

原 著

口腔の各種上皮組織と上皮性病変のサイトケラチンの発現性

桑 原 広 明 伊 藤 範 明 佐 藤 勝
永 山 元 彦 竹 内 宏

Expression of Cytokeratins in Various Epithelia and Epithelial Lesions
in the Oral Region

KUWABARA HIROAKI, ITO NORIAKI, SATO MASARU, NAGAYAMA MOTOHIKO and TAKEUCHI HIROSHI

口腔組織を構成している上皮組織（口腔粘膜上皮，唾液腺上皮，歯原性上皮），および唾液腺上皮や歯原性上皮から発症する腫瘍ならびに嚢胞におけるサイトケラチン（pan-CK, CK7, CK8, CK10, CK13, CK14, CK18およびCK19）の発現を免疫組織化学的に検索した結果，CK8, CK14およびCK19は正常上皮，腫瘍実質，嚢胞の裏装上皮のすべてに発現した。しかし，CK7は歯原性上皮と歯原性腫瘍および歯原性嚢胞に発現がなく，それ以外のすべての正常および病変上皮はこれを発現した。CK10は一部の口腔粘膜上皮の角化層付近と glandular odontogenic cyst (GOC) に発現するものがみられた以外はすべて陰性であった。また，CK18も歯原性上皮の一部に極めて弱い発現性を示す例があった。しかし，GOC は例外的に強く発現した。GOC は今回検出の対象としたすべてのサイトケラチンを発現し，他の病変と比べてかなり特殊な病変とみなすことができた。組織学的に，このGOC と類似性の高い顎中心性粘表皮癌は，CK18が非発現であるほかはGOC と同様の発現性を示した。ムチカルミン染色では，正常唾液腺上皮と唾液腺腫瘍に染色陽性を示し，同時にGOC の裏装上皮にも陽性を示した。

これらの所見から，口腔を構成する上皮細胞は，すべてがCK8とCK14を基本的な細胞骨格としていること，その他のサイトケラチンは上皮の種類によって質的（種類）あるいは量的（発現の強さ）に差異を示し，これは分化の違いを反映しているものと考えられた。

また，サイトケラチン発現性とムチカルミン染色性から，GOC は粘表皮癌と近縁の病変，あるいは前駆病変の可能性であることも示唆された。

キーワード：サイトケラチン，腺性歯原性嚢胞，唾液腺腫瘍，歯原性腫瘍，歯原性嚢胞

Abstract: More than 20 types of cytokeratins (CKs), which are well known as intermediate filaments of epithelial cells, have been analyzed in various types of epithelial cells. The expression pattern of proteins differs with the kind of epithelium associated with cell differentiation. Therefore, the peculiarity of CK expressions can be applied to the differential diagnosis of neoplasms arising from various types of epithelial cells.

To clarify the pattern of cytokeratins in the cells comprising the oral epithelial tissues and lesions originating from various epithelial tissues, we performed immunohistochemical analyses of the expression pattern of CKs (pan-CK, CK7, CK8, CK10, CK13, CK14, CK18, and CK19). Further, we also analyzed the nature of CKs expression and mucicarmine staining to determine the difference between the bony central mucoepidermoid carcinoma (CMEC) arising from mandible and the glandular odontogenic cyst (GOC).

CK8, CK14, and CK19 were expressed in the epithelial cells of all specimens in this study. CK7 was expressed in the epithelial cells of normal mucosal and salivary gland, but was not expressed in the odontogenic tumors and odontogenic cysts epithelia. CK10 was expressed only in a part of oral mucosal epithelium and GOC lining epithelium. However, the intensity of CK10 expression was weak in both types of epithelial cells. The expression of CK18 also showed a tendency to be limited to several types of cells such as salivary gland

ductal cells and GOC lining epithelial cells.

These findings indicate that epithelial cells in the oral region including those from abnormal tissue express the same CKs, and different sorts of CKs, suggesting that these features of the CK expression dependant on variations in cellular differentiation among the oral epithelium.

GOC lining epithelium showed a specific expression pattern that expressed all CKs. It was also peculiar that the expression patterns of CKs in GOC were similar to those of mucoepidermoid carcinoma cells, and both lesions exhibited mucicarmine-positive staining. These findings suggest that these lesions are related to each other and/or GOC is the pre-existing or pre-cancerous lesion of central mucoepidermoid carcinoma.

Key words: cytokeratin, glandular odontogenic cyst, salivary gland tumor, odontogenic tumor, odontogenic cyst

緒 言

口腔を形成する上皮組織には、口腔粘膜上皮、唾液腺上皮および歯原性上皮の3種類がある。これら組織は原始口腔粘膜上皮に由来する上皮である点で共通しているが、発生途上における分化の方向性から、成熟した各上皮の形質はかなり異なっている。これは、各上皮の組織形態を見ても容易に分かることであり、分子レベルの形質発現にはさらに多くの違いがあると推測することができる。

上皮細胞に特異的なサイトケラチン (cytokeratin, CK) の発現性においても上皮の種類によって局在の差異があり、そのため上皮の分化マーカーにもなっている^{1,2)}。CKsは中間径フィラメントの一つで、現在、約20種類に分類され、上皮由来の病変、とくに上皮性腫瘍の診断や鑑別にも広く応用されている³⁻⁵⁾。

今回、このようなCKsの性状を応用して、口腔領域の正常上皮組織、およびこれら組織から発症する唾液腺腫瘍、歯原性腫瘍ならびに歯原性嚢胞のCKsの発現性を免疫組織化学的に検索した。さらに、CKsの発現パターンから、代表的な異所性腫瘍である顎骨中心性粘表皮癌とその近縁関係にあるとみなされている腺性歯原性嚢胞 (glandular odontogenic cyst, GOC)^{6,7)}の組織発生や両疾患との関連を考察した。

なお、本研究は、朝日大学歯学部倫理委員会の承認を得て行った (受付番号21076号)。

材料と方法

1. 材料

1) 正常上皮組織

正常口腔粘膜組織、正常唾液腺組織および歯原性上皮を対象とした。

口腔粘膜上皮と唾液腺上皮は、何らかの病変で外科的手術を受けた摘出材料中に付随した正常組織5例を用いた。歯原性上皮は通常では見ることが困難なため、摘出材料中に存在していた正常歯原性上皮 (島) と、萌出嚢胞壁を裏装する縮合エナメル上皮のそれぞ

れ5例を試料に用いた。

2) 唾液腺腫瘍

大小唾液腺に発症した唾液腺腫瘍の中で、多形性腺腫9例、粘表皮癌10例、腺様嚢胞癌11例を試料に用い、これに、顎中心性粘表皮癌2例を含めた。

3) 歯原性腫瘍

エナメル上皮腫と角化嚢胞性歯原性腫瘍の2種類を供試し、叢状型エナメル上皮腫5例、濾胞型エナメル上皮腫5例、単嚢胞性エナメル上皮腫9例、角化嚢胞性歯原性腫瘍10例であり、エナメル上皮腫の中に嚢胞性エナメル上皮腫が3例であった。

4) 歯原性嚢胞

原始性嚢胞5例、含歯性嚢胞5例、およびGOC2例を供試した。

2. 方法

1) 標本の作製

上記の材料をすべて10%中性ホルマリンで2日間固定した。固定後、水洗し、上昇アルコール系列に浸漬・脱水した。これら標本をさらにキシレンに浸漬した後、キシレン・パラフィン溶液に浸漬した。そして、溶解したパラフィンに包埋標本とした。包埋の終えた標本は、すべて5 μ m程度の連続切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、病巣を確認した。

2) ムチカルミン染色

すべての症例の切片標本に、病巣を構成する上皮細胞の中に粘液産生細胞あるいは粘液分泌細胞が混在するか否か、すなわち各病変の中に唾液腺細胞あるいはこれに類似した細胞に分化したものが存在し得るのか否かを検討するため、ムチカルミン染色を施した。

脱パラフィン後の切片をヘマトキシリンで染色し、その後、ムチカルミン溶液を30分間反応させた。ムチカルミン溶液は、カルミン (1.0 g)、塩化アルミニウム (AlCl₃ · 6H₂O ; 0.5 g)、脱イオン水 (4 ml) を調合したカルミン溶液を試験管内でよく攪拌し、2-3回煮沸させて暗赤色に変化した時点で加熱を停止し、ここに50%エタノールを加えた。そして、これを原液とし、使用時に脱イオン水で10倍希釈した。

3) 免疫組織化学

今回の研究の中心である CKs の検出は免疫組織化学的手法を採用し、1次抗体は、AE1/AE3(pan-CK)、CK7、CK8、CK10、CK13、CK14、CK18、CK19 (いずれもダコ・ジャパン、東京) の8種とした。

各切片を脱パラフィンした後、下降アルコール系列で水和し、0.3%過酸化水素水を含むメタノールを60分間反応させて内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止した。さらに、0.1%トリプシン溶液またはオートクレープ熱処理で抗原賦活を行い、1% (w/v) ウシアルブミン血清を30分間反応させブロッキングを行った後、1次抗体と室温で2時間反応させた。これに各1次抗体に対応するペルオキシダーゼ標識2次抗体を30分間反応させ、0.03%過酸化水素水を含むジアミノベンチジン発色基質で3分間発色させ、最後に、ヘマトキシリン核対比染色を行った。

結 果

1) HE およびムチカルミン染色所見

(1) 正常の上皮組織

口腔粘膜上皮と歯原性上皮はムチカルミン染色に陰性であった。唾液腺上皮では、腺終末細胞と導管細胞がムチカルミン強陽性を示した (図1 A)。

(2) 唾液腺腫瘍

多形性腺腫は、すべてが筋上皮やわずかな形質細胞様細胞を含む腺上皮の充実性あるいは索状増殖部と、粘液組織や軟骨組織とが混在した典型的な組織像を示し、これら以外の特異的な組織像を示す症例はなかった。ムチカルミン染色には腺管上皮と充実性増殖部の一部の細胞が陽性を示した。粘表皮癌は多くの小嚢胞を形成した高分化型粘表皮癌(5例)であり、一部に、中等度分化型(2例)と扁平細胞と中間細胞の多い低分化型(3例)を認めた。この中で、2例が顎中心性粘表皮癌でいずれも高分化型であった。ムチカルミン染色では嚢胞腔を裏装する粘液産生細胞や充実性増殖部の一部の細胞に陽性であったが、この所見は高分化型や低分化型あるいは顎中心性粘表皮癌でもほぼ同じであった(図1 B)。腺様嚢胞癌は、典型的な蜂窩状篩状構造をとる篩状型が5例、腺管状構造が実質の主体を占める管状型が3例、充実型が3例であった。ムチカルミン染色は蜂窩状篩状構造部の細胞を中心に多くの細胞に陽性であった。

(3) 歯原性腫瘍

エナメル上皮腫は、濾胞型と叢状型とも典型的な組織像を示した。単嚢胞性エナメル上皮腫は裏装上皮全体が腫瘍性を示すI型、裏装上皮に腫瘍性の突出した組織を認めるII型、裏装上皮の一部が叢状型エナメル

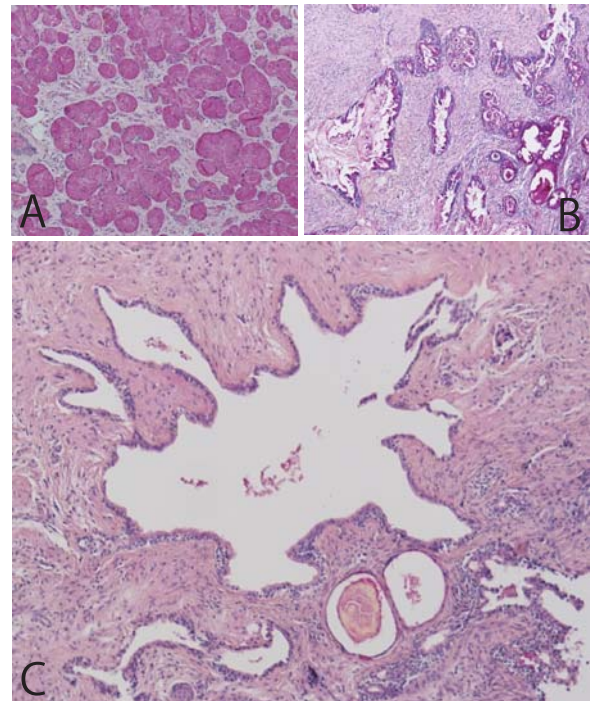


図1：ムチカルミン染色所見

A, 正常唾液腺のムチカルミン染色：腺終末の粘液細胞にムチカルミン陽性を認める。(×200)；B, 顎中心性粘表皮癌のムチカルミン染色：粘液産生細胞を中心に、ムチカルミン陽性を認める。(×200)；C, GOCのムチカルミン染色：粘液産生細胞や充実性に増殖した一部の細胞にムチカルミン陽性を認める。(×200)

上皮腫に相当する組織構造のⅢ型を認めた。

(4) 歯原性嚢胞

原始性嚢胞、含歯性嚢胞ともに裏装上皮細胞の基底層が立方性をなし、中層はやや扁平である典型的な組織像であったが、両嚢胞とも裏装上皮の最表層に炎症等によって剥離や壊死等の変化を伴う例ものが少数であった。GOCは2例とも多胞性で、嚢胞壁は比較的均一な厚さの重層扁平上皮によって裏装され、内腔に向かってプラーク状に上皮の突出する部分も認められた。そして、その上皮中に多くの杯細胞と粘液産生細胞が存在した。ムチカルミン染色ではこのGOCの裏装上皮中の淡明細胞に陽性であった(図1 C)。

2) 免疫組織化学的所見

(1) CKsの所見

CKsは表1に要約したような発現性を示した。すなわち、Pan-CKは今回供試したすべての組織細胞に発現した。CK7は正常上皮で口腔粘膜上皮と唾液腺上皮に発現し、歯原性上皮には発現しなかった。唾液腺腫瘍では、多形性腺腫、腺様嚢胞癌、粘表皮癌のいずれにも発現した。しかし、歯原性腫瘍と歯原性嚢胞のいずれにも発現しなかったが、歯原性嚢胞の中で例外

表 1 : CKs の発現性

	OME	SGE	ODE	PA	ACC	MEC	AB	GOC
Pan-CK	+	+	+	+	+	+	+	+
CK 7	+	+	-	+	+	+	-	+
CK 8	+	+	+	+	+	+	+	+
CK 10	±	-	-	-	-	-	-	+
CK 13	+	+	+	±	±	±	+	+
CK 14	+	+	+	+	+	+	+	+
CK 18	-	+	-	-	-	-	-	+
CK 19	+	+	+	+	+	+	+	+

OME, 正常口腔粘膜上皮; SGE, 唾液腺上皮; ODE, 歯原性上皮; PA, 多形性腺腫; ACC, 腺様嚢胞癌; MEC, 粘表皮癌; AB, エナメル上皮腫; GOC, 腺性歯原性嚢胞

的に GOC に発現した。CK8 は正常ならびに病変を含めてすべてに発現した。CK10 は口腔粘膜上皮に発現するものとしなないものがあり、それ以外では GOC にきわめて弱い発現を示した。CK13 はすべてに発現したが、多形性腺腫と腺様嚢胞癌には微弱だった。CK14 はすべてに強く発現した。CK18 は唾液腺上皮と GOC のみに発現した。また、歯原性上皮の一部に極めて微弱に発現する例があったが、それ以外は全く発現しなかった。CK19 はすべてに発現したが、角化嚢胞性歯原性腫瘍には発現が弱かった。

以上のように、CK8, 13, 14, 19 はほぼすべての正常および病変細胞に発現し、CK7, 10, 18 は発現する組織が少ない傾向を示した。しかし、例外的に、GOC において認めた CK10 の微弱な発現を含めると、これらすべての CKs を発現するという特徴を示した。

(2) 組織における CKs 発現性

a. 正常口腔粘膜上皮

口腔粘膜上皮の特に口蓋における重層扁平上皮では、CK18 以外のすべてが発現したが、その発現性は模式的に図 2 A のような部位的な差を示した。強い発現性を示した CK8, 13, 14 のうち、CK8 と 14 は基底層から角化層までのすべての層に発現し (図 2 B), CK7, 13, 19 は基底層よりも上層、あるいは角化層に発現した (図 2 C)。CK7 と 10 は発現する例と発現しない例、あるいは発現する部位に差がみられ、これらはともに角化層と一部の有棘層に発現した (図 2 D)。

b. 正常唾液腺上皮

CK7, 8, 13, 14, 19 は模式図のように導管などの排泄管上皮と腺終末上皮の両部に発現し (図 3 A)。口唇腺などの混合腺の排泄管上皮では CK7, 8, 14 は発現が強く、他は弱い発現を示した。一方、腺終末上皮では粘液腺細胞に発現し、漿液腺細胞にはほとんど発現しなかった。また、CK8 と CK14 は筋上皮にも発現を示した (図 3 B)。CK18 を発現する排泄管上皮や腺終末上皮も存在したが、このような例はごくわずかであり、発現を認めないものが多かった。なお、CK

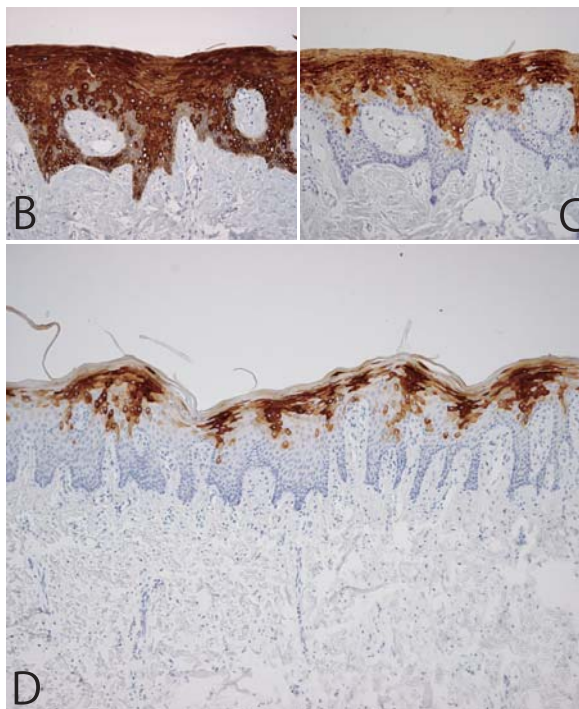
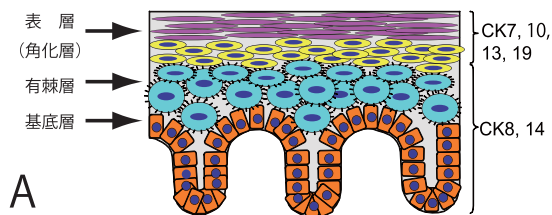


図 2 : 正常口腔粘膜上皮の免疫染色所見

A, 正常口腔粘膜上皮 (口蓋の重層扁平上皮) における CKs 発現性の模式図; B, CK14: 全層の上皮細胞に発現を認める. ($\times 100$); C, CK13: 有棘層から表層の細胞に発現を認める. ($\times 200$); D, CK10: 発現した例では角化層を中心に認める. ($\times 100$)

10 の発現は認めなかった。

c. 正常歯原性上皮

上皮島、萌出嚢胞の裏装上皮に発現したのは CK8, 13, 14, 19 で (図 3 C), これら以外の CK7, 10, 18 の発現は認めなかった。

d. 唾液腺腫瘍

多形性腺腫, 粘表皮癌, 腺様嚢胞癌で同じ発現性を示したのは CK7, 8, 14, 19 で, CK10 と CK18 は全く発現しなかった。これを正常の唾液腺上皮と比べると, CK13 が粘表皮癌以外で発現しないという特徴を認めた。CK7 および CK8 はいずれの腫瘍でも, 腫瘍中の導管構造部の実質細胞に強く発現した。その発現細胞の多くは微小な導管構造をとり, その中には, 形態的に明らかに筋上皮細胞類似の細胞も散見された。とくに, 多形性腺腫に顕著な発現がみられ (図 4 A), 腺様嚢胞癌では充実性増殖した実質細胞や篩状構造部

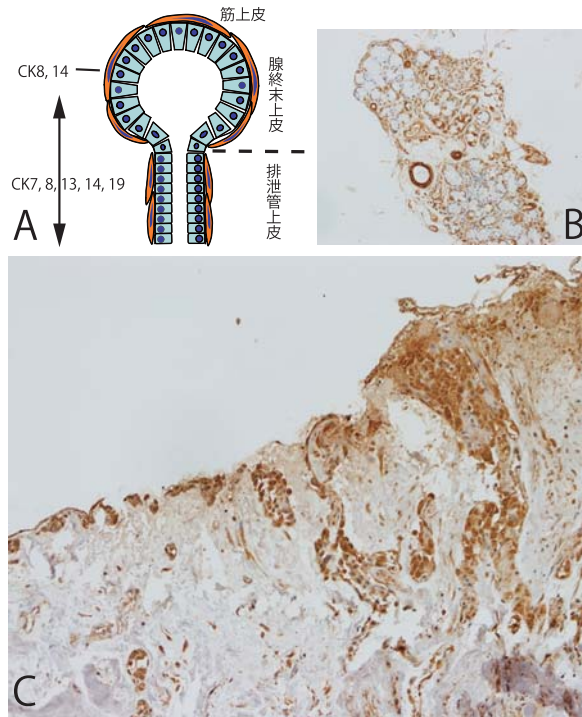


図3：正常唾液線と歯原性上皮の免疫染色所見

A, 唾液腺上皮のCKs発現性の模式図；B, 唾液線（口唇腺）のCK8発現性：導管上皮，腺終末上皮および筋上皮のすべてにCK8の発現を認める。（×100）C, 歯原性上皮のCK14発現性：dental sacを取り巻く歯原性上皮および内部の間葉組織中の歯原性上皮島に発現を認める。（×200）

の導管を形成する多くの実質細胞が強い発現を示し（図4B），粘表皮癌では顎中心性発症例を含めて，中間細胞と扁平上皮様細胞では発現しないか弱い発現性を示す一方，粘液産生細胞には強く発現した（図4C）。CK13は粘表皮癌のみに発現し，とくに，扁平上皮様細胞には強く発現し，一部の粘液産生細胞にも発現した。顎中心性粘表皮癌では，さらに中間細胞や粘液産生細胞にも強い発現を示した（図4D）。CK14は導管構造部の細胞に発現が強く，また，多形性腺腫や腺様嚢胞癌ではすべての実質細胞に，粘表皮癌では粘液産生細胞や中間細胞を除く扁平上皮様細胞に強い発現を認めた。CK18は多形性腺腫と腺様嚢胞癌にはほとんど発現しなかった。しかし粘表皮癌のほとんどの症例で粘液産生細胞に発現した。CK19は多形性腺腫と腺様嚢胞癌の導管構造部に強弱混じて発現し，また，粘表皮癌の粘液産生細胞と扁平上皮様細胞の多くに弱い発現を示した。

e. エナメル上皮腫

単嚢胞性エナメル上皮腫を含めていずれのエナメル上皮腫でもCK8, 13, 14, 19の発現を示したが，こ

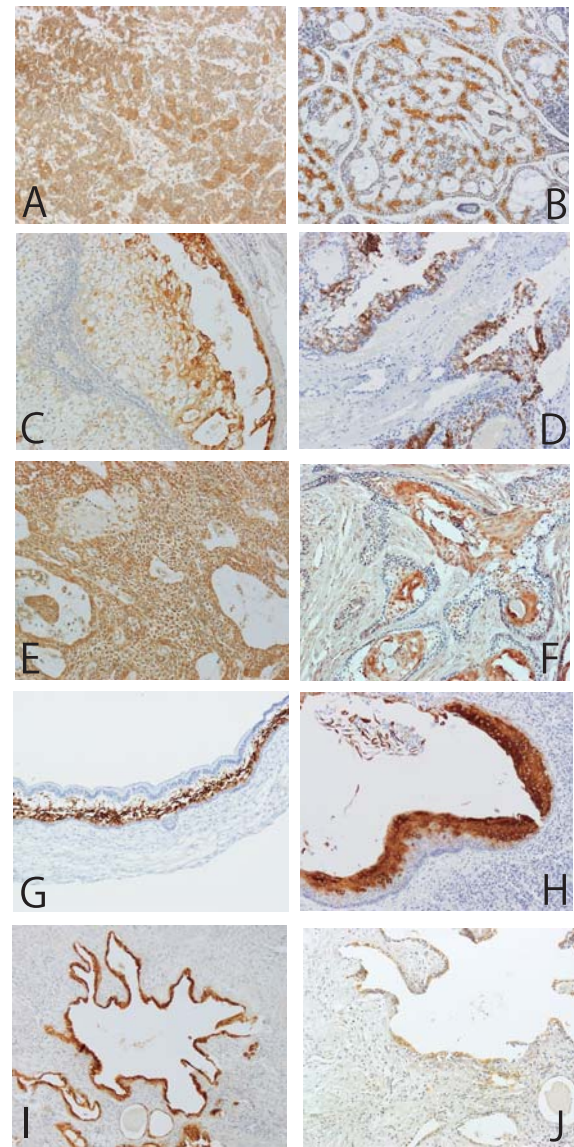


図4：上皮性疾患の免疫染色所見

A, 多形性腺腫のCK8発現性：種々の構造を示す実質細胞のほとんどすべてに発現を認める。（×200）；B, 腺様嚢胞癌のCK7発現性：篩状構造部の導管を形成する腫瘍実質細胞の多くに発現を認める。（×200）；C, 粘表皮癌のCK7発現性：粘液産生細胞を主に発現を認める。（×200）；D, 顎中心性粘表皮癌に置けるCK13発現性：扁平上皮様細胞や粘液産生細胞を主に中間細胞にも発現を認める。（×200）；E, 叢状型エナメル上皮腫のCK8発現性：すべての実質細胞に発現を認める。（×200）；F, 濾胞型エナメル上皮腫のCK8発現性：濾胞内の星網状細胞の多くと一部の濾胞周縁の円柱状細胞に発現を認める。（×200）；G, 単嚢胞性エナメル上皮腫（I型）のCK8発現性：星網状細胞に強い発現を認める。（×200）；H, 角化嚢胞性歯原性腫瘍のCK13発現性：裏装上皮の基底層上層から表層にかけて強い発現を認める。（×200）；I, GOCのCK7発現性（×100）；J, GOCのCK18発現性（×200）

れに対して、CK7, 10, 18は発現を認めなかった。CK8は叢状型ではすべての実質細胞で発現を示し(図4E)、濾胞型では濾胞周縁に存在する円柱状のエナメル芽細胞様細胞に発現するものとししないものの両方があるのに対して、星網状細胞では発現を示した(図4F)。また、I型単囊胞性エナメル上皮腫の濾胞型に類似した囊胞壁を有する例でも、星網状細胞に発現を示した(図4G)。CK13は叢状型では発現を示さず、CK8と同様に、濾胞型の星網状細胞に強い発現を示し、I型単囊胞性エナメル上皮腫でも同じ発現性を示した。CK14は単囊胞性エナメル上皮腫を含めてすべてのエナメル上皮腫の実質細胞に発現を認めた。CK19は叢状型では発現する例としない例があり、発現しても弱かった。一方、濾胞型では濾胞内の星網状細胞に強い発現性を示した。

f. 角化囊胞性歯原性腫瘍

CK7とCK18は発現せず、CK10は発現する例としない例があり、発現例では囊胞を形成する裏装上皮の表層に多く発現を認めた。CK14は裏装上皮の全層に、CK13は基底層の上層から角化する表層にかけて、強い発現を示した(図4H)。しかし、CK19の発現はきわめて微弱であった。

g. 歯原性囊胞

原始性囊胞、含歯性囊胞ともに歯原性腫瘍と類似した発現性を示した。CK7, 10, 18, 19はいずれの囊胞でも陰性であったが、CK10と19は裏装上皮の最表層にきわめて微弱な発現を示す例を認めた。一方、GOCではCK10の微弱な発現以外いずれのCKsも強くあるいは明確に発現を示した(図4I, J)。

考 察

CKsは直径8—11nm程度の太さの中間径フィラメントで、分子量40—70KDのタンパクである⁸⁾。これらには、二次元電気泳動による分子量の小さいCK9—20(type I, 酸性ケラチン)と、分子量の大きい(CK1—8, 中性/塩基性ケラチン)に分類されているが、上皮細胞内では両者が組み合わさって網状のヘテロ二重体を形成している^{1,9,10)}。これらCKsのこれまでの報告をまとめると、CK1(分子量65KD)¹⁾はCK10と対をなして上皮基底層直上の細胞や有棘層細胞に発現し、重層扁平上皮の角化に関わっている^{11,12)}。CK2(70KD)^{1,13)}は重層扁平上皮の3層から4層の細胞に発現して、細胞骨格の主要成分となり¹⁴⁾、機械的ストレスが加わると合成が促進される¹⁵⁾。CK3(63KD)¹⁾は主に角膜で発現する¹²⁾。CK4(56KD)¹⁾はペアのCK13とともに、口腔粘膜上皮の分化途中の基底層より上部の細胞に発現する¹²⁾。CK5(56KD)¹⁾は重層扁平上皮の

基底層の細胞にCK14とともに発現し¹²⁾、分裂増殖中に発現することから、分化には無関係とされている¹⁷⁾。CK6(56KD)¹⁾は舌、口蓋、女性生殖器の上皮内層に発現する¹⁸⁾。CK7(54KD)¹⁾は移行上皮、腎尿細管上皮等に発現する¹⁹⁾。CK8(52.5KD)¹⁾はCK18, 19とヘテロダイマーをなし²⁰⁾、胚子の単層上皮に最初に見出されることから、primary keratinとみなされている¹²⁾。CK9(64KD)¹⁾は機械的ストレスによって手掌等の皮膚に発現し²¹⁾、また、汗腺の導管を取り巻く表皮にも発現する²²⁾。CK10(56.5KD)¹⁾は表皮や他の角化重層扁平上皮の基底層表層部の分裂細胞に発現し、さらに生じようとする分裂を抑制する²³⁾。CK11(56KD)¹⁾はCK10のテールドメインの変化によって生じたものである²⁴⁾。CK12(55KD)¹⁾は角膜の外重層上皮の基底層表層に発現する¹⁾。CK13(54KD)¹⁾は腎尿細管上皮、膀胱の移行上皮、口腔粘膜上皮の基底層より上部の細胞に発現する²⁵⁾。CK14(50KD)²⁰⁾は重層扁平上皮の基本的CKとみなされており²⁶⁾、胚子上皮が基底細胞に分化する際にCK5とともに発現し²⁷⁾、生後の上皮の多くにも発現する²⁹⁾。CK15(50KD)¹⁾はケラチノブラストに発現する²⁹⁾。CK16(46KD)¹⁾は皮膚の形態形成の間に、ある種の上皮細胞の一部や毛根の基底細胞付近の細胞に発現する²⁹⁾。CK17(48KD)³⁰⁾は足蹠の皮膚や毛髪、腺、胸腺、歯等の発生原基に発現する³¹⁾。また、筋上皮にも発現が認められている³²⁾。CK18(44KD)³³⁾は胎児皮膚、男性尿細管上皮に発現し、これら細胞においては細胞骨格の役割を有している³³⁾。CK19(40KD)³⁴⁾は重層扁平上皮の幹細胞マーカーとされ、発現細胞は年齢とともに減少し、5才では9%程度になる³⁵⁾。CK20(48.5KD)³⁶⁾は胃粘膜上皮、腸上皮、子宮粘膜上皮、膀胱粘膜上皮、舌の味蕾に発現し³⁷⁾、メルケル細胞にもCK18とともに発現する³⁸⁾。

次に、このような発現性を示すCKsの上皮組織別の発現性の報告をみると、単層上皮にはCK7, 8, 17, 18, 19が、重層扁平上皮の多くの層にはCK4とCK13が、基底層にはCK5, 14, 15が、角化層や最終分化を示す層にはCK1とCK10がそれぞれ発現するとされ、さらに、過形成上皮にはCK6とCK16がそれぞれ発現すると報告されている^{1,39)}。臓器別における発現について、Kimら⁴⁰⁾は、正常の胃粘膜上皮ではCK7, 8, 13, 18, 19を発現するが、CK10, 14, 16, 17は発現しないとしている。これらの報告は、個々の上皮細胞や上皮組織が複数のCKsを発現し、その種類は上皮の種類によって異なることを示しており、Moll¹⁾は上皮の起源、組織細胞の分化の方向、機能、形態がその違いに反映すると推測している。

口腔粘膜上皮、唾液腺上皮、および歯原性上皮をそ

それぞれ発生からみると、口腔粘膜上皮では10週頃にCK4, 5, 8, 13, 18, 19が、11週では歯肉および口蓋粘膜上皮にCK1, 2, 10, 11が発現し、これに続いてCK8, 18, 19がそれぞれ発現すると報告されている⁴¹⁻⁴⁴。唾液腺上皮では、上皮の出芽期の頃にはCKsの発現がなく、内腔が形成され canalization/branching stage になってCK7やCK19の発現が始まり、細胞分化に伴ってその発現が強まると同時にCK8とCK18の発現が開始し、腺終末上皮の細胞が分化すると、CK7, 8, 18, 19を弱く発現し、分泌管の基底細胞ではCK14を発現するが、他のCKsは発現せず、筋上皮細胞はCK17を発現する^{45,46}。歯原性上皮では、Tabataら⁴⁷やTummersら⁴⁸は、歯胚の増殖段階において、内エナメル上皮内にCK14の弱い発現がみられ、CK10やCK18は発現しないと報告している。また、Feghali-Assalyら⁴⁹は、接合上皮の分化過程におけるCK19, 16, 14, 13, 6, 5, 4を検出し、接合上皮は歯原性上皮に由来することを明らかにしている。さらに、in situ hybridizationによって、CK19のmRNAは初期の接合上皮の基底層に多いのに対して、CK16, 13, 4のmRNAはその後の接合上皮の基底層に多くなることを見出している⁵⁰。Crivelliniら⁵¹は、歯胚の歯原性上皮ではCK14を発現し、これが次第にCK19に変移すること、CK7がヘルトウィッチ上皮鞘とエナメル髓に、そしてCK13が歯堤にのみ発現することを明らかにしている。さらに、Morganら⁵²やSawafら⁵³は、単層上皮のマーカーであるCK8が歯堤やエナメル器に発現すること、そして、Gaoら⁵⁴やvan der Veldenら⁵⁵は、CK19が単層上皮だけでなく、歯堤、エナメル器、マラッセの残遺上皮にも発現することを報告しており、Fukumashiら⁵⁶はCK8とCK19は歯原性上皮のマーカーになり得るとみなしている。これらの報告は、ひとつの上皮組織が複数のCKsを発現し、それらは上皮の種類によって異なること、そして発生時の分化と関連していることを示唆している。

本研究では、以上のようなCKsの性状と各種上皮組織における局在に関する過去の報告に基づいて、pan-CK, CK7, 8, 10, 13, 14, 18, 19の8種類のCKsを検索対象としたが、その理由は以下の通りである。すなわち、すでに掲げたように、CK7は本来、移行上皮、単層上皮、胃粘膜上皮に発現されるものであるが、ヘルトウィッチの上皮鞘やエナメル髓にも発現すること、CK8は胚子単層上皮に発現する primary keratin であり、単層上皮や胃粘膜上皮以外に、口腔粘膜上皮や唾液腺の発生初期に発現し、さらに、歯原性上皮のマーカーであること、CK10は角化性重層扁平上皮の基底層の分裂細胞や、発生期の口蓋粘膜上皮

に発現すること、CK13は腎や膀胱の移行上皮、胃粘膜上皮以外に口腔粘膜上皮の発生の一時期と同粘膜の基底層、接合上皮や歯胚の上皮細胞に発現し、CK14はすべての重層扁平上皮の基本的CKで、唾液腺の導管上皮の基底細胞や歯胚に発現するCK18は胎児皮膚、単層上皮、胃の粘膜上皮以外に、胎児期の口腔粘膜上皮と腺終末細胞を含む唾液腺上皮に発現するCK19は重層扁平上皮の幹細胞マーカーとして口腔粘膜上皮に発現する以外に、胃の粘膜上皮、唾液腺の発生初期、腺終末上皮、接合上皮の分化時や歯胚の上皮細胞に発現することが報告されている。

本研究では、成熟上皮組織である口腔粘膜上皮（主として口蓋などの咀嚼粘膜上皮）で、CK8, 13, 14の強い発現を示したのに対して、CK7とCK19は発現が弱く、CK18は陰性で、CK10は発現しない例と発現する例があった。これは、発生途上でCK1, 2, 5, 8, 10, 11, 18, 19が順次発現するという報告⁴¹⁻⁴⁴とは異なる所見であった。CK13の発現については、発生期の口腔粘膜上皮の基底細胞の発現性がそのまま成熟上皮にも継続されるものとみなし得た。また、CK14については後述する基本的CKの性状の反映を示唆するものであった。CK10は口腔粘膜上皮以外には発現せず、口腔粘膜上皮でも、発現するものとしなかった。これは、角化重層扁平細胞の基底層から表層にかけて発現し、細胞増殖抑制の作用する機能を持つ基本的CKの性状²⁴を反映すると考えられた。

唾液腺ではCKsは、腺終末上皮の筋上皮でCK8とCK17を発現する以外、他の細胞にCKsの発現をほとんど示さなかった。そして、筋上皮がCK8をも発現するという今回の結果は、過去の報告^{45,46}とは異なっていた。この点については、1次抗体の交差反応の可能性も考えられるため、さらに検索を重ねる必要がある。なお、唾液腺におけるCKsの発現は、腺終末部よりもむしろ導管を構成する介在部や線条部を含む排泄管上皮細胞に強く発現する傾向を示した。その導管ではCK7, 8, 14, 18, 19が発現を示し、CK10, 13は全く発現しなかった。この結果をこれまでの報告と比べると、CK14が発現したという点で、CK7, 8, 18, 19を発現する報告^{45,46}とは異なっていた。

歯原性上皮(残遺した上皮島と萌出嚢胞の裏装上皮)では、CK8, 13, 14, 19が強陽性で、CK7, 10, 18は陰性であり、これまでの発生時の歯原性上皮のCKs発現に関する報告とほとんど同一の発現性を示した。これは、口腔粘膜上皮と唾液腺上皮が分化の過程でCKsの発現がかなり変化するのに対して、歯原性上皮はあまり変化しないことを示唆する所見であった。

なお、胚子単層上皮に発現して primary keratin と

みなされている CK8¹²⁾や胚子上皮から基底細胞層が分化する際に発現することから基本的 CK とされている CK14^{27,28)}がすべての正常上皮においても、また、各上皮から発症した腫瘍や嚢胞でも発現したことは、CK8とCK14がすべての上皮にとって基本的 CK であるという位置を占め、さらに分化に左右されない性格であることを示している。このCK8とCK14の性格について、これまでの口腔組織の発生時におけるCKsの報告^{41~55)}で明記されていない。

以上の正常上皮組織におけるCKs発現性を基に、これら上皮組織から発症する腫瘍や嚢胞のCKsの発現性を検討してみると、以下のものであった。すなわち、唾液腺腫瘍では、正常唾液腺の排泄管上皮に強い発現性を示したCK7とCK8が、多形性腺腫と腺様嚢胞癌では排泄管構造部以外の多くの実質細胞に強く発現したが、これは、両腫瘍の起源細胞がともに排泄管上皮に由来することを示唆する所見である。一方、粘表皮癌ではCK7は粘液産生細胞に、CK8は粘液産生細胞と扁平上皮様細胞に発現した。これは、粘表皮癌が多形性腺腫や腺様嚢胞癌とは起源細胞が異なるか、あるいは実質細胞の中間細胞、扁平上皮様細胞および粘液産生細胞の分化の方向が異なることを示唆している。これは、CK13とCK18が今回対象とした唾液腺腫瘍の中で粘表皮癌のみに発現されたことから支持できると考えられた。CK19についてみると、これはもともと重層扁平上皮に発現される性格のCKs³⁴⁾が、粘表皮癌の扁平上皮様細胞にも発現したことによるものとみることができた。因みに、他の唾液腺腫瘍のCKsの発現性を渉猟してみると、Aikawaら⁵⁷⁾は、intraductal papillomaではCK7とCK18を発現し、CK13とCK14は発現しなかったと報告している。しかし、この腫瘍がCK13とCK14を発現する排泄管上皮に由来する腫瘍であることから考えると、矛盾する結果である。これに対し、da Silveriaら⁵⁸⁾は、小唾液腺に生じた筋上皮腫でCK14の発現を認めている。Capuanoら⁵⁹⁾は、顎下腺に生じたcarcinosarcomaにCK13とCK14ならびにpan-CKのAE1/AE3が強く発現し、また、CK19とvimentinも陽性であったと報告し、このような未分化な腫瘍でもCK13とCK14を発現することから、今回の検索結果も含めて、CKsの発現性に関する限り、唾液腺腫瘍は良性または悪性にかかわらず発生母細胞のCKsの発現性をそのまま継承する傾向があること、また、粘表皮癌のように他の唾液腺腫瘍にはない細胞が分化し、他とは異なるCKsの発現を示す特殊な腫瘍が存在すると考えられた。

歯原性腫瘍の代表例であるエナメル上皮腫では、叢状型および濾胞型エナメル上皮腫ともCK8、18を発

現し、CK13は陰性であると報告されている⁵⁶⁾。CK13については、叢状型には発現せず、濾胞型の星網状細胞に限って発現した。発現性の有無という点ではFukumashiら⁵⁶⁾の報告と著しく異なっているが、今回の結果では叢状型には発現せず、濾胞型の星網状細胞に限って発現された点に特徴的である。Creliniら⁵¹⁾の報告では、CK13が歯堤に発現することから、歯原性上皮に発現しても矛盾がないと考えられるが、叢状型ではなく濾胞型に発現した点には考察すべき余地が残されている。Tateyamaら⁶⁰⁾はエナメル上皮腫の88%がCK8とCK14陽性で、CK7が陰性であるとしている。本検索結果は、エナメル上皮腫において、CK7は陰性であり、この点はTateyamaらの報告と一致している。しかし、CK18が陰性である点でFukumashiらの報告とは矛盾している。この違いの本態は不明であるが、今回の検索では、CK18は正常の歯原性上皮でも発現せず、抗体の不備だけであるとは考えられなく、Tateyamaらの報告にもみられるように、同じ腫瘍であってもその幾ばくかは必ずしも一定した発現性を示すのではないという見解を採るべきなのかも知れない。近年、歯原性腫瘍として角化嚢胞性歯原性腫瘍の名で扱われるようになった元の歯原性角化嚢胞も、ほとんどエナメル上皮腫と同じCKsの発現傾向を示し、このCKs発現性からも歯原性角化嚢胞は腫瘍とみなすべきである。

歯原性嚢胞については、MacDonald and Fletcher⁶¹⁾は含歯性嚢胞と歯原性角化嚢胞のLP34とCAM5.2の発現性を調査し、LP34は両嚢胞間で違いがあり、CAM5.2の違いはないとしている。すなわち、LP34は基底細胞に強い発現性があるか逆に発現性がないかであり、表層部の上皮でさらに強い発現性か中等度の発現性を示し、両部の強い発現性は含歯性嚢胞に多く、後者の発現性を示す嚢胞は歯原性角化嚢胞に多いとしている。これは同じCKを発現するものの、発現部位と強さが異なることを示す所見である。da Silvaら⁶²⁾は錯角化を示す歯原性角化嚢胞と真正角化を示す歯原性嚢胞とのCKsの発現性の違いをみているが、真正角化を示すものではCK10を発現し、CK13とCK14の発現は一定せず区々であり、これに対して、錯角化を示す歯原性角化嚢胞ではCK10が裏装上皮の最表層のみに発現し、CK14は表層あるいは基底層に区々な発現性を示すこと、およびCK13は表層のみに区々の発現性を示すことを報告している。Smith and Matthews⁶³⁾は、歯原性角化嚢胞、含歯性嚢胞および歯根嚢胞を比較し、CK5/8、CK6/8、CK19、CK13、CK14はすべての嚢胞で強い発現があり、CK10とCK11は含歯性嚢胞と歯根嚢胞に非発現であるとともに、歯原性嚢胞

であっても、その種類によってCKsの発現性も異なることを示している。今回の検索では、含菌性嚢胞と原始性嚢胞は、CK7, 10, 18, 19を発現し、菌原性腫瘍のCKs発現性とほぼ同じ傾向を示した。これは菌原性の腫瘍と嚢胞とではCKsの発現性からみた場合、分化の方向性に差異がないことを示唆している。因みに、Wagnerら⁶⁴⁾も菌原性嚢胞がCK7を発現することを報告している。しかし、菌原性嚢胞と菌原性腫瘍のCKs発現の比較には言及していない。

嚢胞の検索で最も特徴的であったのは、GOCが今回供した1次抗体のCK10に微弱な反応を示した以外、他のすべての抗体に強く反応したのが特徴的であった。GOCは組織発生が今なお不明の疾患であるが、その組織構造は低悪性型粘表皮癌に類似している^{6,65)}。逆に、この顎中心性粘表皮癌がGOC由来である可能性も考えられている^{66,67)}。また、顎中心性粘表皮癌は菌原性嚢胞の粘液細胞への化生、発生期の迷入唾液腺、医原性迷入した小唾液腺あるいは菌堤の残遺等の由来が提唱されてきた^{6,68)}。この両疾患のCKs発現性について、すでに多くの報告がみられるが、Piresら⁶⁹⁾はCK3, 4, 9, 11, 12, 17の6種類のCKsを除くCK1-20の発現を調べた結果、すべてのGOCがCK5, 7, 8, 13, 14を発現し、検索例の91%がCK19を発現すること、一方、顎中心性粘表皮癌がCK5, 7, 8, 14, 18を発現し、その発現パターンは唾液腺原発の粘表皮癌と同じであること、唾液腺原発の粘表皮癌ではCK7を発現しない例があること、菌原性嚢胞のすべてがCK5, 13, 14, 19を発現し、そのわずか7%がCK18を発現するというように、それぞれの違いを述べている。そして、粘表皮癌と唾液腺上皮のCKs発現の類似性から、顎中心性粘表皮癌は唾液腺由来であるとみなしている。また、Sousaら⁷⁰⁾は、GOCにおけるCK7, 13, 14, 19の発現性と、CK8とCK18の非発現性がGOCと低悪性型の顎中心性粘表皮癌との鑑別点になるとみなしている。顎中心性粘表皮癌については、腫瘍が顎骨内に存在すること、菌原性嚢胞や菌原性腫瘍に付随してみられること等から、菌原性由来も今なお否定されていない⁷¹⁻⁷⁴⁾。

今回の結果では、粘表皮癌ではCK19を発現すること、およびGOCではCK18も発現するという点で、PiresらやSousaらの結果と若干の違いがあるものの、それ以外のCKs発現性はかなり類似しており、さらに、顎中心性粘表皮癌とGOCのいずれもムチカルミン陽性を示す点からみても、GOCは顎中心性粘表皮癌と類似性が強いのか、あるいは顎中心性粘表皮癌の前癌病変であるという考え方を全く否定することもできない。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究において免疫組織化学的検索で多大な貢献を提供して下さった佐藤亨子女史に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B and Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*. 1982; 31: 11-24.
- 2) Chu PG and Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathol*. 2002; 40: 403-439.
- 3) Schwerer MJ and Baczako K. Expression of cytokeratins typical for ductal and squamous differentiation in the human stomach: An immunohistochemical study of normal foveolar epithelium. *Histopathol*. 1996; 29: 131-137.
- 4) Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. *Subcell Biochem*. 1998; 31: 205-262.
- 5) Kabashima A, Yao T, Sugimachi K and Tsuneyoshi M. Relationship between biologic behavior and phenotypic expression in intramucosal gastric carcinomas. *Hum Pathol*. 2002; 33: 80-86.
- 6) Waldron CA and Koh ML. Central mucoepidermoid carcinoma of the jaws: report of four cases with analysis of the literature and discussion of the relationship to mucoepidermoid, sialodontogenic, and glandular odontogenic cysts. *J Oral Maxillofac Surg*. 1990; 48: 871-877.
- 7) Manojlovic S, Grgurevic J, Knezevic G and Kruslin B. Glandular odontogenic cyst: a case report and clinicopathologic analysis of the relationship to central mucoepidermoid carcinoma. *Head Neck*. 1997; 19: 227-231.
- 8) Sun TT, Eichner R, Nelson WG, Tseng SC, Weiss RA, Jarvinen M and Woodcock-Mitchell J. Keratin classes: Molecular marker for different types of epithelial differentiation. *J Invest Dermatol*. 1983; 81: 109s-115s.
- 9) Bowden PE, Quinlan RA, Breittkreutz D and Fusenig NE. Proteolytic modification of acidic and basic keratin during terminal differentiation of mouse and human epidermis. *Eur J Biochem*. 1984; 142: 29-36.
- 10) Cooper D and Sun TT. Monoclonal antibody analysis of bovine epithelial keratin. Specific pairs as defined by coexpression. *J Biol Chem*. 1986; 261: 4646-4654.
- 11) Kartasova T, Roop DR, Holbrook KA and Yuspa SH. Mouse differentiation-specific keratin 1 to 10 require a preexisting keratin scaffold to form a filament network. *J Cell Biol*. 1993; 120: 1251-1261.

- 12) Pekny M and Lane EB. Intermediate filaments and stress. *Exp Cell Res.* 2007; 313: 2244-2254.
- 13) Kopan R and Fuchs E. A new look into an old problem: Keratins as tools to investigate determination, morphogenesis, and differentiation in skin. *Genes Dev.* 1989; 3: 1-15.
- 14) Smith LT, Underwood RA and McLean WH. Ontogeny and regional variability of keratin Ze (KZe) in developing human fetal skin: a unique apatial and temporal pattern of keratin expression in development. *Br J Dermatol.* 1999; 140: 582-591.
- 15) Mahler B, Gocken T, BrojanM, Childress S, Spandau DF and Foley J. Keratin 2 e: a marker for murine nipple epidermis. *Cells Tissues Organs.* 2004; 176: 169-177.
- 16) Deichner R and Kahn M. Differential extraction of keratin subunits and filaments from normal human epidermis. *J Cell Biol.* 1990; 110: 1149-1168.
- 17) Byme C, Tainsky M and Fuchs E. Programming gene expression in developing epidermis. *Development.* 1994; 120: 2369-2383.
- 18) Navarro JM, Casatorres J and Jorcano JL. Elements controlling the expression and induction of the skin hyperproliferation-associated keratin K6. *J Biol Chem.* 1995; 270: 21362-21367.
- 19) Ashtatter T, Moll R, Moore B and Franke WW. Cytokeratin polypeptide patterns of different epithelia of the human male urogenital tract: immunofluorescence and gel electrophoretic studies. *J Histochem Cytochem.* 1985; 33: 415-426.
- 20) Dale BA, Holbrook KA, Kimball JR, Hoff M and Sun TT. Expression of epidermal keratins and filaggrin during human fetal skin development. *J Cell Biol.* 1985; 101: 1257-1269.
- 21) Yamaguchi Y, Itami S, Tarutani M, Hosokawa K, Miura H and Yoshikawa K. Regulation of keratin 9 in nonpalmoplantar keratinocytes by palmoplantar fibroblasts through epithelial-mesenchymal interactions. *J Invest Dermatol.* 1999; 112: 483-488.
- 22) Moll I, Heid H, Franke WW and Moll R. Distribution of a special subset of keratinocytes sharakterized by the expression of cytokeratin 9 in adult and fetal human epidermis of various body sites. *Differentiation.* 1987; 33: 154-265.
- 23) Chen J, Cheng X, Merched-Sauvage M, Caulin C, Roop DR and Koch PJ. An unexpected role for keratin10end domains in susceptibility to skin cancer. *J Cell Sci.* 2006; 119: 5067-5076.
- 24) Korge BP, San SQ, McBride OW, Mischke D and Steinert PM. Extensive size polymorphism of the human keratin10chain resides in the C-terminal V2 subdomain due to variable numbers and size of glycine loop. *Proc Natl Biol.* 1987; 105: 427-440.
- 25) Waseem A, Alam Y, Dogan B, White KN, Leigh IM and Waseem NH. Isolation, sequence and expression of the gene encoding human keratin13. *Gene.* 1998; 215: 269-279.
- 26) Porter RM, Lunny DP, Ogden PH, Morley SM, McLean WH, Evans A, Harrison DL, Rugg EL and Lane EB. K15expression implies lateral differentiation within stratified epithelial basal cells. *Lab Invest.* 2000; 80: 1701-1710.
- 27) Coulombe PA, Kopan R and Fuchs E. Expression of keratin K14 in the epidermis and hair follicle: Insights into complex programs of differentiation. *J Cell Biol.* 1989; 109: 2295-2312.
- 28) Waseem A, Dogan B, Tidman N, Alam Y, Purkis P, Jackson S, Lalli A, Machesney M and Leigh IM. Keratin 15 expression in stratified epithelia: Downregulation in activated keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 1999; 112: 362-369.
- 29) Larouche D, Tong X, Fradette J, Coulombe PA and Germain L. Vibrissa hair bulge houses two populations of skin epithelial stem cells distinct by their keratin profile. *FASEB J.* 2008; 22: 1404-1415.
- 30) McGowan KM and Coulombe PA. Onset of keratin 17 expression coincides with the definition of major epithelial lineages during skin development. *J Cell Biol.* 1998; 143: 469-486.
- 31) Kim S, Wong P and Coulombe PA. A keratin cytoskeletal protein regulates protein synthesis and epithelial cell growth. *Nature.* 2006; 441: 362-365.
- 32) Hutton E, Paladini RD, Yu QC, Yen M, Coulombe PA and Fuchs E. Funtional differences between keratins of stratified and simple epithelia. *J Cell Biol.* 1998; 143: 487-499.
- 33) Debus E, Weber K and Osborn M. Monoclonal cytokeratin antibodies that distinguish simple from stratified squamous epithelia: characterization on human tissues. *EMBO J.* 1982; 1: 1641-1647.
- 34) Eckert RL. Sequence of the human 40-KD keratin reveals an unusual structure with very high sequence identity to the corresponding bovine keratin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988; 85: 1114-1118.
- 35) Watt FM, Lo Celso C and Silva-Vargas V. Epidermal stem cells: an update. *Curr Opin Dev.* 2006; 16: 518-524.
- 36) Moll R, Zimbelmann R, Goldschmidt MD, Keith M, Laufer J, Kasper M, Koch PJ and Franke WW. The human gene encoding cytokeratin 20 and its expression during fetal development and in gastrointestinal carcinomas. *Differentiation.* 1993; 53: 75-93.
- 37) Witt M and Kasper M. Distribution of cytokeratin filaments and vimentin in developing human taste buds. *Anat Embryol.* 1999; 199: 291-299.
- 38) Moll I, Kuhn C and Moll R. Cytokeratin20is a general

- marker of cutaneous Merkel cells while certain neuronal proteins are absent. *J Invest Dermatol.* 1995; 104: 910-915.
- 39) van der Velden LA, Manni JJ, Ramaekers FC and Kuijpers W. Expression of intermediate filaments in benign lesions of the oral mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1999; 256: 514-519.
 - 40) Kim MA, Lee HS, Yan H-K and Kim WH. Cytokeratin expression profile in gastric carcinomas. *Hum Pathol.* 2004; 35: 576-581.
 - 41) Shabana AH, Ouhayoun JP, Sawaf MH and Forest N. Comparative biochemical and immunological analysis of cytokeratin patterns in the oral epithelium of the miniature pig and human. *Arch Oral Biol.* 1989; 34: 249-259.
 - 42) Shabana AH, Ouhayoun, Sawaf MH and Forest N. Cytokeratin patterns of human oral mucosae in histiotypic culture. *Arch Oral Biol.* 1991; 36: 747-758.
 - 43) Pelissier A, Ouhayoun JP, Sawaf MH and Forest N. Changes in cytokain expression during the development of the human oral mucosa. *J Periodontal Res.* 1992; 27: 588-598.
 - 44) Odioso LL, Doyle MJ, Quinn KW, Bartel RL, Zimmer MP and Stevens-Burns D. Development and characterization of an *in vitro* gingival epithelial model. *J Periodontal Res.* 1995; 30: 210-219.
 - 45) Martins MD, Araujo BVC, Raitz R and Araujo NS. Expression of cytoskeletal proteins in developing human minor salivary glands. *Eur J Oral Sci.* 2002; 110: 316-321.
 - 46) Lourenco SV, Coutinho-Camillo CM, Buim MEC, Uyekita SH and Soares FA. Human salivary gland branching morphogenesis: morphological localization of cadherins and its parallel relation with developmental stages revealed by expression of cytokeratin and secretion markers. *Histochem Cell Biol.* 2007; 128: 361-369.
 - 47) Tabata MJ, Matsumura T, Liu JI-G, Wakisaka S and Kurisu K. Expression of cytokeratin 14 in ameloblast-lineage cells of the developing tooth of rat, both *in vivo* and *in vitro*. *Arch Oral Biol.* 1996; 41: 1019-1027.
 - 48) Tummers M and Thesleff I. Observations on continuously growing roots of the sloth and the K14-Eda transgenic mice indicate that epithelial stem cells can give rise to both the ameloblast and root epithelium cell lineage creating distinct tooth patterns. *Evol Dev.* 2008; 10: 187-195.
 - 49) Feghali-Assaly M, Sawarf MH, Serres G, Forest N and Ouhayoun JP. Cytokeratin profile of the junctional epithelium in partially erupted teeth. *J Periodontal Res.* 1994; 29: 185-195.
 - 50) Feghali-Assaly M, Sawaf MH and Ouhayoun JP. In situ hybridization study of cytokeratin 4, 13, 16 and 19 mRNAs in human developing junctional epithelium. *Eur J Sci.* 1997; 105: 599-608.
 - 51) Crelini MM, de Araujo VC, de Sousa SOM and de Araujo NS. Cytokeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. *Oral Dis.* 2003; 9: 1-6.
 - 52) Morgan PR, Shirlaw PJ, Johnson NW, Leigh IM and Lane FB. Potential applications of anti-keratin antibodies in oral diagnosis. *J Oral Pathol.* 1987; 16: 212-222.
 - 53) Sawaf MH, Ouhayoun JP and Forest N. Cytokeratin profiles in oral epithelia: A review and a new classification. *J Biol Buccale.* 1991; 19: 187-198.
 - 54) Gao Z, Mackenzie IC, Cruchley AT, Williams DM, Leigh I and Lane EB. Cytokeratin expression of the odontogenic epithelia in dental follicles and developmental cysts. *J Oral Pathol.* 1989; 18: 63-67.
 - 55) van der Velden L-A, Schaafsma HE, Manni JJ, Ramaekers FCS and Kuijpers W. Cytokeratin expression in normal and (pre) malignant head and neck epithelia: An overview. *Head and Neck.* 1993; 15: 133-146.
 - 56) Fukumashi K, Enokiya Y and Inoue T. Cytokeratin expression of constituting cells in ameloblastoma. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2002; 43: 13-21.
 - 57) Aikawa T, Kishino M, Masuda T, Imamura E, Tanaka S, Namikawa M and Iida S. Intraductal papilloma arising from sublingual major salivary gland: Case report and immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod.* 2009; 107: e34-e37.
 - 58) da Silveira EJ, Pereira AL, Fontora MC, de Souza LB and de Almeida Freitas R. Myoepithelioma of minor salivary gland-an immunohistochemical analysis of four cases. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2006; 72: 528-532.
 - 59) Thome Capuano AC, Dos Santos Pinto Junior D, Carvalhosa AA and de Araujo VC. Immunoprofile of carcinosarcoma of the submandibular gland. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103: 398-402.
 - 60) Tateyama H, Tada T, Okabe M, Takahashi E and Eimoto T. Different keratin profiles in craniopharyngioma subtypes and ameloblastomas. *Pathol Res Pract.* 2001; 197: 735-742.
 - 61) McDonald AW and Fletcher A. Expression of cytokeratin in the epithelium of dentigerous cysts and odontogenic keratocysts: an aid to diagnosis. *J Clin Pathol.* 1989; 42: 736-739.
 - 62) da Silva MJA, de Sousa SOM, Correia L, Carvalhosa AA and de Araujo VC. Immunohistochemical study of the orthokeratinized odontogenic cyst: A comparison with the odontogenic keratocyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 94: 732-737.
 - 63) Browne RM; Smith AJ and Matthews JB, ed. Odonto-

- genic epithelium and its residues. Investigative pathology of the odontogenic cysts. Boca Raton: CRC Press; 1991: 53-85.
- 64) Wanger Y, Flippi A, Krischner H and Dreyer T. Cytokeratin and p53 expression of odontogenic cysts. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 1999; 3: 293-269.
- 65) Toida M, Nakashima E, Okumura Y and Tatematsu N. Glandular odontogenic cyst: a case report and literature review. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994; 13: 1312-1316.
- 66) Manojlovic S, Grgurevic J, Knezevic G and Kruslin B. Glandular odontogenic cyst: A case report and clinicopathologic analysis of the relationship to central mucoepidermoid carcinoma. *Head Neck.* 1997; 19: 227-231.
- 67) Martinez-Madrigal F, Pineda-Dabotin K, Casiraghi O and Luna MA. Salivary gland tumors of the mandible. *Ann Diag Pathol.* 2000; 4: 347-353.
- 68) Bouquot JE, Gnepp DR, Dardick I and Hietanen JHP. Intraosseous salivary tissue: jawbone examples of chondromas, hamartomas, embryonic rests, and inflammatory entrapment—another histogenetic source for intraosseous adenocarcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000; 90: 205-212.
- 69) Pires FR, Chen S-Y, da Cruz Perez DE, de Almeida OP and Kowalski LP. Cytokeratin expression in central mucoepidermoid carcinoma and glandular odontogenic cyst. *Oral Oncol.* 2005; 40: 545-551.
- 70) de Sousa SOM, de Oliveria PT and de Araujo VC. Glandular odontogenic cyst. Report of a case with cytokeratin expression. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997; 83: 478-483.
- 71) Browand BC and Waldron CA. Central mucoepidermoid tumors of the jaw: report of nine cases and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1975; 40: 631-643.
- 72) Eversole LR, Sabes WR and Robin S. Aggressive growth and neoplastic potential of odontogenic cysts with special reference to central epidermoid and mucoepidermoid carcinomas. *Cancer.* 1975; 35: 270-282.
- 73) Gingell JC, Beckerman T, Levy BA and Snider LA. Central mucoepidermoid carcinoma: review of the literature and report of a case associated with an apical periodontal cyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1984; 57: 436-440.
- 74) Brookstone MS and Huvoos AG. Central salivary gland tumors of the maxilla and mandible: a clinicopathologic study of 11 cases with an analysis of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 50; 1992: 229-236.
-