Bowen 病

Clear cell を伴った Bowen 病の keratin 発現の
免疫組織化学的検討

岡田 裕之* 大西 誉光* 渡辺 晋一*

Summary

In this study, six cases of Bowen's disease with clear cells and two cases of solar keratosis (bowenoid type) with clear cells were retrieved and analyzed immunohistochemically by the avidin-biotin-complex method, using a panel of monoclonal anti-keratin antibodies. In Bowen's disease, both tumor cells in conventional lesion and clear cells expressed differentiation specific keratin (CKs 1 and 10). Positive focal staining with antibodies against simple epithelial keratins (CKs 8, 18, and 19) or noncornifying stratified epithelial keratins (CKs 4 and 13) was noted in markedly atypical cells, but not in the other tumor cells including clear cells. With the antibodies 4.1.18 (CK 8) and 170.2.14 (CK 19) which recognized the outer most layer of the outer root sheath, any tumor cells except for above atypical cells failed to react. Furthermore, there was no difference in immunoreactivities between Bowen's disease and solar keratosis. Therefore, it is suggested that the presence of clear cells in Bowen's disease and solar keratosis may not indicate the follicular differentiation in those lesions.

Key words : Bowen's disease, Solar keratosis, Keratin, Clear cell

はじめに

Bowen 病では症例によっては多彩な組織像がみられ、時に clear cell を伴うことも知られている。一方, malignant trichilemmoma (以下 MT) は外毛根鞘の悪性腫瘍で、腫瘍胞巣内に clear cell を有することから、clear cell を伴った Bowen 病と鑑別が困難な場合がある。今回我々は、この Bowen 病の発生母地または分化の方向を知る目的で、各種抗ケラチンモノクローナ

ル抗体を用いてそのケラチン発現パターンを免疫組織化学的に検討した。さらに bowenoid type の日光角化症についても同様の検討を行った。

材料と方法

1. 症 例

clear cell を有する Bowen 病 6 例, clear cell を有する bowenoid type の日光角化症 2 例を材料とした。Bowen 病の症例は 67 歳から 94 歳の男性 4 名, 女性 2 名で、5 例は非露光部の体幹下肢に生じたものであったが、1 例は手背に生じたものであった。また、日光角化症の 2 例は 83 歳と 84 歳の男性の頭部に生じたものであっ

* Hiroyuki OKADA, Takamitsu OHNISHI, Shinichi WATANABE : 帝京大学皮膚科学教室

た (Table 1)。

2. 免疫組織化学染色

各材料を 10% ホルマリン固定後パラフィン包埋し、用時それぞれを 5 μ m に薄切し、免疫組織染色に供した。各切片を脱パラフィン後、リン酸緩衝液生理食塩水にて十分に洗浄し、Table 2 の一次抗体を用いて ABC 法にて免疫染色を行った。また、一部のサイトケラチンに対する抗体では染色前に 20 ~ 40 分間のトリプシン処理あるいはマイクロウェーブ処理を行った。

結 果

1. 病理組織学的所見

Bowen 病では、表皮突起は不規則に延長し、一部の例で厚い角質もしくは痂皮が付着し、真皮上層には小円形細胞浸潤がみられた。表皮内

には大小不同で異型な核を有する腫瘍細胞が増殖し、その極性は乱れていた。また、clumping cell や個細胞角化、核分裂像等も散見された (Fig. 1a)。以上のような典型的な Bowen 病の同一病巣内に、表皮に角質物質を満たした陥凹があり、その外層には大型で明るい胞体と大小不同の異型な核を有する clear cell の増殖が認められた。さらにその外方には一層から数層の基底細胞様細胞の増殖がみられたが、明らかな柵状配列はなかった。また、角質への移行部は顆粒層を経ずに角化し、一見外毛根鞘性角化様を呈していたが、腫瘍細胞は大型淡明化せず、むしろ扁平化した後に不全角化を呈していた (Fig. 1b)。clear cell は PAS 染色陽性でジアスターゼで消化された。

日光角化症も Bowen 病とほぼ同様の組織所見であったが、真皮上層の solar elastosis が顕著であった。また、症例によっては表皮の一部は萎縮し、atrophic type の日光角化症の部位も混在していた。

2. 免疫組織化学染色所見

分化型ケラチンの CK1, 10 をそれぞれ認識する 34 β B4 (CK1), DE-K10 (CK10) 抗体では、Bowen 病、日光角化症ともに基底層を除いてほぼ全層が染色されたが、clear cell では若干染色性が減弱していた (Fig. 2a)。KL1 (CKs 1, 2, 5, 8, 11, 14, 16-18) 抗体でもほぼ同様の染色所見を呈していた。分泌部腺細胞を除いた汗腺と正常表皮と毛嚢 (脂腺) を染色する 34 β E12 (CKs 1, 5, 10, 14), LP34 (CKs 5, 6, 18) 抗体では Bowen 病、日光角化症ともに全層が染色され、clear cell も同様に染色されたが、34 β E12 抗体では clear cell の染色性が若干減弱していた。大多数のケラチノサイトを認識する AE3 (CKs 1-8) 抗体でも Bowen 病、日光角化症ともにほぼ全層が染色されたが、clear cell では若干染色性が減弱していた。正常表皮の基底層を染色し、正常外毛根鞘下部の全層を染色する RCK102 (CKs 5, 8), MNF116 (CKs 5, 6, 8, 17, and probably 19) 抗体では、Bowen 病、日光角化症

Table 1. 検討症例一覧

Bowen病				日光角化症			
No.	年齢	性別	部位	No.	年齢	性別	部位
1	67	女	下腿	1	83	男	頭部
2	73	男	大腿	2	84	男	頭部
3	79	男	下腿				
4	83	女	足背				
5	86	男	手背				
6	94	男	腹部				

Table 2. 今回用いた一次抗体

抗体	特異性	製造元
34 β B4	Cytokeratin 1	ENZO
AE3	Cytokeratins 1-8	Boehringer
KL1	Cytokeratins 1,2,5-8,11,14,16-18	Immunotech
34 β E12	Cytokeratins 1,5,10,14	ENZO
RCK102	Cytokeratins 5,8	SANBIO
MNF116	Cytokeratins 5,6,8,17, and probably 19	Dakopatts
LP34	Cytokeratins 5,6,18	Dakopatts
Ks7.18	Cytokeratin 7	PROGEN
OV-TL12/30	Cytokeratin 7	Dakopatts
35 β H11	Cytokeratin 8	ENZO
4.1.18	Cytokeratin 8	Boehringer
CAM5.2	Cytokeratins 8,18	Becton-Dickinson
NCL5D3	Cytokeratins 8,18,19	SANBIO
DE-K10	Cytokeratin 10	Dakopatts
AE1	Cytokeratins 10,14-16,19	Boehringer
Ks13.1	Cytokeratin 13	Boehringer
Ks18. 04	Cytokeratin 18	PROGEN
170.2.14	Cytokeratin 19	Boehringer
RCK108	Cytokeratin 19	Dakopatts
Ks19.1	Cytokeratin 19	PROGEN
Ks20.8	Cytokeratin 20	Dakopatts
Involucrin	Involucrin	Biomedical-Tech

Fig.1. Bowen 病の組織像 (H. E. 染色)

a | b

a : Bowen 病の典型的組織像

b : Bowen 病の同一病変内に clear cell が増殖する部位が存在する

Fig.2. clear cell をともなった Bowen 病の免疫組織学的所見

a | b
c | d

a : DE-K10 抗体 (CK10) では, Bowen 病に典型的な部位も clear cell も共に陽性所見を呈した

b : RCK102 抗体 (CKs 5,8) では, 最外層が染色され, 上層に向かうにつれ染色性は減弱し, clear cell は弱陽性ないし陰性であった

c : 4.1.18 抗体 (CK 8) では異型性の強い部位に陽性所見がみられる傾向があった

d : clear cell の部分は 4.1.18 抗体 (CK 8) ではほぼ全例で陰性であった

ともに最外層が染色され, 上層に向かうにつれ染色性は減弱し, clear cell は弱陽性ないし陰性であった (Fig. 2b)。正常表皮基底層を染色する AE1 (CKs 10, 14-16, 19) 抗体では Bowen 病, 日光角化症ともに全層が染色されたが, clear

cell で染色性の減弱がみられた。

単層上皮型ケラチンを認識する Ks7.18 (CK7), OV-TL12/30 (CK7), 4.1.18 (CK 8), CAM5.2 (CKs 8, 18), 170.2.14.(CK19), Ks19.1 (CK19) の各抗体では Bowen 病, 日光角化症と

Table 3. 抗ケラチン抗体による免疫組織化学的所見

抗体	特異性	Bowen病		日光角化症	
		典型的病変部	Clear cell	典型的病変部	Clear cell
34 β B4	CK 1	→+	±	→+~±	±
AE3	CKs 1-8	+	±	±	±~+
KL1	CKs 1,2,5-8,11,14,16-18	→+	+~±	→+	+
34 β E12	CKs 1,5,10,14	+	±	+	±
RCK102	CKs 5,8	+→±	±~+	+→±	±~+
MNF116	CKs 5,6,8,17, and probably 19	+	+~±	+	+~±
LP34	CKs 5,6,18	+	+	+	+
Ks7.18	CK 7	~± (3/4)	—	~± (1/2)	—
OV-TL12/30	CK 7	~± (1/6)	—	—	—
35 β H11	CK 8	—	—	—	—
4.1.18	CK 8	~± (1/6)	—	~± (1/2)	~± (1/2)
CAM5.2	CKs 8,18	~± (1/4)	—	—	—
NCL5D3	CKs 8,18,19	—	—	—	—
DE-K10	CK 10	→+	+~±	→+	+~±
AE1	CKs 10,14-16,19	+	+~±	+	+
Ks13.1	CK 13	~± (1/4)	—	—	—
Ks18.04	CK 18	—	—	—	—
170.2.14	CK 19	—	—	±	±~+
RCK108	CK 19	—	—	ND	ND
Ks19.1	CK 19	~± (1/4)	—	±	—
Ks20.8	CK 20	—	—	—	—
Involucrin	Involucrin	→+	+~±	→+	+~±

+, positive; ±, slightly positive; —, negative; →, staining intensity changes in the lower portion

もに部分的に陽性を呈する例がみられた (Fig. 2c)。これらの陽性所見は異型性の強い部位にみられる傾向があり、また clear cell の部分はほぼ全例で陰性であった (Fig. 2d)。35 β H11 (CK 8), NCL5D3 (CKs 8, 18, 19), Ks18.04 (CK18), RCK108 (CK19) の各抗体では Bowen 病, 日光角化症ともに全例が陰性で、異型性の強い部位も染色されなかった。また、粘膜上皮に発現される CK13 を認識する Ks13.1 (CK13) 抗体は Bowen 病の 1 例を染色したが、異型性の強い部位が染色され、clear cell は陰性であった。皮膚では Merkel 細胞のみを染色する Ks20.8 (CK20) 抗体は Bowen 病, 日光角化症ともに全例が陰性であった。上記の染色結果を Table 3 に示す。

考 案

Bowen 病や日光角化症のケラチン発現については既にいくつかの報告がなされている。すなわち、Ichikawa ら¹⁾ によれば Bowen 病や日

光角化症は正常表皮と同様のケラチン発現パターンを呈し、Bowen 病では異型の強い dyskeratotic cell に単層上皮型ケラチンの発現もみられる。さらに、市川ら²⁾ は低分化型の SCC では単層上皮型のケラチンや粘膜上皮型ケラチンが発現されることを明らかにし、悪性の指標になりうることを報告している。今回の検討では Bowen 病や bowenoid type の日光角化症は正常表皮と同様に分化型ケラチンを発現し、Ichikawa ら¹⁾ の報告とはほぼ同様の結果が得られた。また異型性の強い部位に単層上皮型ケラチンや粘膜上皮型ケラチンの発現が確認され、Bowen 病や日光角化症、すなわち *in situ* の状態でも異型度に応じて単層上皮型ケラチンが発現することが判明した。一方、Malignant trichilemmoma は trichilemmoma の malignant counter part であるが、clear cell を伴うことが一つの特徴であるため、clear cell を伴う Bowen 病³⁾ や日光角化症としばしば混同され、あるいは鑑別困難な場合も少なくない。今回検討した Bowen 病や日光角化症では clear cell の部は染

色性に若干の減弱が認められるものの通常の Bowen 病や日光角化症と同様のケラチン発現パターンを呈していた。また、正常外毛根鞘は 4.1.18 (CK 8), 170.2.14 (CK19) 抗体で、特にその外側が染色されることが報告されている^{4) 5)}。この抗体を含めたいくつかの単層上皮を認識する抗体で Bowen 病や日光角化症の何例かの極く一部が染色されたが、この陽性所見は異型性の強い部位にのみみられ、上述の 2 つの抗体に限られないことより、外毛根鞘への分化を示唆する所見というより、むしろ前述の分化度に応じたケラチンの変化と考えられた。また、この陽性所見は clear cell の部位ではないことから、Bowen 病や日光角化症における clear cell の存在は外毛根鞘への分化を示唆するものではないと考えられた。さらに clear cell については分化型ケラチンの発現から毛嚢漏斗部への分化と考えるよりも、もともと表皮へ分化する腫瘍が metabolic な変化を来して、clear cell change を来したと考えられた。以上より clear cell を伴った異型細胞の増殖は Bowen 病や日光角化症にもみられ、この所見のみから容易に MT の診断を下すべきでないと考えられた。事実、近年 MT のケラチン発現についていくつか報告がなされているが、CK1, 10 の発現した例が毛嚢漏斗部への分化を示す MT として報告さ

れている。これはケラチン発現パターンからは clear cell を伴った Bowen 病である可能性も考えられる。したがって過去に報告された MT については Bowen 病または日光角化症が含まれている可能性が否定できず、今後、MT の疾患概念や定義についてケラチン発現面からも再検討が必要と考えられた。

文 献

- 1) Ichikawa, E., Watanabe, S., Otsuka, F. : Immunohistochemical localization of keratins and involucrin in solar keratosis and Bowen's disease. *Am. J. Dermatopathol.*, 17 : 151-157, 1995.
- 2) 市川栄子, 渡辺晋一, 大塚藤男 : 皮膚有棘細胞癌におけるサイトケラチン発現の免疫組織化学的検討. *日皮会誌*, 103 : 1043-1052, 1993.
- 3) Kirkham, N. : *Lever's Histopathology of the skin*, Elder, D. ed, 8th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997, pp708.
- 4) Watanabe, S., Torii, H., Matsuyama, T., et al. : A case report and an immunohistochemical study of cytokeratin expression. *Am. J. Dermatopathol.*, 18 : 308-313, 1996.
- 5) Watanabe, S., Wagatsuma, K., Takahashi, H. : Immunohistochemical localization of cytokeratins and involucrin in calcifying epithelioma : comparative studies with normal skin. *Br. J. Dermatol.*, 131 : 506-513, 1994.