

臨床的および免疫組織化学的検索による unicystic ameloblastoma の生物性状の検討

赤坂 壽彦 永山 元彦 竹内 宏

朝日大学歯学部口腔病理学講座 (主任：竹内 宏教授)

抄録 unicystic ameloblastomaは病理組織学的にも、また臨床的動態からも、侵襲性を有するsolid typeの通常型エナメル上皮腫とは異なる腫瘍である。病理組織学的に裏装上皮は通常の歯原嚢胞とは明らかに異なり、その裏装上皮の構造からグループ1型から3型に分類されている。グループ1および2型は嚢胞腔自体あるいは嚢胞腔内に増殖するが、グループ3型はその上皮組織に増殖する。しかし、3型であっても破壊性の動態を示さない。このようなsolid typeとの違いは、腫瘍の生物学的性状の差に基づくものと考えられる。今回、この点を明らかにするために、unicystic ameloblastomaと通常型エナメル上皮腫の臨床病理学的および免疫組織化学的対比を試みた。とくに免疫組織化学的検索によって、PCNAは通常型エナメル上皮腫の多くの細胞に発現されるのに対し、unicystic ameloblastomaではその発現が極めて少ないこと、E-カドヘリン陽性細胞は両腫瘍に共通して著しく少ないこと、 β -カテニンはunicystic ameloblastomaの多くの細胞に発現されること、さらにPCNAと β -カテニン発現細胞はほとんど一致しないことが明らかになった。これらの所見は、両腫瘍の臨床的性状、とくに組織侵襲性の違いに実質細胞の増殖性が深く関与していることと、その増殖性を腫瘍抑制遺伝子の調節因子でもある β -カテニンが抑制していることが示唆された。

キーワード：単嚢胞性エナメル上皮腫，proliferating cell nuclear antigen，E-カドヘリン， β -カテニン

緒 言

エナメル上皮腫は一般に歯胚形成期の歯原上皮由来し、腫瘍実質の組織構造によって通常型である叢状型と濾胞型の2型に大別され¹⁾、これらに大きな嚢胞が生じると広義にcystic ameloblastomaと名付けることがある²⁾。類似の腫瘍にunicystic ameloblastoma¹⁾とplexiform unicystic ameloblastoma²⁾があるがこれらは広義のcystic ameloblastomaとは細部で異なっている。すなわち、unicystic ameloblastomaは歯原嚢胞に極めて類似した単嚢胞性嚢胞を有しこの嚢胞壁自体が腫瘍の性状を有するか、嚢胞壁に関連してエナメル上皮腫が存在するものであり、組織構造から3種の亜型が分類されている。因みに、plexiform unicystic ameloblastomaはその亜型の1つである¹⁾。このような組織構造は歯原嚢胞が先行しそこから腫瘍化するかの感を与えるが、Shaferら²⁾は嚢胞と腫瘍のどちらの病変が先行す

るのかは判定し難いと述べている。いずれにしてもunicystic ameloblastomaは通常型エナメル上皮腫の叢状型や濾胞型エナメル上皮腫より若年者に発症すると同時に侵襲性が低く、再発もはるかに少ないことが知られ³⁻⁵⁾、これらの臨床的所見は通常型のエナメル上皮腫とは生物学的性状がかなり異なることを示唆している。しかし、両腫瘍の詳細な生物学的性状の差異に関してはまだ十分に解明されてはいない。そこで今回、通常型エナメル上皮腫とunicystic ameloblastomaの生物学的性状の差異を明らかにすることを目的として、両腫瘍の臨床的性状の対比、ならびに生物学的性状の対比の一環として腫瘍実質細胞の細胞増殖性や、細胞接着分子でありしかも腫瘍発生にも関連性の深いE-カドヘリン (epithelial-cadherin) と β -カテニン (beta-catenin)⁶⁻⁸⁾の発現性を免疫組織化学的に検討した。

研究材料と方法

1. 検索の概略

本学附属病院にてエナメル上皮腫と診断された患者

の手術標本を、通常型エナメル上皮腫 (conventional ameloblastoma) と unicystic ameloblastoma に類別し、

本論文の要旨は、第134回岐阜歯科学会例会 (平成12年10月21日、岐阜) において発表した。
(平成13年1月10日 受理)

それらの臨床的検索と免疫組織化学的検索を行い、両腫瘍の差異を抽出した。免疫組織化学的検索による細胞増殖性についてはPCNA (proliferating cell nuclear antigen)の発現を指標とした。また、このPCNA、E-カドヘリンおよび β -カテニンについては、正常歯胚のそれと対比するために、マウス歯胚における発現についても併せて観察を行った。

2. 被験材料と組織型の類別

朝日大学歯学部口腔外科来院患者の中のエナメル上皮腫と診断された計40名の手術材料を被験材料とし、10%中性ホルマリンで24~48時間固定した後、通法に従ってパラフィン切片とし、まずHE染色を施し組織型の分類、通常型エナメル上皮腫およびunicystic ameloblastomaの2型の類別を行い、さらにunicystic ameloblastomaはWHO⁹⁾の分類に準じて、Group I, II, IIIに分類した。

3. 臨床的検索

類別した通常型エナメル上皮腫およびunicystic ameloblastomaについて、主訴、来院時年齢、性差、発症部位、経過およびX線所見の6点を調査した。

4. 免疫組織化学的検索

1) マウス歯胚の免疫組織化学的検索

胎生13日齢から生後2日の間の歯胚を材料とした。胎仔はエーテル麻酔下で母体を開腹し取り出した。胎仔および出生後のマウスとも、頸部より切断後、10%中性ホルマリンで2日間固定を行い、通法に従ってパラフィン包埋して4~6 μ mの連続切片とした。

1次抗体には抗PCNAモノクローナル抗体 (Santa Cruz, California), 抗E-カドヘリンモノクローナル抗体 (マウスおよびヒトに特異的, Santa Cruz, California), および抗 β -カテニンポリクローナル抗体 (Takara Biochemical, 大津)を用いた。

2) エナメル上皮腫の免疫組織化学的検索

10%中性ホルマリン固定後、パラフィン切片とし組織型類別を行った連続切片を用い、1次抗体にマウス歯胚の検索に用いた上記3種に加えて、ヒトのみに特異的な抗E-カドヘリンモノクローナル抗体 (Takara Biochemical, 大津)をも用いた。

3) 染色手順

脱パラフィン, 上昇エタノール脱水した切片を0.3% H₂O₂を含むエタノールに30分間浸漬することによって内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止した後、1.0% bovine serum albuminによって30分間ブロッキングを行った。そして各1次抗体を室温下で2時間反応させた後、streptavidin-biotin-peroxidase法 (LSAB2 Kit, Dako, 京都)を用い、diaminobenzidin-PBSで2~3分間発色させ、ヘマトキシリンで核対比染色を施した。

なお、各1次抗体は、抗PCNAは1.0% bovine serum albumin含有10mM phosphate buffered saline (pH 7.4)にて1.0 μ g/mlに、抗E-カドヘリンと抗 β -カテニンは10mM CaCl₂, 1.0% bovine serum albumin 含有20 mM Tris buffered saline (pH7.4)でそれぞれ1.0 μ g/mlおよび5.0 μ g/mlに希釈して用いた。

結 果

1. 病理組織学的所見

検索例40例中、通常型エナメル上皮腫は25例でunicystic ameloblastomaは15例を数えた。この15例のunicystic ameloblastomaをWHO⁹⁾の分類に準じて類別すると、Group I型(裏装上皮内に腫瘍の性状を伴う例)は11例、Group II型(I型に加えて嚢胞腔内にエナメル上皮腫様の小結節を伴う例)3例、Group III型(嚢胞壁に叢状型や濾胞型の増殖を伴う例)は1例であった。Group I型のunicystic ameloblastomaの嚢胞は単層から十数層の裏装上皮によって形成され、基底層部ではヘマトキシリン好性の球状あるいは短円柱状細胞より成る点ですべて共通していたが、内腔側では同様の細胞がそのまま嚢胞を形成するものや、星状網細胞様細胞形態を示しつつ嚢胞壁を形成するものに大別でき、時に扁平上皮化生をも認めた(Fig. 1A)。Group II型ではGroup I型の一部から内腔に突出するように上皮増殖を伴う組織塊が形成され、同部の上皮は充実性や索状の増殖性を示し、その上皮端に歯胚状の構造を示すものが多々認められた(Fig. 1B)。Group III型は嚢胞の基底部の数カ所から叢状型に類似した構造を認めた(Fig. 1C)。

2. 臨床的所見

Table 1Aおよび1Bはこれらエナメル上皮腫の臨床的所見を今回の調査項目順に示したものである。

1) 主訴

両腫瘍とも顔貌腫脹がほとんどであり、これに疼痛や下唇麻痺を訴えた例がそれぞれ6例と2例であったが、これらはいずれも通常型エナメル上皮腫であった。

2) 来院時平均年齢

通常型は31.5歳、unicystic ameloblastomaは32.8歳でわずかにunicystic ameloblastomaが高かった。しかし、unicystic ameloblastomaの患者で、74歳や2例の50歳代という極端な高齢患者を除くと、本症の平均年齢は27.5歳になり、通常型エナメル上皮腫患者の来院時年齢よりはるかに低くなる傾向を示した。

3) 性別

通常型は男性14例、女性11例、unicystic ameloblastomaは男性7例、女性8例でunicystic ameloblastomaに性差はほとんどなかった。

4) 発症部位

上・下顎大白歯部、上・下顎小白歯部、上・下顎前歯部および下顎角部から下顎枝部に分けると、通常型

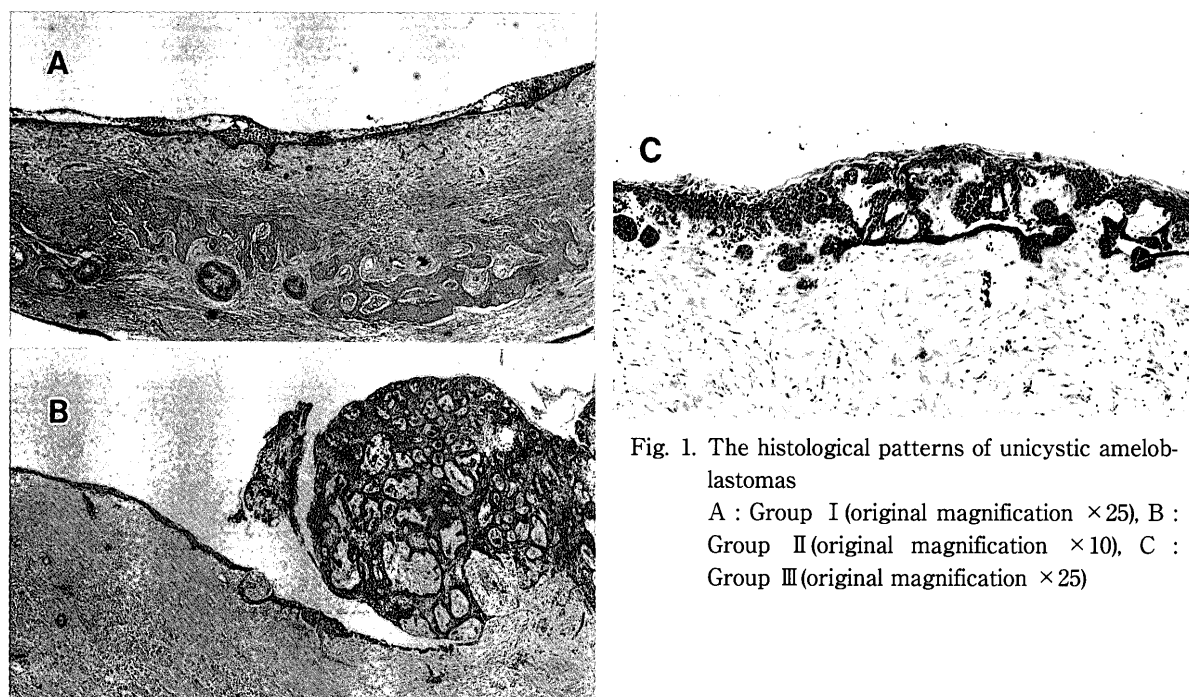


Fig. 1. The histological patterns of unicystic ameloblastomas
 A : Group I (original magnification $\times 25$), B : Group II (original magnification $\times 10$), C : Group III (original magnification $\times 25$)

Table 1A. The clinical findings of the conventional ameloblastoma cases

No.	chief complaint	age*	sex	site and location area	progress	X-ray examination
1	swelling	35	male	left mandibular molar	recurrence	unilocular
2	swelling	53	male	left mandibular molar	non	unilocular
3	swelling	52	female	left maxillary canine	non	multilocular
4	swelling	40	female	left mandibular angle	recurrence	multilocular
5	swelling	33	male	left maxillary premolar	non	unilocular
6	swelling	47	female	left mandibular molar	non	multilocular
7	swelling	40	male	left mandibular canine	non	unilocular
8	swelling	11	male	left mandibular molar	non	unilocular
9	swelling	52	female	left mandibular molar	non	multilocular
10	swelling	11	male	right mandibular molar	non	unilocular
11	swelling and pain	26	female	left mandibular molar	non	multilocular
12	swelling and paralysis	49	male	left mandibular angle	non	multilocular
13	swelling and pain	47	female	left mandibular angle	recurrence	unilocular
14	swelling and pain	30	female	left mandibular angle	non	unilocular
15	swelling	13	male	left mandibular molar	non	unilocular
16	swelling	22	female	right maxillary molar	recurrence	multilocular
17	swelling	41	male	right maxillary canine	non	unilocular
18	swelling and pain	61	male	right mandibular premolar	non	multilocular
19	swelling	20	male	left mandibular molar	recurrence	multilocular
20	swelling and pain	17	male	left mandibular angle	recurrence	multilocular
21	swelling	31	male	right mandibular angle	non	multilocular
22	swelling and pain	17	female	right mandibular angle	non	multilocular
23	swelling	20	female	right mandibular angle	non	unilocular
24	swelling	10	male	left mandibular angle	non	unilocular
25	swelling and paralysis	66	female	right mandibular molar	recurrence	multilocular

* age at the time of admitted to hospital

は下顎大白歯部が10例，下顎小白歯部が1例，下顎前歯部が1例，上顎大白歯部が1例，上顎小白歯部が1例，上顎前歯部が2例であった。また，下顎角部から下顎枝部は9例を数えた。一方，unicystic ameloblas-

tomaは下顎大白歯部が7例，下顎小白歯部が2例，下顎前歯部が0例，上顎大白歯部が0例，上顎小白歯部が1例，上顎前歯部が0例，下顎角部から下顎枝部は5例であった。このように発症部位については，両腫

Table 1B. The clinical findings of the unicystic ameloblastoma cases

No.	chief complaint	age*	sex	site and location area	progress	X-ray
1	swelling	35	female	right mandibular molar	non	multilocular
2	swelling	14	male	left mandibular molar	non	unilocular
3	swelling	55	female	left mandibular angle	non	unilocular
4	swelling	10	male	right maxillary premolar	non	multilocular
5	swelling	36	female	right mandibular premolar	non	multilocular
6	swelling	10	female	left mandibular angle	non	unilocular
7	swelling	74	female	left mandibular molar	non	multilocular
8	swelling	21	female	right mandibular molar	non	multilocular
9	swelling	58	male	right mandibular angle	non	multilocular
10	swelling	9	male	right mandibular molar	non	unilocular
11	swelling	39	male	right mandibular molar	non	unilocular
12	swelling	27	female	right mandibular angle	non	multilocular
13	swelling	12	male	left mandibular premolar	non	unilocular
14	swelling	16	female	left mandibular molar	non	unilocular
15	swelling	56	male	left mandibular angle	non	unilocular

* age at the time of admitted to hospital

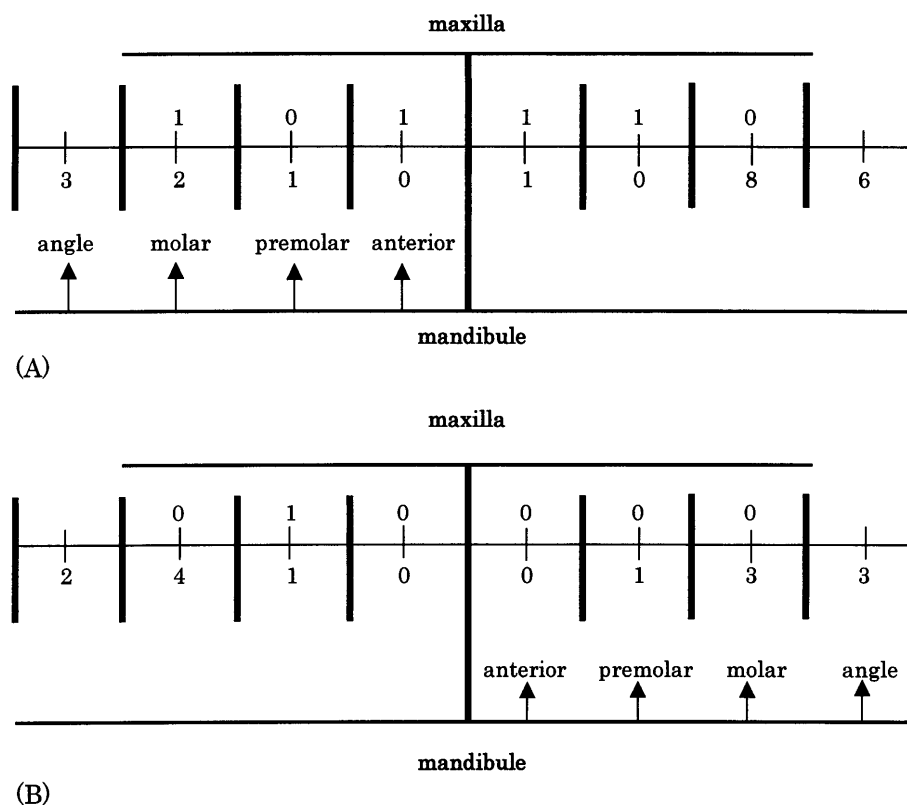


Fig. 2. The illustrations of location areas of the conventional (A) and unicystic (B) ameloblastoma cases

瘍に大差はみられなかった (Fig. 2A, B).

5) 経過

40例中7例に経過中に再発を認めたが、これらはすべて通常型エナメル上皮腫であった。

6) X線所見

通常型エナメル上皮腫では単胞性骨透過像を示した例が12例、多胞性が13例であった。また、unicystic ameloblastomaでは単胞性が8例、多胞性が7例で、両

腫瘍ともX線所見で明らかな差異を示さなかった。

3. 免疫組織化学的所見

1) マウス歯胚における染色性

エナメル上皮腫の免疫組織化学的検索に当たって、予めマウス歯胚におけるPCNA, E-カドヘリン, β -カテニンの発現状況を経時的にまとめたところ、Fig. 3のような結果を得た。

PCNAは胎生13日齢には発現細胞はなく (Fig. 3

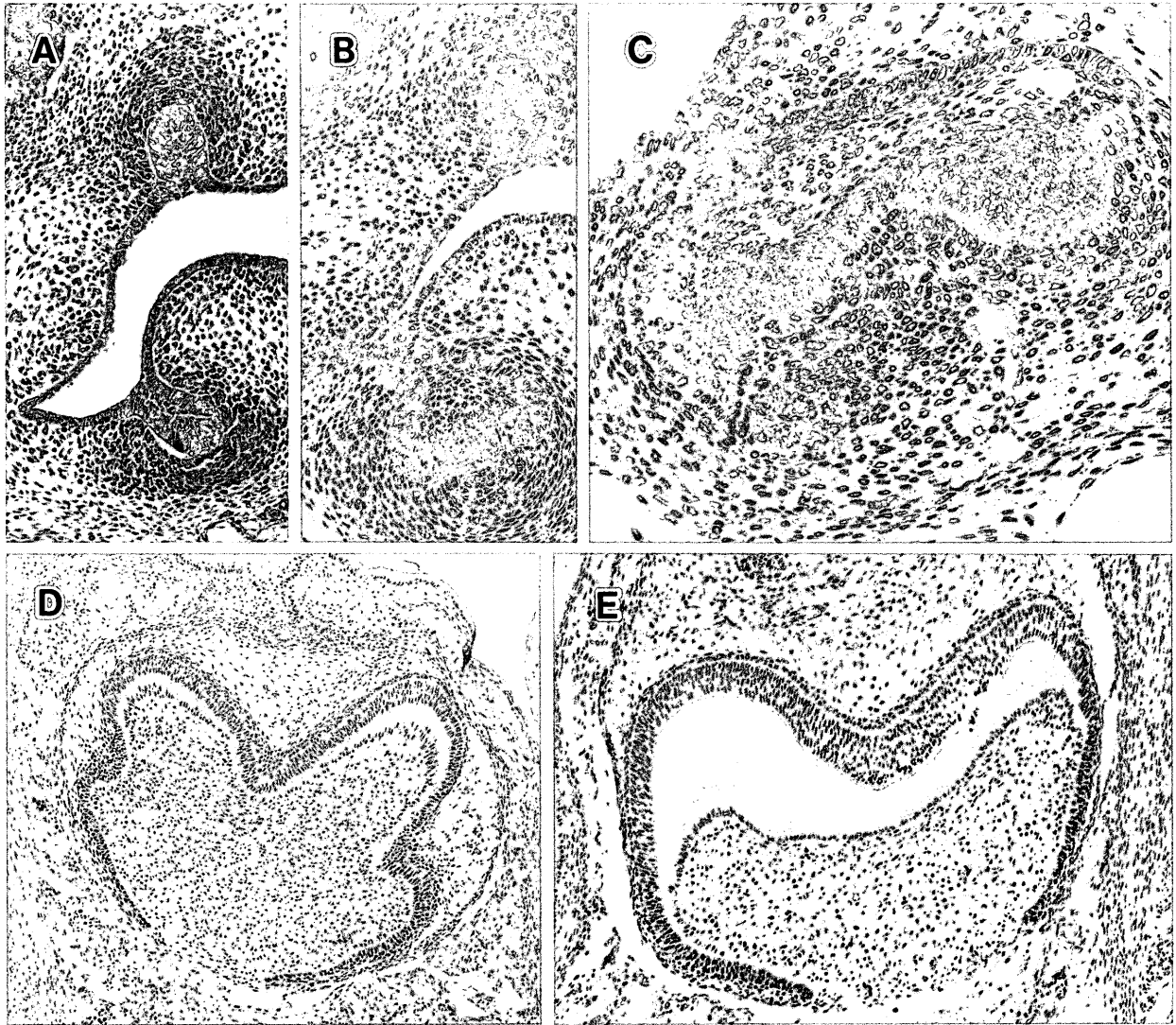


Fig. 3. Immunohistological localization of PCNA in developing tooth organ of the mouse first molar

The marker is found within the dental organ as well as in the surrounding mesenchyme at the cap stage, and localized in the enamel rod, outer ameloblasts and stellate reticulum at the bell stage. Inner ameloblasts are positive for PCNA at the dentin formation stage, and Hertwig's epithelial sheath is also positive at the enamel formation stage.

A : bud stage ; gestational 13 days (original magnification $\times 25$), B : cap stage ; gestational 14 days (original magnification $\times 25$), C : bell stage ; gestational 14.5 days (original magnification $\times 50$), D : dentin formation stage ; postnatal one day (original magnification $\times 25$), E : enamel formation stage ; postnatal two days (original magnification $\times 25$)

A), 14日齢では口腔粘膜上皮と歯蕾のわずかな細胞に発現を認め (Fig. 3B), 14.5日齢のベル状期では, エナメル結節部の細胞, 外エナメル上皮および星状網細胞の多くに, また一部の内エナメル上皮に発現を認めた (Fig. 3C). 生下直後のベル状期と1日後の象牙質形成期では, 内エナメル上皮の多くにも発現があり (Fig. 3D), 2日後では内エナメル上皮の発現が著しく減少したのに対し, 将来ヘルトウィッチ上皮鞘になる部位付近で増加傾向を認めた (Fig. 3E).

E-カドヘリンは歯蕾期, 帽状期には陽性細胞を全く見出すことはできず (Fig. 4A, B), ベル状期でも極めて稀薄な染色性を示し (Fig. 4C), 象牙質形成期の外エナメル上皮と星状網細胞に陽性を示すようになった

(Fig. 4D). また, 一部の内エナメル上皮にも陽性所見を認めるようになった.

一方, β -カテニンは蕾状期と帽状期で発現細胞を認めなかったが, ベル状期では内エナメル上皮と星状網細胞に強い発現を認め (Fig. 4E), エナメル質形成期になると内エナメル上皮にとくに多く発現細胞を認めた (Fig. 4F).

以上の染色性から, 歯胚形成過程においては, 発現時期はPCNAが早く, 続いてE-カドヘリンと β -カテニンがほぼ同時期に発現するという傾向, E-カドヘリンと β -カテニンでは発現細胞および発現量は β -カテニンが多いという傾向, PCNA発現細胞と β -カテニンの発現細胞の多くは一致しないという傾向の3点が認

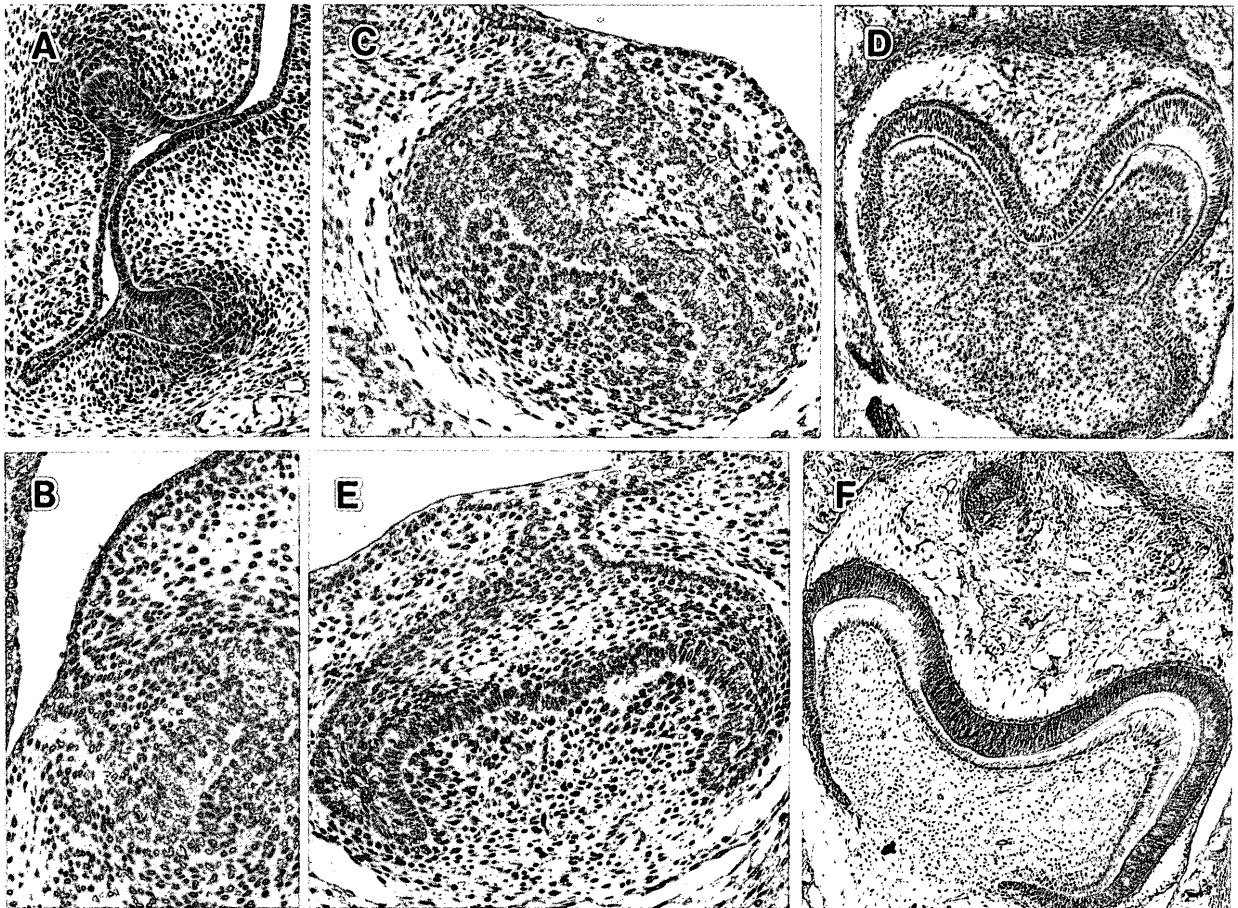


Fig. 4. Immunohistolocalization of E-cadherin and β -catenin in developing tooth organ of the mouse first molar

E-cadherin is weakly stained in the stellate reticulum at the bell stage (C), but positive stained in the outer ameloblasts and stellate reticulum at the dentin formation stage (D). β -catenin is strong positive in the stellate reticulum and inner ameloblasts at the bell stage (E) and in the enamel formation stage (F). At the bud stage (A) and cap stage (B), both markers are negative.

A : bud stage ; gestational 13 days (original magnification $\times 25$), B : cap stage ; gestational 14 days (original magnification $\times 50$), C, E : bell stage ; gestational 14.5 days (original magnification $\times 50$), D : dentin formation stage ; postnatal one day (original magnification $\times 25$), F : enamel formation stage ; postnatal two days (original magnification $\times 25$)

められた。

2) エナメル上皮腫における染色性

通常型エナメル上皮腫およびunicystic ameloblastomaにおけるPCNA, E-カドヘリン, β -カテニンの染色性を症例毎にみるとTable 2Aおよび2Bのような傾向を示した。すなわち, PCNAの染色性は通常型エナメル上皮腫に強く認められ, unicystic ameloblastomaではその発現が極めて低いという差異が明らかであった。一方, E-カドヘリンは通常型エナメル上皮腫の叢状型および濾胞型とも染色性に乏しく, unicystic ameloblastomaでは強陽性でないものの, 発現を認める例は通常型エナメル上皮腫よりも高い傾向を示した。これに対して, β -カテニンは通常型エナメル上皮腫およびunicystic ameloblastomaともに明確な陽性所見を示したものの, 陽性細胞はunicystic ameloblastomaに明らかに多い傾向を示した。

通常型エナメル上皮腫では, PCNAの発現細胞が多く (Fig. 5A), E-カドヘリンの発現は極めて少なく (Fig. 5B), また β -カテニンは円柱状細胞や星状細胞に発現を認め (Fig. 5C), その陽性細胞はE-カドヘリンのそれより多い傾向を示した。Fig. 6はすべてのマーカー陽性例であるが, 本例ではPCNA陽性細胞と β -カテニンの陽性細胞がほとんど一致しないことが明らかである。

これに対して, unicystic ameloblastomaではPCNAの陽性例は極めて少なく, β -カテニン陽性細胞が多い傾向が一般的であった (Fig. 7)。その中でもGroup IIIのPCNA陽性例では結合組織中に浸潤増殖しつつある細胞に多く (Fig. 8A), E-カドヘリンの染色性は低く (Fig. 8B), β -カテニンの染色性が高い (Fig. 8C) という点で通常型エナメル上皮腫と類似していた。

以上unicystic ameloblastomaの免疫組織化学的検索

Table 2A. The immunohistological findings of the conventional ameloblastoma cases

No.	histological pattern	PCNA	positive rates %*	E-cadherin	β -catenin
1	follicular	±	6.03 (80/1327)	-	+
2	plexiform	+	16.34 (344/2105)	-	+
3	plexiform	±	9.55 (137/1435)	-	+
4	follicular	±	5.69 (112/2319)	±	+
5	plexiform	±	6.15 (89/1447)	-	+
6	follicular	2+	18.56 (502/2705)	-	+
7	follicular	±	6.27 (113/1802)	-	+
8	plexiform	2+	24.18 (427/1766)	-	+
9	plexiform	3+	32.46 (581/1709)	-	+
10	follicular	+	12.28 (273/2224)	-	+
11	plexiform	±	1.36 (12/883)	+	+
12	plexiform	3+	32.64 (313/959)	-	-
13	follicular	2+	25.52 (649/2543)	-	3+
14	plexiform	2+	22.69 (327/1441)	-	+
15	plexiform	2+	25.98 (449/1728)	-	+
16	follicular	8+	89.83 (1484/1652)	+	+
17	plexiform	2+	25.89 (366/1415)	+	2+
18	follicular	9+	91.16 (1207/1324)	+	3+
19	plexiform	9+	97.51 (469/481)	-	3+
20	plexiform	3+	37.65 (192/510)	±	±
21	plexiform	5+	59.61 (369/619)	-	+
22	follicular	9+	95.16 (1279/1344)	+	2+
23	follicular	9+	91.40 (1827/1999)	-	+
24	follicular	7+	78.73 (1107/1406)	-	+
25	follicular	9+	96.74 (1158/1197)	-	+

* % (number of PCNA positive cells / tumor cells)

evaluation of positive rates, -: 0, ±: 1-9, +: 10-19, 2+: 20-29, 3+: 30-39, 4+: 40-49, 5+: 50-59, 6+: 60-69, 7+: 70-79, 8+: 80-89, 9+: 90-99

Table 2B. The immunohistological findings of the unicystic ameloblastoma cases

No.	histological pattern	PCNA	positive rates %*	E-cadherin	β -catenin
1	Group I	±	8.10 (145/1790)	-	+
2	Group I	-	0.24 (4/1659)	-	+
3	Group II	+	10.37 (88/849)	-	+
4	Group II	±	3.61 (41/1137)	-	+
5	Group I	+	15.48 (202/1305)	+	+
6	Group I	±	7.07 (119/1683)	-	+
7	Group II	±	6.84 (115/1681)	-	+
8	Group I	+	11.47 (78/680)	2+	+
9	Group I	+	12.42 (212/1707)	-	+
10	Group I	2+	20.26 (140/691)	-	+
11	Group I	±	6.37 (162/2543)	+	+
12	Group III	+	10.50 (55/524)	-	-
13	Group I	±	3.57 (41/1149)	-	3+
14	Group I	+	15.29 (102/667)	-	+
15	Group I	+	12.89 (45/349)	-	+

* % (number of PCNA positive cells / tumor cells)

evaluation of positive rates, -: 0, ±: 1-9, +: 10-19, 2+: 20-29, 3+: 30-39, 4+: 40-49, 5+: 50-59, 6+: 60-69, 7+: 70-79, 8+: 80-89, 9+: 90-99

からもPCNA陽性細胞と β -カテニン陽性細胞は異なるという傾向を認めた。

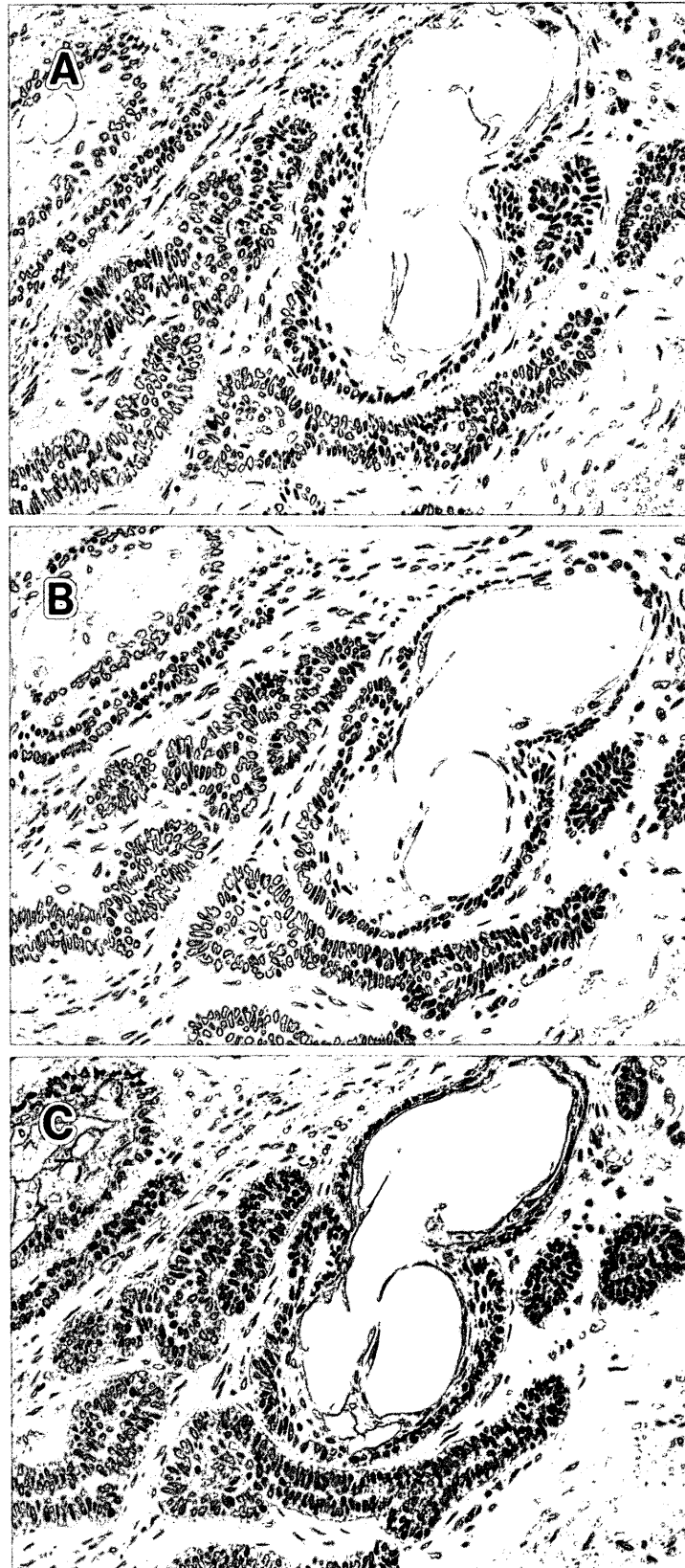


Fig. 5. Immunohistological features of a conventional ameloblastoma case
Each serial section is positive for PCNA (A), negative for E-cadherin (B) and intense positive for β -catenin (C), respectively. (original magnification $\times 50$)

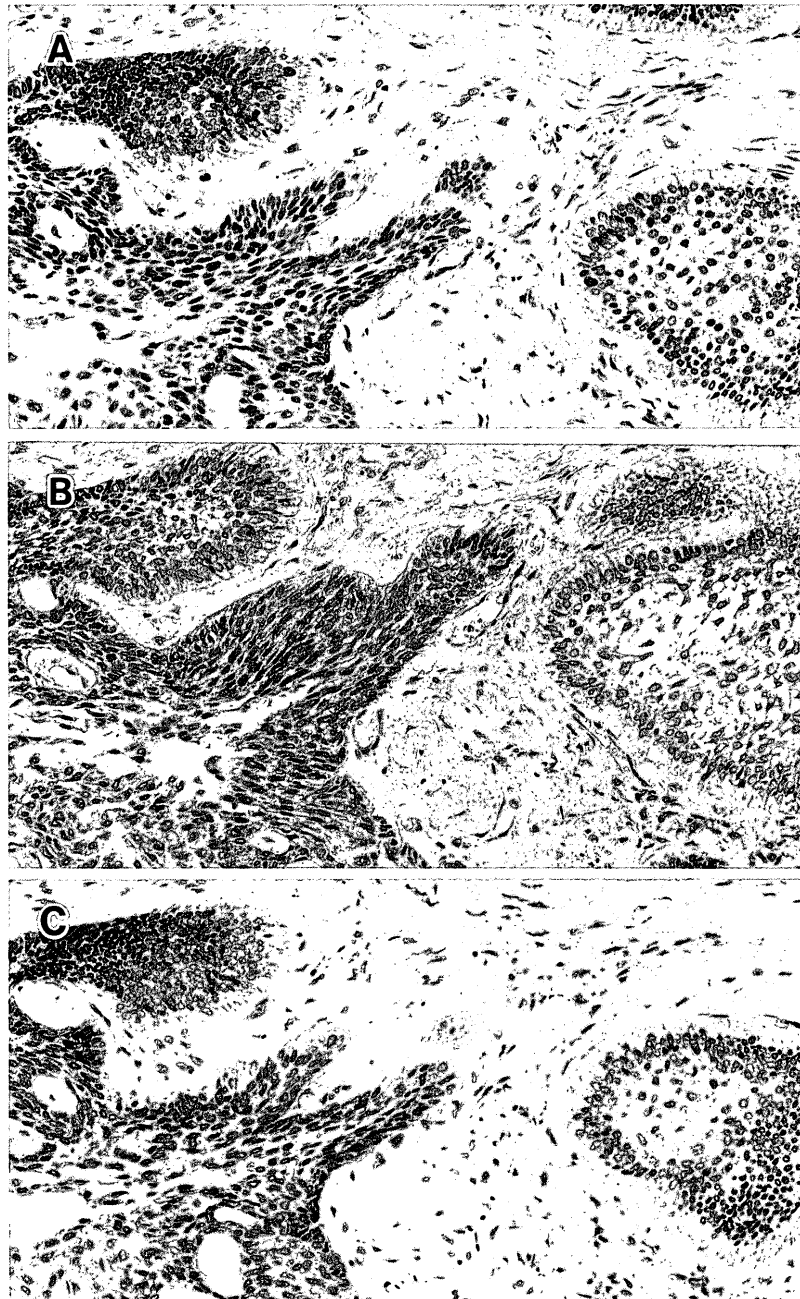


Fig. 6. Immunohistological features of another conventional ameloblastoma case

This case represents positive staining for all markers, but the each localization of PCNA and β -catenin are different. A : PCNA, B : E-cadherin, C : β -catenin (original magnification $\times 50$)

考 察

エナメル上皮腫は歯原性腫瘍の中で最も発症頻度が高く^{2,9)}、しかも口腔の非歯原性腫瘍を含めても尚高頻度であり、口腔では最も代表的な腫瘍と言い得る。本腫瘍は一般にエナメル器の歯原組織に由来するとみなされ、その他、その残存上皮、口腔粘膜上皮、歯原性嚢胞からも発症すると考えられている^{2,9)}が、いずれも大小の嚢胞形成を伴うものが多い。時に、これら嚢胞が巨大な症例では、組織発生がエナメル器か歯原性嚢

胞かの判別が付け難い。Cahn¹⁰⁾がすべての含歯性嚢胞がエナメル上皮腫に移行する潜在性を有していると記載して以来、同様の所見が数多く報告され、とりわけ Beruier and Tiecke¹¹⁾はエナメル上皮腫の25~33%が歯原嚢胞に由来するとしている。しかし、その因果関係を決定付けることは極めて困難であって、現在、なお論議の対象となっている。しかし、病理組織学的検索で、嚢胞の一部にエナメル上皮腫を含み、明らかに

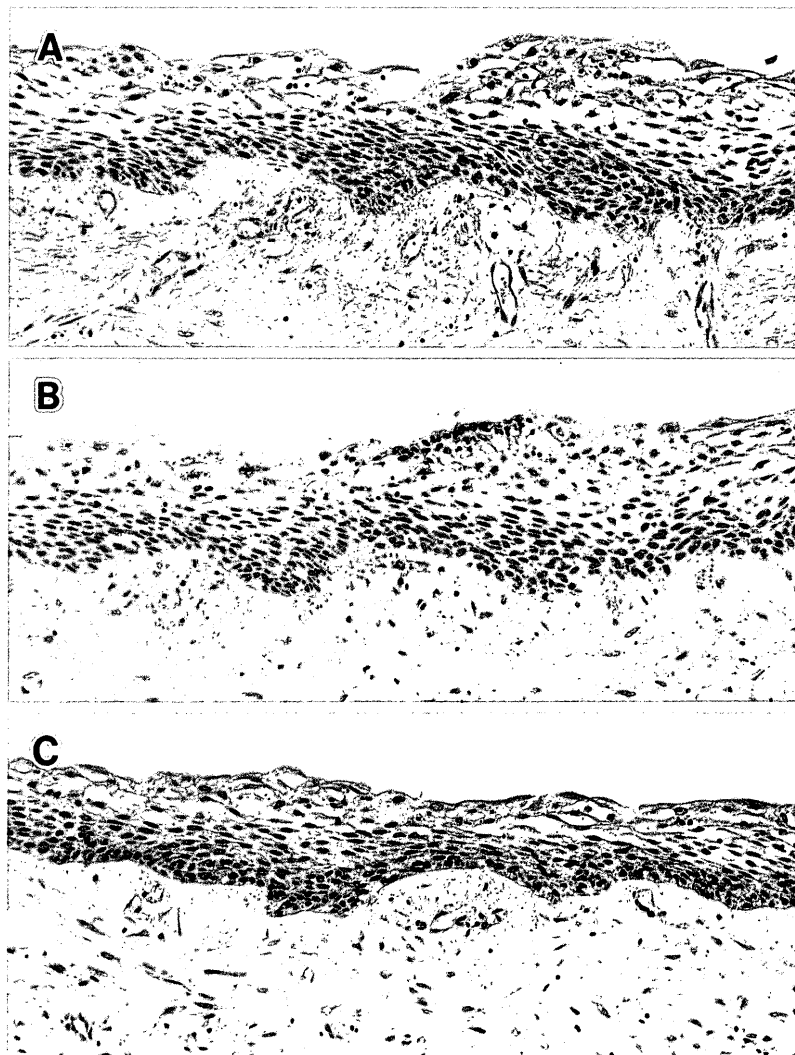


Fig. 7. Immunohistological features of a Group I unicystic ameloblastoma case

The intense positive staining for β -catenin is showed in all tumor cells but E-cadherin is weak, and PCNA is negative. (original magnification $\times 50$)

通常型エナメル上皮腫とは異なる例がある。Robinson and Martinez³⁾はこれをunicystic ameloblastomaと命名し、その後、Ackermannら⁵⁾は本腫瘍実質の増殖の様相からさらにGroup I, II, IIIの3種の亜型に分類し、WHO¹⁾もこれを採用している。その組織型からは、嚢胞壁を構成する上皮が腫瘍転化したものと考えるに足る像を呈し、その性状は、通常型エナメル上皮腫やmulticystic ameloblastomaとは多くの点で異なっている。すなわち、エナメル上皮腫は、大部分が20~50歳の間に発現され、その平均は約32歳であり、男性にやや多く、約80%が下顎骨内、とくに大臼歯部や下顎枝部に発症する^{3,4)}。その多くは発育が緩慢ではあるが、次第に顎骨を膨隆させ、このためにX線診査では単胞性や多胞性のX線透過像を呈する。そして、良性腫瘍に包含されているものの、入念な顎切除術以外の外科的療法では再燃傾向が強いことは周知の通りである。しかし、これに対してエナメル上皮腫の一型であるunicystic

ameloblastomaは、通常型よりも発見される年齢が若いことに加えて周囲組織に対する侵襲性や再発性が低い等^{3,4)}、生物学的性状が異なっている。本研究でも、unicystic ameloblastomaと診断された症例では患者はすべて無症状で、再発はなく、その他の臨床的所見でも、これまでの報告例とほぼ一致していた。また、X線診査で、本腫瘍が単に単胞性を示すに留まらず、多胞性を示す例もあったが、この点もLeiderら⁴⁾の報告と一致している。なお、本研究の来院時年齢が通常型よりも高かったのは、数例の例外的な高齢者例があったことにより、Ackermannら⁵⁾も同様の報告をしているが、これらの特殊例を除けばこれまでの報告例と同様に、通常型エナメル上皮腫よりも若年者に多いとみなすことができた。

今回、このような臨床的性状の差異を反映する生物学的性状の1つとして、通常型とunicystic ameloblastomaの細胞増殖性や細胞接着分子の発現の違いを見

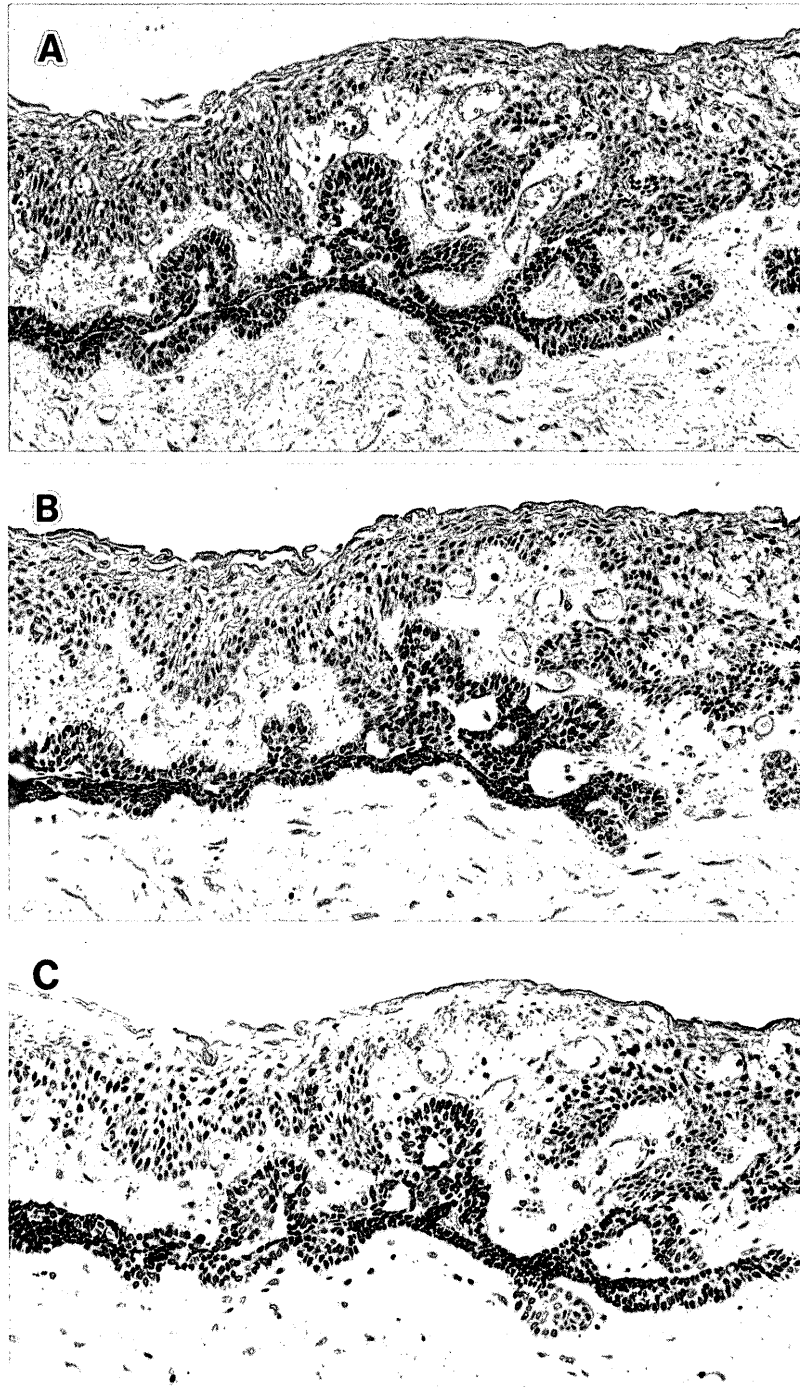


Fig. 8. Immunohistological features of a Group III unicystic ameloblastoma case

There are few positive stained cells for PCNA in the invasive tumor cells, but E-cadherin and β -catenin positive are seen. The discrepancy of staining for PCNA and β -catenin is seen as well as conventional ameloblastomas' cases. (original magnification $\times 50$)

出すことができた。すなわち、通常型エナメル上皮腫の特徴は、PCNA発現細胞は叢状型および濾胞型のほぼすべてみられるのに対して unicystic ameloblastoma では本物質の発現細胞が極めて少なく、このような PCNA の発現は、通常型エナメル上皮腫は叢状型、濾胞型とも増殖性がかなり高く、unicystic ameloblastoma は Group I, II, III のいずれの亜型もこれらに対してか

なり低いことを示し、Kim and Yook¹²⁾, Funaokaら¹³⁾, Liら¹⁴⁾および Piattelliら¹⁵⁾の cystic type よりも通常型に PCNA 発現細胞の多いという報告と同様の結果を示していた。このような増殖性の差は周囲組織への侵襲性や再発性の差異として反映されるものと考えられた。一方、E-カドヘリンと β -カテニン、とりわけ β -カテニンは unicystic ameloblastoma に発現細胞が多くみ

られる傾向にあった。E-カドヘリンは N-カドヘリン (neural cadherin) およびP-カドヘリン (placental cadherin) とともに、代表的なカルシウム依存性細胞接着分子である^{6,7)}。これらはデスマゾームに存在するデスマクレインやデスマコリン、あるいはカドヘリンに特徴的なアミノ酸配列を有しつつも分子構造が異なる、いわゆるプロトカドヘリンがスーパーファミリーを構成している。この中で、古典的カドヘリンとも称されているE-, N-およびP-カドヘリンは分子量120~135 KDaの糖タンパクで細胞外にアミノ末端が、また細胞質内にカルボキシル基が位置する。細胞外ドメインは約110アミノ酸残基から成る反復構造が5個存在し、互いの細胞が有する細胞外ドメイン同士が結合することによって細胞間接着分子の機能を発揮している。一方、細胞質ドメインはカルボキシル基末端の70残基の部分にカテニンが結合し、本物質を介してカドヘリンがアクチンフィラメントと結合する。また、E-カドヘリンは個体発生において、morphogenesisに深い関連性を有し^{6, 16-19)}、桑実胚では割球間の接着性増大に関与し、このために個々の割球の区別が不明瞭になるという、いわゆるコンパクションに貢献している¹⁶⁾。このようなカドヘリンの細胞接着機能から、癌の浸潤や転移にも関係していることが推察し得るが、事実、多種類の癌腫におけるE-カドヘリンの発現の様相が検索され²⁰⁻²³⁾、カドヘリンの産生能を消失した癌細胞は浸潤や転移を起こし易く、これに対して産生能を維持している癌細胞は、浸潤・転移の程度の低い、いわゆる分化型を示すことが明らかにされている。

歯の発生においてもE-カドヘリンは重要な機能を発揮している。即ち、蕾状期ではE-カドヘリンは口腔粘膜上皮や歯蕾上皮に、帽状期では口腔粘膜上皮、外エナメル上皮と星状網上皮に、ベル状期では口腔粘膜上皮、外および内エナメル上皮、星状網上皮、中間叢上皮に、エナメル質形成期では内エナメル上皮には消失し新たに前エナメル上皮に発現され、歯の発生のmorphogenesisや細胞分化に影響を与えていると考えられている²⁴⁻²⁷⁾。しかし、本検索では、マウス歯胚におけるE-カドヘリンと β -カテニンの発現は蕾状期と帽状期では観察することができなく、ベル状期において初めて明確に発現する傾向を認めた。しかし、 β -カテニン発現細胞は内エナメル上皮および星状細胞を中心に多数に上ったのに対し、E-カドヘリン発現細胞は少数の内エナメル上皮と星状細胞に局限していた。このような歯胚形成期における両タンパクの発現量の差異

結

通常型エナメル上皮腫およびunicystic ameloblastomaの臨床的検索ならびに免疫組織化学的検索から次の結果を得た。

1. 臨床的検索では、通常型エナメル上皮腫の中には

が有する意味は不明であるものの、通常型エナメル上皮腫における実質細胞の発現様式とほぼ類似し、通常型エナメル上皮腫を中心にE-カドヘリンと α -カテニンの発現を検索したKumamoto and Ooya²⁸⁾の所見とほぼ一致していた。しかし、このような発現性は通常型エナメル上皮腫以上にunicystic ameloblastomaに近似していた。すなわち、unicystic ameloblastomaの最大の特徴は、 β -カテニンの染色性が通常型より高い傾向を明確に示したことである。この β -カテニンの染色性とPCNAの染色性とは対向関係にあることも特徴であった。すなわち、unicystic ameloblastomaと通常型エナメル上皮腫の明らかな相違は、前者は増殖性が低く、 β -カテニンの発現傾向が強いのにに対し、後者は増殖性が高く、 β -カテニンの発現傾向が低いことであった。

このような β -カテニンは腫瘍発生に密接に関係していることが明らかにされつつある²⁹⁾。すなわち、 β -カテニンは本来、カドヘリンとの複合体として存在するカルシウム依存性細胞接着タンパクの1つで、細胞質内において、アクチンフィラメントと α -カテニンを介して結合しているが^{30, 31)}、カドヘリンとの結合の解離⁷⁾あるいは遺伝子欠損^{32, 33)}によって細胞間結合や組織の構築障害を引き起こし、また細胞外リガンド (wingless/Wnt) によって築かれるsignal transduction pathwayの一部をなし³²⁻³⁴⁾、このpathwayの賦活化によって β -カテニンの細胞核への局在をもたせられる^{35, 36)}。このような β -カテニンの性状は β -カテニンが遺伝子発現の調節に関与していることを示唆しているものであるが、近年、 β -カテニンがadenomatous polyposis of coli (APC)の腫瘍抑制遺伝子産物と結合すること^{37, 38)}、先天性のAPC遺伝子欠損は先天性小腸癌症候群、家族性多発性腺腫の原因であることが明らかにされつつある³⁸⁾。これらの知見は β -カテニンが単にE-カドヘリンと複合体をなして細胞接着に貢献するのみならず、ある種の腫瘍に対して、その腫瘍抑制遺伝子の発現を調節していることを示している。このような先人達の業績を参考にすると、今回のunicystic ameloblastomaの腫瘍細胞の β -カテニン発現が通常型エナメル上皮腫より高いという明らかな事実は、本タンパクが増殖性を抑制していることを示唆するものであり、両腫瘍のPCNA発現細胞数の著しい差異がこの示唆を裏付けていると考えられ、ひいては、両腫瘍の生物学的差異に対して一つの重要な要因であることが窺えた。

論

疼痛等の症状、再発を認めた例があったのに対して、unicystic ameloblastomaでは、これらの変化を全く認めなかった。

2. 免疫組織化学的検索では、通常型エナメル上皮腫

にPCNA発現細胞が多くみられ、E-カドヘリンや β -カテニンの発現が少なかったのに対し、unicystic ameloblastomaではPCNA発現細胞が少なく、 β -カテニンの発現細胞が多い傾向を示した。

3. 以上の所見は、通常型エナメル上皮腫と unicystic

ameloblastomaは細胞増殖性、およびこの増殖性に何らかの影響を有していると考えられる β -カテニンの発現性の差を中心に、種々の点で生物学的性状が異なり、これらが両腫瘍の臨床経過の差異に反映していると考えられた。

文 献

- 1) Kramer, I. R. H., Pindborg, J. J. and Shear, M. : World Health Organization International Histological Classification of Tumors ; Histological Typing of Odontogenic Tumours (Neoplasms and other tumours, Ameloblastoma) 2nd ed., Springer-Verlag (Berlin), 11~14, 1992.
- 2) Shafer, W. G., Hine, M. K., and Levy, B. M. : A Textbook of Oral Pathology (Ectodermal tumors of odontogenic origin, Ameloblastoma) 4th ed., W. B. Saunders (Philadelphia), 276~285, 1983.
- 3) Robinson, L. and Martinez, M. G. : Unicystic ameloblastoma : a prognostically distinct entity. *Cancer*, **40** : 2278~2285, 1977.
- 4) Leider, A. S., Eversole, L.S. and Barkin, M. E. : Cystic ameloblastoma. A clinicopathologic analysis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, **60** : 624~630, 1985.
- 5) Ackermann, G. L., Altini, M. and Shear, M. : The unicystic ameloblastoma : a clinicopathological study of 57 cases. *J. Oral Pathol.*, **17** : 541~546, 1988.
- 6) Takeichi, M. : Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science*, **251** : 1451~1455, 1991.
- 7) Ozawa, M., Ringwald, M. and Kemler, R. : Uvomorulin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87** : 4246~4250, 1990.
- 8) Pollack, A. L., Barth, A. I. M., Altschuler, Y., Nelson, W. J. and Mostov, K. E. : Dynamics of β -catenin interactions with APC protein regulate epithelial tubulogenesis. *J. Cell Biol.*, **137** : 1651~1662, 1997.
- 9) Lucas, R. B. : Pathology of Tumours of the Oral Tissues. (Ameloblastoma) 4th ed., Churchill Livingstone (Edinburgh), 31~60, 1984.
- 10) Cahn, L. R. : The dentigerous cyst is a potential adamantinoma. *Dent. Cosmos*, **74** : 889~894, 1933.
- 11) Beruier, J. L. and Tiecke, R. W. : A compilation of the material received by the registry of oral pathology. *J. Oral Surg.*, **9** : 341~348, 1951.
- 12) Kim, J. and Yook, J. I. : Immunohistochemical study on proliferating cell nuclear antigen expression in ameloblastomas. *Eur. J. Cancer B Oral Oncol.* **30B** : 126~131, 1994.
- 13) Funaoka, K., Arisue, M., Kobayashi, I., Iizuka, T., Kohgo, T., Amemiya, A. and Totsuka, Y. : Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in 23 cases of ameloblastoma. *Eur. J. Cancer B Oral Oncol.* **32B** : 328~332, 1996.
- 14) Li, T-J., Browne, R. M. and Matthews, J. B. : Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in unicystic ameloblastoma. *Histopathology*, **26** : 219~228, 1995.
- 15) Piattelli, A., Fioroni, M., Santinelli, A. and Rubini, C. : Expression of proliferating cell nuclear antigen in ameloblastomas and odontogenic cysts. *Oral Oncol.*, **34** : 408~412, 1998.
- 16) Takeichi, M. : The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. *Development*, **102** : 639~655, 1988.
- 17) Magee, A. I. and Buxton, R. S. : Transmembrane molecular assemblies regulated by the greater cadherin family. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **3** : 854~861, 1991.
- 18) Geiger, B. and Ayalon, O. : Cadherins. *Annu. Rev. Cell Biol.*, **8** : 307~332, 1992.
- 19) Grunwald, G. B. : The structural and functional analysis of cadherin calcium-dependent cell adhesion molecules. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **5** : 797~805, 1993.
- 20) Schipper, J. H., Frixen, U. H., Behrens, J., Unger, A., Jahnke, K. and Birchmeier, W. : E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: inverse correlation with tumor dedifferentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res.*, **51** : 6328~6337, 1991.
- 21) Shiozaki, H., Doki, Y., Oka, H., Iihara, K., Miyata, M., Kadowaki, T., Matsui, S., Inoue, M. and Mori, T. : E-cadherin expression and cancer invasion and metastasis. *Hum. Cell*, **6** : 94~99, 1993.
- 22) Shimoyama, Y. and Hirohashi, S. : E- and P-cadherin in gastric carcinomas. *Cancer Res.*, **51** : 2185~2192, 1991.
- 23) Shimoyama, Y. and Hirohashi, S. : Cadherin intercellular adhesion molecule in hepatocellular carcinomas: loss of E-cadherin expression in an undifferentiated carcinoma. *Cancer Lett.*, **57** : 131~135, 1991.
- 24) Luning, C., Rass, A., Rozell, B., Wroblewski, J. and Obrink, B. : Expression of E-cadherin during craniofacial development. *J. Craniofac. Genet. Dev. Biol.*, **14** : 207~216, 1994.
- 25) Palacios, J., Benito, N., Berraquero, R., Pizarro, A., Cano, A. and Gamallo, C. : Differential spatiotemporal expression of E- and P-cadherin during mouse tooth development. *Int. J. Dev. Biol.*, **39** : 663~666, 1995.
- 26) Fausser, J. L., Schlepp, O., Aberdam, D., Meneguzzi, G., Ruch, J. V. and Lesot, H. : Localization of antigens associated with adherens junctions, dermatomes, and hemidesmosomes during murine molar morpho-

- genesis. *Differentiation*, **63** : 1~11, 1998.
- 27) Obara, N., Suzuki, Y., Nagai, Y. and Takeda, M. : Expression of E- and P-cadherin during tooth morphogenesis and cytodifferentiation of ameloblasts. *Anat. Embryol. (Berl.)*, **197** : 469~495, 1998.
- 28) Kumamoto, H. and Ooya, K. : Expression of E-cadherin and α -catenin in epithelial odontogenic tumors: an immunohistochemical study. *J. Oral Pathol. Med.*, **28** : 152~157, 1999.
- 29) Shibuya, Y., Ri, S., Umeda, M., Yoshikawa, T., Masago, H. and Komori, T. : Ultrastructural localization of E-cadherin and α -/ β -catenin in adenoid cystic carcinoma. *Histopathology*, **35** : 423~431, 1999.
- 30) Aberle, H., Butz, S., Stappert, J., Weissig, H., Kemler, R. and Hoschuetzky, H. : Assembly of the cadherin-catenin complex in vitro with recombinant proteins. *J. Cell Sci.*, **107** : 3655~3663, 1994.
- 31) Rimm, D. L., Koslov, E. R., Kebriaei, P., Cianci, C. D. and Morrow, J. S. : $\alpha 1$ (E)-catenin is actin-binding and-bundling protein mediating the attachment of F-actin to the membrane adhesion complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92** : 8813~8817, 1995.
- 32) Peifer, M., Orsulic, S., Pai, L. M. and Loureiro, J. : A model system for cell adhesion and signal transduction in *Drosophila*. *Dev. Suppl.*, 163~176, 1993.
- 33) Cox, R. T., Kirkpatrick, C. and Peifer, M. : Armadillo is required for adherens junction assembly, cell polarity and morphogenesis during *Drosophila* embryogenesis. *J. Cell Biol.*, **134** : 133~148, 1996.
- 34) McCrea, P. D., Briehner, W. M. and Gumbiner, B. M. : Induction of a secondary body axis in *Xenopus* by antibodies to β -catenin. *J. Cell Biol.*, **123** : 477~484, 1993.
- 35) Funayama, N., Fagotto, F., McCrea, P. and Gumbiner, B. M. : Embryonic axis induction by the armadillo repeat domain of β -catenin: evidence for intracellular signaling. *J. Cell Biol.*, **128** : 959~968, 1995.
- 36) Gumbiner, B. M. : Signal transduction of β -catenin. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **7** : 634~640, 1995.
- 37) Hulsken, J., Birchmeier, W. and Behrens, J. : E-cadherin and APC compete for the interaction with β -catenin and the cytoskeleton. *J. Cell Biol.*, **127** : 2061~2069, 1994.
- 38) Rubinfeld, B., Souza, B., Albert, I., Munemitsu, S. and Polakis, P. : The APC protein and E-cadherin form similar but independent complexes with α -catenin, β -catenin, and plakoglobin. *J. Biol. Chem.*, **270** : 5549~5555, 1995.
-

Clinicopathological and Immunohistochemical Studies of Unicystic Ameloblastoma

TOSHIHIKO AKASAKA, MOTOHIKO NAGAYAMA and HIROSHI TAKEUCHI

Department of Oral Pathology, Asahi University School of Dentistry

(Chief: Prof. Hiroshi Takeuchi)

1851 Hozumi-cho, Motosu-gun, Gifu Pref., 501-0296, Japan

Key words : Unicystic ameloblastoma, PCNA, E-cadherin, β -catenin

SUMMARY *It is well known that the unicystic variant of ameloblastoma is a distinct pathologic entity and should be separated from the solid invasive form of the neoplasm on the basis of histopathologic and behavioral features. Microscopically, the cystic lining has distinct features allowing for differentiation from ordinary odontogenic cysts, and is classified into those variants (group 1 to 3) by the morphology of the lining epithelium. Group 1 and 2 proliferate within the cystic wall or in the lumen of the cystic wall, while the tumor cells in groups 3 exhibit invasive pattern in the subepithelial tissue of cystic wall. However, the destructive behavior even in groups 3 is markedly less than that in the solid invasive variety of ameloblastoma. This clinicopathologic discrepancy between unicystic and other type of ameloblastoma (solid and/or conventional type) may be the result of difference in their biological natures, and in this study we investigated the differences using clinicopathological and immunohistochemical analysis. The marker of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) was markedly present in the tumor cells of the solid type of ameloblastoma, while the cells of all variants of unicystic ameloblastoma did not express the marker. E-cadherin (epithelial cadherin) was markedly weak positive in all tumor cells of both the unicystic and solid type, while β -catenin was characterized by a more marked expression in the unicystic ameloblastoma compared to the solid type, and the cells that expressed this substance were not PCNA positive cells. These findings strongly suggest that the difference in the clinical behavior between the two types of ameloblastoma originates from the proliferation of tumor cells, and the proliferation is regulated by the expression of β -catenin, which is a regulatory factor for tumor inhibition.*