

氏 名 は だ とも ひろ  
羽 田 朋 弘  
学 位 の 種 類 博士 (歯学)  
学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第269号  
学 位 授 与 の 日 付 平成23年 3 月10日  
学 位 論 文 題 目 多形腺腫における腫瘍性筋上皮細胞マーカーとしての WT1 の有用性に関する検討

## 論文内容の要旨

### I 研究目的

多形腺腫は唾液腺において最も高頻度に発生する良性の上皮性腫瘍であり、導管上皮由来の細胞と、筋上皮細胞由来の細胞が二相性に増殖していることが病理学的特徴である。一般に予後は良好であるが5%前後で再発がみられ、被膜や腫瘍境界部での腫瘍細胞の同定が病理診断学的に重要となる。WT1 遺伝子は小児腎腫瘍である Wilms 腫瘍の原因遺伝子として単離されたが、現在ではさまざまな腫瘍において WT1 蛋白および遺伝子の発現が確認されている。しかし、多形腺腫での発現はいまだ明らかとなっていない。本研究では多形腺腫における WT1 蛋白および遺伝子の発現を検索し、抗 WT1 抗体の免疫組織化学的腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。

### II 研究方法

実験には岩手医科大学歯科医療センターにて切除された多形腺腫症例 30 例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた。また、口腔扁平上皮癌症例で頸部郭清術の際に摘出された顎下腺 15 例、ならびに粘液嚢胞とともに切除された小唾液腺 16 例を対照組織として使用した。抗 WT1 マウスモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学を行い、WT1 蛋白の発現と局在を観察した。さらに、従来より筋上皮細胞マーカーとして使用されている抗体 (SMA, HHF35, vimentin, p63) と比較し、腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。また、多形腺腫 8 例と顎下腺 8 例のホルマリン固定パラフィン包埋標本より total RNA を抽出し、RT-PCR 法にて WT1 mRNA の発現を確認した。さらに、多形腺腫 3 例で *in situ* hybridization を行い、WT1 mRNA 発現の局在を確認した。

### III 研究成績

#### 1. 免疫組織化学所見

抗 WT1 抗体は多形腺腫全例において腫瘍性筋上皮細胞の細胞質に陽性であり、WT1 蛋白の発現が示された。また、腫瘍性筋上皮細胞に対して、他の抗体よりも高い特異性を示した。一方、顎下腺および小唾液腺では全例で陰性であった。

#### 2. RT-PCR

多形腺腫、顎下腺ともにホルマリン固定パラフィン包埋標本より total RNA を抽出し、RT-PCR を行ったところ、多形腺腫 8 例中 7 例で WT1 mRNA の発現がみられた。一方、顎下腺では 8 例中 2 例にわずかに発現がみられたのみであった。

#### 3. *In situ* hybridization

多形腺腫において腫瘍性筋上皮細胞増殖巣にシグナルの発現を検出し、WT1 mRNA の発現がみられた。一方、顎下腺の筋上皮細胞には WT1 mRNA の発現はみられなかった。

### IV 考察及び結論

抗 WT1 抗体を用いた免疫組織化学は正常唾液腺組織の筋上皮細胞には陰性であったが、多形腺腫の腫瘍性筋上皮細胞には陽性であり、腫瘍性筋上皮細胞における WT1 蛋白の発現が示された。RT-PCR では多形腺腫に

*WT1* mRNA の発現が検出され、*in situ* hybridization では多形腺腫における *WT1* mRNA の発現の局在が腫瘍性筋上皮細胞であることが示された。一方、正常唾液腺では RT-PCR, *in situ* hybridization のいずれにおいても、*WT1* mRNA の発現はみられなかった。このように、*WT1* 蛋白および *WT1* mRNA の発現の局在は腫瘍性筋上皮細胞に一致し、多形腺腫における抗 *WT1* 抗体を用いた免疫組織化学の特異性が示された。また、他の抗体が陰性であった症例においても、抗 *WT1* 抗体は腫瘍性筋上皮細胞に陽性であり、腫瘍細胞の同定に有用であることが示唆された。さらに、腫瘍性筋上皮細胞の局在が多形腺腫の予後と関係しているとされていることから、抗 *WT1* 抗体を用いた免疫組織化学が多形腺腫の診断において有用であることが示唆された。

以上のように、抗 *WT1* 抗体は多形腺腫の腫瘍性筋上皮細胞に対して、免疫組織化学的に特異性が高く、病理診断にあたって有用なマーカーとなりえることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 水 城 春 美 (口腔外科学講座 顎口腔外科学分野)  
副査 教授 武 田 泰 典 (口腔病因病態制御学講座 口腔病理学分野)  
副査 教授 石 崎 明 (口腔機能構造学講座 口腔生化学遺伝学分野)

多形腺腫は唾液腺において最も高頻度に発生する良性の上皮性腫瘍で、一般に予後は良好であるが、5%前後で再発がみられ、被膜や腫瘍境界部での腫瘍細胞の同定が病理診断学的に重要となる。現在、さまざまな腫瘍において *WT1* 蛋白および *WT1* 遺伝子の発現が確認されているが、唾液腺の良性腫瘍である多形腺腫での発現についてはまだ不明である。そこで、この研究では多形腺腫における *WT1* 蛋白および *WT1* 遺伝子の発現を検索し、抗 *WT1* 抗体の免疫組織化学的腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。

研究には多形腺腫 30 例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた。正常顎下腺 15 例および正常小唾液腺 16 例の標本を対照とし、抗 *WT1* モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学を行い、陽性反応の局在を観察した。筋上皮細胞マーカーとされている抗体 (SMA, HHF35, vimentin, p63) と比較し、多形腺腫における腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。また、多形腺腫 8 例と正常顎下腺 8 例の標本から total RNA を抽出し、RT-PCR 法にて *WT1* mRNA の発現の有無を調べた。さらに、多形腺腫 3 例で *in situ* hybridization を行い、*WT1* mRNA 発現の局在を観察した。

その結果、免疫組織化学では抗 *WT1* 抗体は多形腺腫全例において腫瘍性筋上皮細胞の細胞質に陽性を示した。また、腫瘍性筋上皮細胞に対して他の抗体よりも高い特異性を示した。一方、顎下腺および小唾液腺では全例で陰性であった。RT-PCR では多形腺腫 8 例中 7 例で *WT1* mRNA が検出された。正常顎下腺では 8 例中 2 例のみ検出された。*in situ* hybridization では多形腺腫においてシグナルが検出されが、正常顎下腺の筋上皮細胞ではシグナルは認められなかった。

以上から、抗 *WT1* 抗体は多形腺腫の腫瘍性筋上皮細胞に対して、免疫組織化学的に特異性が高く、病理診断にあたって腫瘍性筋上皮細胞検出の有用なマーカーになりえることが示唆された。

## 試験・試問の結果の要旨

本研究の目的、方法、結果の概要について分かりやすい説明がなされ、研究の目的、方法、結果を十分に理解していることが窺えた。また、研究結果ならびに関連する事項についての試問を行ったところ、的確な回答が得られた。さらに、今後の研究の展望、抱負についても述べられ、研究に対する意欲が感じられた。学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと判定した。