合し, 口腔潜在的悪性疾患 (OPMDs) という新たな概念を提言した. OPMDs は口腔癌へ進展する危険性を有しており, 危険性の程度については病理組織学的検査で口腔上皮性異形成 (OED) を診断することが重要であるとされている. 2017 年の WHO 分類では, OED は 2 分類法もしくは 3 分類法に分類されている. 以前より, OED の分類に関する研究は多くなされており, CK13, CK17, Ki-67 および p53 についてはその有用性が示唆されているが, OED を明確に分類できる指標は確立されていない. そこで本研究では, 口腔上皮過形成 (Hp), OED および口腔扁平上皮癌 (OSCC) 診断の補助となるような指標を探索するため, 細胞骨格因子, 増殖関連因子および細胞周期関連因子などについて免疫組織化学的に検討した.

材料は, 大阪歯科大学附属病院口腔外科第 1 科で手術や生検で採取した口腔粘膜の Hp6 例, 軽度上皮性異形成 (MiD) 13 例, 中等度上皮性異形成 (MoD) 11 例, 重度上皮性異形成 (SD) 11 例および OSCC9 例であった. OED は 2017 年の WHO 分類に基づき再度分類した. 標本は 4 μ m に薄切し, オートクレーブ 121°C を 15 分またはプロテアーゼ溶液にて抗原賦活処理を行い, 内因性ペルオキシダーゼを 3% H₂O₂ でブロッキングを行った. CK13, CK17, CK19, Ki-67, p53, p63, p21, p27 および Cyclin D1 の一次抗体反応を行い, ペルオキシダーゼ標識抗マウス IgG ポリクロナール抗体で二次抗体反応を行った. DAB で発色させ, ヘマトキシリンで核染色を行った. 評価方法は, CK13 および

CK17 が, (0); 発現なし, (1); 弱い発現または斑状発現, (2); 強い発現およびびまん性発現, CK19 が, (0); 発現なし, (1); 陽性染色面積が組織切片の 1/3 未満, (2); 陽性染色面積が組織切片の 1/3 から 2/3 まで, (3); 陽性染色面積が組織切片の 2/3 以上と評価した. Ki-67, p53, p63, p21, p27 および Cyclin D1 は, 3 視野でそれぞれ 500 個以上の上皮細胞を数え, 陽性細胞率を算出した. 統計学的解析に関して, CK13, CK17 および CK19 は Yates $m \times n$ カイ二乗検定にて検討し, Ki-67, p53, p63, p21, p27 および Cyclin D1 は, Mann-Whitney U-test を使用した. 有意水準 5%以下を有意差ありとした.

CK13 と CK17 は, 異形度が上がるにしたがい負の相関関係にあり, SD と Hp, MiD の間に, OSCC と Hp, MiD の間に有意差を認めた. また, 異形度が上がるにしたがい Ki-67, p53, p63, p21 および Cyclin D1 の発現率は増加し, p27 の発現率は低下していた. Ki-67 では SD と OSCC の間で発現率に有意差を認め, p53 は MoD と SD の間および SD と OSCC の間で発現率に有意差を認めた. また, p63 は MiD と MoD の間, MoD と SD の間および SD と OSCC の間で発現率に有意差を認め, p27 は MoD と SD の間で発現率に有意差を認めた.

今回の結果から, CK13, CK17, Ki-67, p53 に加えて Ki-67, p53, p63 および p27 の発現率を算出することにより, OED や OSCC の病理組織診断における補助診断として利用できる可能性が考えられた.

論文審査結果要旨

2017 年に WHO によって提言された口腔潜在的悪性疾患 (OPMDs) は, 口腔癌に進展する可能性を有しており, 危険性の程度は病理組織学的検査で口腔上皮性異形成 (OED) を診断することが重要であるとされている. OED は 2 分類法もしくは 3 分類法に分類されているが, OED を明確に分類できる指標は確立されていない. 本研究は, 口腔上皮過形成 (Hp), OED および口腔扁平上皮癌 (OSCC) 診断の補助となるような指標を探索するため, 細胞骨格因子, 増殖関連因子および細胞周期関連因子などについて免疫組織化学的に検討した.

材料は, 大阪歯科大学附属病院口腔外科第 1 科で手術や生検で採取した口腔粘膜の Hp, 軽度上皮性異形成 (MiD), 中等度上皮性異形成 (MoD), 重度上皮性異形成 (SD) および OSCC であった. OED は 2017 年の WHO 分類 3 分類法に基づき再度分類した. それぞれの標本を, CK13, CK17, CK19, Ki-67, p53, p63, p21, p27 および Cyclin D1 に関して免疫組織化学的染色を行い, 評価した.

CK13 と CK17 は, 異形度が上がるにしたがい負の相関関係にあり, SD と Hp, MiD の間に, OSCC と Hp, MiD の間に有意差を認めた. また, 異形度が上がるにしたがい Ki-67, p53, p63, p21 および Cyclin D1 の発現率は増加し, p27 の発現率は低下していた. Ki-67 では SD と OSCC の間で発現率に有意差を認め, p53 は MoD と SD の間および SD と OSCC の間で発現率に有意差を認めた. また, p63 は MiD と MoD の間, MoD と SD の間および SD と OSCC の間で発現率に有意差を認め, p27 は MoD と SD の間で発現率に有意差を認めた.

今回の結果から, CK13, CK17, Ki-67, p53, p63, p21, p27 および Cyclin D1 が OED および OSCC に関与していると考えられた. また, Ki-67, p53, p63 および p27 の発現率を算出することにより, Hp, OED ならびに OSCC の病理組織診断における診断の補助として利用できる可能性が考えられた.

以上より, 本論文は Hp, OED ならびに OSCC の分類に関して免疫組織化学的な指標の探索を行い,

補助診断となる指標を明らかにした点において本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判断した。