

論 文 要 旨

口腔前癌病変の病理診断を補完可能な 免疫組織化学染色の異型発現パターン

池田 幹人

【緒言と目的】

進行した口腔扁平上皮癌に対する治療は著しい QOL の低下を招き、時宜を得た治療には早期発見と適切な病理診断が不可欠である。多くの口腔扁平上皮癌は多段階の遺伝子変異と領域発がんにより前癌病変を経て進展するので、前癌病変の適切な病理診断が必要であるが、これまでの組織形態的基準だけでは病理診断の標準化は困難な現状であり、実用的な免疫組織染色法の確立が急務といえる。

今回の研究では、これまでの研究で用いられてきた手間のかかる発現細胞の計数ではなく、Ki-67、TP53、CK13 および CK17 の口腔前癌病変における異型発現パターンを同定し、評価した。この異型発現パターンの認識は実地的な病理診断での有用性が高く、口腔前癌病変の病理組織診断的的確性にも寄与する可能性がある。

【材料と方法】

2014 年～2018 年に鹿児島大学病院にて口腔粘膜の上皮過形成（炎症性過形成は除く）、上皮異形成および上皮内癌と病理診断された 200 症例を対象とし、WHO（2017 年）分類の細胞異型と組織異型についての形態基準を基に、上皮過形成を含む上皮異形成は軽度上皮異形成と高度上皮異形成に分類し、全体を 4 病型（上皮過形成、軽度上皮異形成、高度上皮異形成、上皮内癌）に再評価分類した。また、PAS 染色によりカンジダ感染を検索した。なお、臨床病態記録とともに病理組織診断を再評価した症例の検索は、鹿児島大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て行われた（承認番号 18140 号）。

通法に従い、Ki-67（細胞増殖因子）、TP53（癌抑制遺伝子）、CK13 と CK17（細胞分化因子）の免疫組織化学染色を行い、染色結果から各病変に特徴的な異型発現パターン（各 4 型）を同定し、各病変における異型発現パターンの出現頻度、および各病変（4 分類と 2 分類）と異型発現パターン（各 4 型）の関係を多変量ロジスティック回帰分析（SPSSv24, IBM）により、病理診断を補完する際の各免疫染色マーカーの有用性について検討した。

【結 果】

正常粘膜上皮における各マーカーの免疫染色発現パターンの認識は、病変での異型発現パターンの同定の基礎となる。Ki-67 は第 1 層（基底細胞層）の 5% に陽性で、第 2 層（傍基底細胞層）の 90% に陽性を示した。TP53 は第 1・2 層に散在性に陽性で、陽性強度は低く、CK13 は第 1・2 層以外の全層に均質に陽性で、CK17 は陰性であった。これらの正常発現パターンに部位差は認めなかった。この正常発現パターンは上皮過形成の多くの症例に認めた。また、上皮内癌には 2 型（基底細胞型と角化・分化型）が認められた。

Ki-67 の 4 型の発現パターンの出現頻度は、上皮過形成、軽度上皮異形成、高度上皮異形成、上皮内癌の各病変に対応して認められた。TP53 は、正常発現パターンを多く認める上皮過形成と軽度上皮異形成に対し、重層化がみられる高度上皮異形成と上皮内癌で出現頻度は異なっていた。CK13 では上皮内癌で均質な発現低下が多く認められ、CK17 の各発現パターンは各病変間で不均一な頻度であるが、発現強度は病変進行度と共に増加する傾向が見られた。

上皮過形成では Ki-67、TP53 および CK17 は主に正常発現パターンを示すが、CK13 は軽度の発現減少が見られた。軽度上皮異形成の多くの症例では Ki-67 発現パターンは上皮過形成と異なり、基底細胞層での発現が亢進し、第 2 層目での発現が減少していた。高度上皮異形成では Ki-67 の発現が第 1・2 層で亢進すると共に TP53 発現細胞の重層化が認め

られた。上皮内癌では基底細胞型では Ki-67 と TP53 の発現細胞の密な重層化が、角化型では離散的な重層化が特徴的に認められると共に、CK13 の発現減少と CK17 の発現亢進が認められた。

4 病型分類での多項ロジスティック回帰分析では、上皮過形成と上皮内癌的的中精度はそれぞれ 90.1%、96.2%と高かったが、軽度上皮異形成は 43.3%と低かった。また、上皮過形成と軽度上皮異形成を合わせた軽度上皮異形成群と高度上皮異形成と上皮内癌を合わせた高度上皮異形成群の 2 病型分類での多項ロジスティック回帰分析では、それぞれ 92.1%、89.9%と高い的中精度を示した。いずれも Ki-67 と TP53 の判別への有意な寄与を示し、CK13 と CK17 の寄与は低かった。

上皮過形成と軽度上皮異形成、軽度上皮異形成と高度上皮異形成、高度上皮異形成と上皮内癌の各病型間の 2 項ロジスティック回帰分析では、75.2%、78.9%、87.9%的中精度であった。どの病型間でも Ki-67 と TP53 の組み合わせが判別に有意であり、特に Ki-67 のオッズ比は最も高く、次いで TP53 であり、高度上皮異形成と上皮内癌間の判別には Ki-67 と TP53 と共に CK13 も有意であった。

【考察と結論】

本研究の結果は、Ki-67、TP53、CK13、CK17 の免疫組織化学染色の異型発現パターンは形態診断を補完し、特に Ki-67 と TP53 の異型発現パターンは前癌病変の各病型の分類に有用である可能性を示している。これらの免疫染色マーカーが病理診断に有用であるという結果は、これまでの報告の結果を支持するものであるが、異型発現パターンの認識は日常の病理診断において、より簡便で確実な診断方法といえる。今後、本結果と臨床的な長期的な予後との関連の研究が求められる。

現在の WHO 分類では上皮異形成を異型度により 2 分類や 3 分類し、上皮内癌は高度上皮異形成と同義とされているが、本研究では上皮内癌には Ki-67 と TP53 の両者の重層化が高頻度で認められたが、高度上皮異形成では稀であり、両者を鑑別しうる可能性が示された。さらに、2 項ロジスティック回帰分析の結果からは、CK13 の明瞭な境界を伴う発現減少も両者の鑑別に寄与する可能性が示された。

Ki-67 は口腔粘膜上皮の層構造の維持に寄与する基底細胞層と傍基底細胞層での細胞増殖の指標であり、この異型発現パターンと細胞異型や構造異型の程度は相関し、前癌病変の病型カテゴリーを反映している可能性がある。一方、細胞異型が乏しいことが特徴である高分化型扁平上皮癌では、Ki-67 と TP53 の重層化が高頻度で見られ、同様に細胞異型が乏しい上皮過形成との鑑別に有用である可能性がある。

TP53 では上皮内癌や高度上皮異形成の一部で、正常部との境界明瞭な重層化、あるいは発現が全く見られない異型発現パターンが見られたが、TP53 の発現強度や頻度の評価は、同一標本内の正常部と比較することが重要である。また、カンジダ感染症等の反応性変化や細胞内代謝を反映した野生型 TP53 の高発現を反映している可能性もあり、今後、TP53 の過剰発現と遺伝子変異の関係を検証する事が必要である。

CK13 や CK17 の異型発現パターンによる病型の鑑別への直接的な寄与は低いですが、Ki-67 や TP53 と組み合わせる事が有用であると考えられた。

本研究結果は、口腔前癌病変の実際的な病理組織診断に有用であり、また、診断上のピットフォールを回避する事にも有用である。今後、病理組織像のディープラーニングによる AI の病理診断支援や手術断端の評価に応用する際にも有用と考えられる。

この様に、免疫染色マーカーの異型発現パターンに着目することにより、口腔前癌病変の的確な病理組織診断を補完する免疫染色マーカーの所見を、実際的な病理診断へ応用することを推進できると考えられる。