



# bcl-2 Expression in Epidermal Keratinocytic Diseases

中川, 浩一

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1997-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1640

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001640>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	なか がわ こう いち 中 川 浩 一 (兵庫県)
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	博い第1095号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与の日付	平成9年3月31日
学位論文題目	bcl-2 Expression in Epidermal Keratinocytic Diseases (表皮ケラチノサイト系疾患におけるbcl-2の発現)

審 査 委 員	主査 教授	市 橋 正 光		
	教授	住 野 公 昭	教授	前 田 盛

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [緒言]

アポトーシスとはいわゆる壊死(ネクローシス)と違って、細胞が自らの内側から引き起こすように見える形態の細胞死と考えることができる。アポトーシスという現象は、HE染色において凝縮した核をもつ細胞としてかなり以前より観察され、記載されてきた。例えば紫外線照射により形成されるサンバーン細胞やボーエン病における異常角化細胞等はアポトーシスによる死細胞と考えられており皮膚疾患においてもアポトーシスは重要な役割を演じていると思われる。アポトーシスが最近非常に注目されている理由としては、(1)アポトーシスが個体形成において重要である、(2)各種の抗癌剤がアポトーシスで癌細胞破壊を行う、(3)アポトーシスは種々の遺伝子やサイトカインによって制御されていることがわかった、などが挙げられる。

正常組織にとって細胞増殖と細胞死のバランスが重要であり、癌においてはこのバランスが崩れていると思われる。すなわち細胞死をコントロールする方法が明らかになれば、癌等の治療に結びつく可能性がある。

bcl-2遺伝子はヒト濾胞性リンパ種にみられるt(14;18)転座点にある癌遺伝子として発見された。その後Bcl-2蛋白はアポトーシスを制御する因子の一つであることがわかった。Bcl-2蛋白は、正常リンパ球に強く発現しその恒常性維持に関係しているばかりでなく、大腸癌・前立腺癌などの悪性腫瘍では過剰発現が報告され、発癌メカニズムに関わっている可能性がある。今回我々はケラチノサイト系腫瘍及び炎症性増殖性疾患におけるbcl-2遺伝子の役割を検索するため免疫組織科学的方法を用いて解析した。

#### [実験材料及び方法]

当科において手術時切除された凍結組織92例(正常組織20例、尋常性乾癬5例、慢性皮膚炎11例、脂漏性角化症20例、ボーエン病11例、日光角化症8例、基底細胞癌15例、有棘細胞癌2例)及び有棘細胞癌の培養細胞2種類につき検討した。凍結組織は切除後ただちに液体窒素にて凍結し、コンパウンドに包埋後-80度で保存されていたものを使用。

凍結切片は6  $\mu$ mの厚さに薄切したものをういアセトンにて固定後、3%過酸化水素水にて内因性ペルオキシダーゼ活性を、また正常ウサギ血清にて抗体の非特異的反応をそれぞれブロックした。一次抗体として40倍希釈したDAKO社製抗bcl-2 124抗体を反応させ、二次抗体としてビオチン化抗ラビットIg抗体さらにアビジン・ペルオキシダーゼコンプレックスを反応させた。最後にAECを用いて、ペルオキシダーゼを発色させ、ヘマトキシリンにて核染色した。

ヒト表皮由来有棘細胞癌培養細胞としてはSCC13, SCC27を用いアセントで固定後上記と同様の方法にて染色した。

Dopa (3,4-dihydroxy-phenylalanine) 染色は凍結切片を1000倍希釈dopa液に反応させた後包埋した。陽性コントロールとして正常リンパ節を、陰性コントロールとして一次抗体を省略したものを使用した。

#### [結果]

陽性判定の方法としては以下のように行った。400倍光学顕微鏡下に数十視野を観察し、視野内の全細胞に対する陽性細胞の比率が50%以上の場合を強度陽性、25%から50%の場合を中等度陽性、5%から25%陽性の場合を軽度陽性、5%以下の場合を陰性と判定した。その結果、正常皮膚組織においては20例全てにおいてケラチノサイトは陰性であった。しかし基底層部にのみ、陽性を示す細胞が散在していた。このBcl-2蛋白陽性細胞はDopa染色にも陽性であることからメラノサイトであることが判明した。このことは剥離表皮組織を用いたbcl-2染色においても確かめられた。慢性皮膚炎・尋常性乾癬・脂漏性角化症はすべて陰性。ボーエン病は11例中強陽性が8例、中等度陽性が3例であった。日光角化症は8例中軽度陽性が2例。

基底細胞癌は15例中強陽性が10例、中等度陽性が5例。有棘細胞癌は組織切片・培養細胞ともに全例強陽性であった。

#### [考察]

正常ケラチノサイト及び炎症性増殖性疾患ではBcl-2蛋白は殆ど発現していなかった。これに対し前癌病変である日光角化症やボーエン病は前者が一部陽性、後者が全例陽性であった。そして悪性腫瘍である基底細胞癌、有棘細胞癌も全例陽性を示した。この結果はケラチノサイト系悪性腫瘍の形成機構においてBcl-2蛋白が何らかの役割を演じている可能性を示唆するものであり、今後検討を要する。

一方メラノサイトは、皮膚においてメラニンを産生し紫外線防御に非常に重要である。正常メラノサイトにおいてもBcl-2蛋白が強く発現していることを証明したのはこの論文が世界で最初である。正常リンパ球と同様に正常表皮でわずか数%しか存在しないメラノサイトの恒常性維持や機能発現にBcl-2蛋白が深く関わっている可能性が考えられる。すなわちbcl-2遺伝子を制御することによって、白斑や老化におけるメラノサイトの数の減少の治療及び予防に役立つ可能性がある。

### 論文審査の結果の要旨

#### [緒言]

bcl-2遺伝子はヒト濾胞性リンパ種にみられるt(14;18)転座点にある癌遺伝子として発見された。その後Bcl-2蛋白はアポトーシスを制御する因子の一つであることがわかった。Bcl-2蛋白は、大腸癌・

前立腺癌などの悪性腫瘍ではその過剰発現が報告され、発癌メカニズムに関わっている可能性がある。今回我々は角化細胞由来の腫瘍及び炎症性増殖性疾患におけるbcl-2遺伝子の役割を検索するため免疫組織科学的方法を用いて解析した。

#### [実験材料及び方法]

手術時切除された正常組織、尋常性乾癬、慢性皮膚炎、脂漏性角化症、ボーエン病、日光角化症、基底細胞癌、有棘細胞癌の凍結組織を用いて検討した。一次抗体として40倍希釈したDAKO社製抗bcl-2 124抗体を使用。

#### [結果]

正常皮膚組織においては角化細胞のBcl-2蛋白は陰性であった。しかし基底層部にのみ、陽性を示す細胞が散在していた。このBcl-2蛋白陽性細胞はDopa染色にも陽性であることから色素細胞であることが判明した。慢性皮膚炎・尋常性乾癬・脂漏性角化症の角化細胞はすべて陰性。ボーエン病は11例中強陽性が8例、中等度陽性が3例であった。日光角化症は8例中軽度陽性が2例。

基底細胞癌、有棘細胞癌は全例強陽性であった。

#### [考察]

正常角化細胞及び炎症性増殖性疾患ではBcl-2蛋白は殆ど発現していなかった。これに対し前癌病変である日光角化症やボーエン病の多くが陽性、そして悪性腫瘍である基底細胞癌、有棘細胞癌は全例陽性を示した。この結果は角化細胞の悪性腫瘍化においてBcl-2蛋白が何らかの役割を演じている可能性を示唆する。

一方色素細胞は、皮膚においてメラニンを産生し紫外線防御に深くかかわっている。

正常色素細胞においてもBcl-2蛋白が強く発現していることを証明したのはこの論文が世界で最初である。正常表皮でわずか数%しか存在しない色素細胞の恒常性維持や機能発現にBcl-2蛋白が深く関わっている可能性が考えられる。すなわちbcl-2遺伝子を制御することによって、白斑や老化におけるメラノサイトの数の減少の治療及び予防に役立つ可能性がある。本研究はbcl-2遺伝子が表皮角化細胞の癌化に関与することを示すのみならず、色素細胞がBcl-2蛋白を強く発現し細胞死を防いでいる可能性を示した価値のある集積であると認める。よって本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。