

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	岩佐 彰展
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 永山 元彦 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 村松 泰徳 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 河野 哲
論文題目	口腔粘膜腫瘍性病変におけるレクチン染色
<p>【目的】</p> <p>口腔癌（扁平上皮癌）の前駆病変や境界病変の病理診断は、WHO 分類の指針を基準として細胞異型の程度を中心に診断されているが、口腔粘膜の部位特異性を考慮したものではないため、病理医の病理診断基準にも大きな差異がみられることが問題となっている。病理組織学的な診断基準策定は多分野で研究が進められているが、これを規定する有力な候補遺伝子、診断マーカーおよび抗体についてはほとんど報告されていないのが現状である。</p> <p>口腔病変の糖鎖研究についても、癌の浸潤・転移に関する研究が主体で、以前は数種類のみレクチンについてレクチン組織化学的染色を用いた報告がみられたが、その意義については途絶えているのが現状である。そこで口腔粘膜の腫瘍性病変について診断や治療に結びつくような糖鎖構造改変現象を明らかにすることを目的として、レクチン結合性を詳細に検討し、特徴的な糖鎖構造をデータベースにて検索する研究を行った。</p> <p>【材料および方法】</p> <p>朝日大学歯学部医科歯科医療センター病理診断科において、上皮性異形成（OED, 21 領域）、上皮内癌（CIS, 15 領域）と診断された 32 症例について、病理診断で用いられている CK10/13 と CK17 の局在について免疫染色を行った。続いて Concanavalin A (Con A), <i>Glycine max</i> (soybean) agglutinin (SBA), <i>Triticum vulgare</i> (wheat germ) agglutinin (WGA), <i>Dolichos biflorus</i> agglutinin (DBA), <i>Ulex europaeus</i> agglutinin I (UEA I), <i>Ricinus communis</i> agglutinin (RCA120), <i>Arachis hypogaea</i> (peanut) agglutinin (PNA), <i>Griffonia (Bandeiraea) simplicifolia</i> lectin I (GSL I), <i>Pisum sativum</i> agglutinin (PSA), <i>Lens culinaris</i> agglutinin (LCA), <i>Phaseolus vulgaris</i> erythroagglutinin (PHA-E), <i>Phaseolus vulgaris</i> leucoagglutinin (PHA-L), <i>Sophora japonica</i> agglutinin (SJA) および Succinylated <i>Triticum vulgare</i> (wheat germ) agglutinin (sWGA) のレクチン染色を行った。対照群として用いた正常部粘膜上皮 (Nor, 21 領域) は、OED および CIS 症例や他の良性病変や病変の断端部に存在する口腔粘膜上皮を用いた。本研究は朝日大学歯学部倫理審査委員会による審査および承認を得て実施した (承認番号: 26172 号)。</p> <p>レクチン染色結果は、それぞれのレクチンが特異的に結合し、結合親和性が強い末端の糖鎖構造を Lectin Frontier DataBase (LfDB, https://acgg.asia/db/lfdb/) を用いて解析した。</p>	

【結 果】

CK10/13 免疫染色では, Nor において陽性局在を示したが OED および CIS では陰性であった. CK17 免疫染色では, Nor で陰性であったが, OED および CIS で陽性局在を示した. レクチン染色では, Con A, SBA, PHA-E, PHA-L は組織全体に染色されたが, PSA, SJA および sWGA では染色されなかった. RCA120, DBA, GSL I および WGA では, Nor で染色されたが, OED および CIS では染色されなかった. UEA I, PNA および LCA は Nor で染色されなかったが, OED および CIS では染色された.

LJ/DB 検索では, OED および CIS においてフコースが付加した糖鎖構造や bisecting GlcNAc 構造を有する糖鎖構造が多くみられた.

【考 察】

レクチン染色結果と免疫染色結果より, レクチンの結合性は CK10/13 および CK17 と同様に, Nor で染色されるが OED や CIS で染色されないレクチン群, Nor で染色されないが OED や CIS で染色されるレクチン群および染色性が変化しないレクチン群に分類されることが明らかとなった.

UEA I, PNA および LCA が Nor で染色されず, OED および CIS で染色されたことから, 染色性に変化がないレクチンと, OED および CIS で染色された 3 種類のレクチンが特異的に結合する糖鎖構造を比較することにより, 上皮細胞に腫瘍性変化が生じると構造改変が生じる糖鎖構造を明らかにすることができる. 本研究で SBA は Nor と OED, CIS との間に染色性の相違はみられなかったが, 糖鎖構造は染色性が変化するレクチン群と共通する構造が多かった. しかしながら GlyTouCanID G46491JP だけは, 他のレクチンが結合する糖鎖構造にはみられない構造であったことより, G46491JP の構造は変化しない糖鎖構造であることが示唆された.

OED および CIS で染色されるレクチンである UEA I が結合する糖鎖構造には比較的短い糖鎖構造が多く, 染色性が変化しないレクチンの SBA と共通する構造が 3 種類みられた. またフコースを有する構造が多く, フコースの付加は発癌と関連するという報告と合致する. PNA では他のレクチンが結合する糖鎖構造と共通する構造がほとんどみられず, 腫瘍性病変の病理診断へ応用できる可能性が示唆された. また悪性腫瘍と強い関連があることが報告されている bisecting GlcNAc 構造もみられた.

【結 論】

本研究では, CK10/13 と CK17 免疫染色, レクチン染色およびデータベース検索により, 口腔粘膜に生じた腫瘍性病変における糖鎖改変現象について以下の結論を得た.

1. 口腔粘膜腫瘍性病変の発症, 進展においてレクチン結合性が変化することが明らかとなった.
2. レクチン結合性は CK10/13 および CK17 と同様の変化を示すレクチンが存在することが明らかとなった.

口腔粘膜に発症した腫瘍性病変では, フコースの付加や bisecting GlcNAc 構造を有する糖鎖構造が多くみられることが明らかとなった.