

[原 著]

エナメル上皮腫におけるケラチン蛋白の局在 に関する免疫組織化学的研究

賀来 亨, 館山 美樹, 松原 敏夫,
奥山 富三, 岩井 正行*

東日本学園大学歯学部口腔病理学講座
*札幌医科大学口腔外科学講座

(主任: 奥山富三 教授)
*(主任: 小浜源郁 教授)

Immunohistochemical Study on Localization of Keratin Protein in Ameloblastomas

Tohru KAKU, Miki TATEYAMA, Toshio MATSUBARA,
Tomizo OKUYAMA, and Masayuki IWAI*

Department of Oral Pathology, School of Dentistry,
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY

*Department of Oral Surgery,
SAPPORO MEDICAL COLLEGE

(Chief : Prof. Tomizo OKUYAMA)
*(Chief : Prof. Gen-iku KOHAMA)

Abstract

The distribution of intracellular keratin protein in ameloblastomas was studied. Antikeratin antibodies were used against total keratin extracts from the human stratum corneum of the foot sole by the peroxidase antiperoxidase (PAP) method. Formalin-fixed paraffin-embedded tissues were employed.

All 17 cases of ameloblastoma showed moderate to strong stains for keratin in the cytoplasm of the cells present in the nests and cords of ameloblastomas, whereas the endothelial cells and other stromal elements remained negative. Intensity of staining of keratin was stronger in the stellate cells or spindle cells in the central region than in the columnar cells at the periphery.

The present report is the first immunohistochemical evidence that keratin is a component in epithelial portion of ameloblastomas of the jaws.

Key words : Immunohistochemistry, keratin, ameloblastoma

緒 言

多くの動物細胞は細胞の形態の保持に役割を演じている, 細胞質の収縮や運動に関与している細胞骨格 cytoskeleton と呼ばれている構造と関係する線維性蛋白 fibrillar protein を含んでいる。¹⁾ 直径約 5 nm のマイクロフィラメント microfilament, 直径 25 nm の微小管 microtubule に加えて, 第 3 のクラスが最近区分され, 直径 7~11 nm 中間径フィラメント intermediate-sized filament と呼ばれている。²⁾ これらは生化学的, 免疫学的に 5 つのサブクラスに分かれている。1). ビメンチン vimentin, 間葉系細胞に広く分布している^{3,~8)} 2). ケラチン keratin, 表皮のみならず広く上皮細胞に存在する^{5,~20)} 3). デスミン desmin, 筋原性細胞に特徴的な蛋白,^{11,21,22)} 4). グリア線維酸性蛋白質 glial fibrillary acidic protein,^{23~25)} 5). ニューロフィラメント neurofilament, 中枢, 末梢神経のニューロンのフィラメント²⁶⁾ の 5 つである。ケラチンは重層扁平上皮の分化した細胞成分と考えられていたが, 最近非常に広い生物学的分布をしていることが認められている。^{10,11)} 種々の上皮細胞はトノフィラメントの主成分であるケラチンを含んでいる。抗原として表皮よりケラチンを抽出し, 抗ケラチン抗体を作製し, ウサギ, マウス, ラット, ヒトの培養細胞, 組織の凍結切片, フォルマリン固定組織切片を用いて蛍光抗体法, 酵素抗体法による免疫組織学的検索によって, ケラチンを含んでいることが証明されている。^{1,2,5~20)} 結合組織, 神経, 脳, 筋細胞ではケラチンの存在は認められない。^{10,11)}

エナメル上皮腫はその実質がエナメル器に類

似する歯系腫瘍で, 口腔外科領域において極めて重要な疾患であり, これまでに多くの研究報告がなされている。エナメル上皮腫に関する形態学的研究は光顕,^{27~30)} 透過型,^{31~39)} 走査型⁴⁰⁾ 電顕により観察した報告がなされているが, 本腫瘍のケラチンの免疫組織化学的研究の報告はなく, 類似の組織像を示す胄骨のアダマンチノーマ adamantinoma,⁴¹⁾ および下垂体腫瘍である頭蓋咽頭腫 craniopharyngioma^{42,43)} の報告のみである。

今回, われわれは酵素抗体法である PAP (peroxidase antiperoxidase) 法⁴⁴⁾ によって, このケラチンを上皮細胞に特異性をもつマーカーとして染め出し, これを用いてエナメル上皮腫の腫瘍性病変の性状を検索した。

材料ならびに方法

検索材料はエナメル上皮腫 17 例パラフィン・ブロックを用いた。

抗ヒトケラチン血清は Sun and Green の方法⁴⁵⁾ によりヒト足底の角化部からケラチン蛋白を抽出精製し, ウサギを免疫し得られた。

免疫組織化学的検索は Sternberger らの PAP 法⁴⁴⁾ に準じて, ホルマリン固定, パラフィン包埋組織標本を用いて行った。標本を 5 μ に薄切し, 脱パラフィンを行い, アルコールを通し, 水洗した後, 蛋白分解酵素, pronase (protease type VII, Sigma) による組織の前処理を行った後, 非特異的 background staining を減弱させる目的で, 正常ブタ血清を用いて, 抗ヒトケラチン・ウサギ血清 (1:800), 抗ウサギ免疫グロブリン・ブタ血清 (1:20) を反応させ, peroxidase antiperoxidase complex (1:50) との

反応を行い, Graham and Karnovsky の方法⁴⁶⁾に準じて 3, 3'-diaminobenzidine (DAB, Sigma) 50mg/100ml にて茶かっ色に反応させ, Bioleit 封入を行い鏡検した。核染色は Carazzi's hematoxylin を用いた

ケラチン染色の陽性対照として, 皮膚, 口腔粘膜上皮を, 陰性対照として, 非免疫ウサギ血清を一次抗体として使用した。

組織学的検索にはヘマトキシリン・エオジン (hematoxylin-eosin) 染色を行った。

Staining Method for Peroxidase Antiperoxidase Procedure

1. Deparaffinize sections with 2 changes of xylene, and then hydrate through graded alcohol solutions to distilled water.
2. Place sections in cold phosphate buffered saline (PBS) pH 7.1 for 10 min.
3. Treat the sections with pronase (protease type VII, Sigma), prepared immediately before use at concentration of 0.025% in 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.6, for 10 min. at 37°C.
4. Wash in 3 changes of cold PBS for 5 min.
5. Apply non-immune swine serum diluted 1:10 in PBS for 10 min. at room temperature.
6. Drain off excess serum (do not rinse)
7. Apply primary rabbit anti-keratin antiserum of 1:800 dilution.** Incubate overnight at 4°C.
8. Wash in 3 changes of cold PBS, each for 5 min.
9. Apply swine anti-rabbit IgG serum* 1:20 dilution** for 30 min. at room temperature.
10. Wash in 3 changes of cold PBS, each for 5 min.
11. Apply rabbit peroxidase anti-peroxidase complex (PAP)* at a 1:50 dilution** for 30 min. at room temperature.
12. Wash in 3 changes of cold PBS, each for 5 min.
13. Stain for 2 min. at room temperature in freshly prepared DAB solution :
0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.6 100 ml.
3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) 50 mg.
Dissolve, filter and just before use add 1 ml. of 1 % hydrogen peroxide in distilled water.
14. Wash thoroughly in running tap water for several

minutes.

15. Counterstain with Carazzi's hematoxylin for 2 min.
16. Wash in running tap water for 5 min.
17. Dehydrate through graded alcohols, clear in xylene, and mount in Bioleit.

* Dakopatts A/S, Copenhagen, Denmark

** Dilutions are made in PBS containing 1 % normal swine serum.

結 果

ケラチン蛋白は本検索に用いたエナメル上皮腫17例全例に中等度ないし強い染色性が検出された。腫瘍実質は DAB による茶かっ色の反応産物が認められ, 間質結合組織は白血球などの内因性ペルオキシダーゼ活性以外の反応産物は認められなかった。

Fig. 1 は組織学的に歯堤に類似した上皮索の増殖からなり, 実質が索状に互いに連絡した増殖を示す。多数の間質嚢胞が認められる。間質に接する細胞は円柱状をなしている (Fig. 3)。実質の中央部にエナメル髓に類似した星状細胞群が認められる (Fig. 3)。ケラチンの局在をみると, ほとんどすべての腫瘍実質細胞に局在が認められ, 間質結合組織は陰性であった (Fig. 2, 4)。腫瘍実質細胞において染色性に差が認められ, 周辺細胞より中心部に染色性に強い傾向が認められた (Fig. 4)。

Fig. 5 の腫瘍実質は巢状ないし索状に増殖し, これらの周辺部の細胞は立方状ないし, 円柱状の細胞である。巢状發育を示す中心部の細胞は粗となって, エナメル器に似た星状細胞の形態をとり, 嚢胞の形成も認められる。この標本の一部 (Fig. 9) は充実性で緻密に配列して, 充実性のエナメル上皮腫の所見を呈する部分が認められる。間質に接する部分の細胞は円柱状を呈している。内方の細胞は細胞結合がゆるく紡錘状の細胞形態を示している (Fig. 9)。ケラチンの酵素抗体法による所見をみると, ほとんどの腫瘍実質に染色性が認められ, 間質は陰性

である (Fig. 6, 7, 8, 10)。実質の染色性をみると、中心部のエナメル髓に似た星状細胞に強い染色性が認められた (Fig. 8)。他部位の充実性の腫瘍実質部分のケラチンの染色性をみると、周辺部の細胞群より、内方の細胞群、紡錘状の細胞に強い傾向が認められた (Fig. 10)。

Fig. 11 は比較的発育の良い間質結合織の中に実質が巣状に増殖している。実質に接する部分に線維性間質が硝子化している所見が認められる。実質は、円柱状ないし立方状の細胞で被包されており、内方に向い漸次星状細胞の形態を示している。中心部にエオジンに好染する扁平上皮化生の傾向を有する細胞群が認められる。ケラチンの酵素抗体法による所見ではほとんどの腫瘍実質にケラチンの局在が認められ、中心部に強い染色性の傾向が認められ、扁平上皮化生部分にも強いケラチンの染色性が認められる (Fig. 12)。

考 察

ケラチンは抗ケラチン抗体を用いて PAP 法により本検索に用いたエナメル上皮腫のすべての腫瘍細胞に検出された。ケラチンはトノフィラメントと一致する細胞骨格の intermediate-sized filament の蛋白成分で、以前考えられたより広い生物学的分布を示し、たいていの上皮細胞に存在することが報告されている^{2,10,11)} また多くの良性、悪性の上皮性腫瘍はケラチン蛋白を保有しているので、ケラチンの存在は腫瘍細胞の上皮性性格を評価するさいに一つの補助手段として非常に有効である^{7,8,17,19)} 抗ケラチン抗体を用いて、例えば、胸腺腫の上皮細胞に⁴⁷⁾ 頭蓋咽頭腫^{42,43)} 胫骨のアダマンチノーマ⁴¹⁾ リンパ上皮腫⁴⁸⁾ などにケラチンの局在が認められている。

エナメル上皮腫のケラチンの免疫組織学的研究の報告はなく、類似の組織像を示す胫骨のアダマンチノーマ⁴¹⁾ および下垂体腫瘍である頭蓋

咽頭腫^{42,43)} の報告のみである。胫骨のアダマンチノーマは組織発生で、上皮由来か、血管内皮由来かで議論のあるところである。⁴⁹⁻⁵¹⁾ 最近、抗ケラチン抗体、抗第Ⅷ因子関連抗体を用いて、胫骨のアダマンチノーマの腫瘍細胞の性格を免疫組織化学的検索で、腫瘍細胞に強いケラチンの局在が認められ、第Ⅷ因子関連抗原の局在は認められず、アダマンチノーマの細胞は内皮細胞の性格よりも上皮性格を有していると報告している⁴¹⁾

エナメル上皮腫の病理組織学的研究は多くの研究者によってなされており、透過型電顕的検索の報告も多い³¹⁻³⁹⁾ エナメル上皮腫の構成細胞は、分化したエナメル器に類似した円柱、星状細胞に³¹⁾ 円柱、星状、中間細胞の 3 種の細胞に³²⁾ columnar, cuboidal, stellate, squamous cell type の 4 種の細胞に³⁸⁾ 分類し、それぞれの構成細胞を報告している。このようにエナメル上皮腫の超微形態学的に本腫瘍構成細胞の類似性を、分化した正常エナメル器^{31,32)} 歯堤ないし外エナメル上皮細胞^{38,39)} 口腔粘膜重層扁平上皮に求めるもの^{34,37)} あるいは口腔粘膜から歯堤までの種々の段階が混在している^{33,35)} と述べるものなどさまざまである。また本腫瘍細胞の超微形態より扁平上皮類似の特徴を有し、本腫瘍の基底細胞から内方にむかいトノフィラメントの増加とそれに伴う細胞内小器官の減少は、口腔粘膜上皮における基底細胞から表層にかけての所見と類似し、本腫瘍細胞が上皮由来であって、上皮性を失わず、上皮本来の生活パターン、特性をあらわしている³⁷⁻³⁹⁾ と報告している。

本腫瘍のケラチンの免疫組織化学的検索ではすべての腫瘍実質細胞にケラチンの局在が認められ (Fig. 2, 6, 10, 12)、染色性の強さは周辺細胞より、中心部の星状、紡錘状の細胞に強い傾向が認められた (Fig. 4, 8, 10)。本腫瘍の構成細胞は程度の差はあれ、トノフィラメントを有している³¹⁻³⁹⁾ 間質に接する円柱状細胞はト

ノフィラメントの発達が悪く、内層にいくに従って、トノフィラメントが発達するという諸家の報告がある。³⁷⁻³⁹⁾これらの電顕所見³⁷⁻³⁹⁾とケラチンの免疫組織化学的所見と一致すると思われる。すなわち、周辺細胞より中心部の細胞に強い染色性が認められ、おそらくトノフィラメントの発達と関係があると思われる。

今回のわれわれのケラチンの免疫組織化学的検索と電顕的報告³¹⁻³⁹⁾からケラチン蛋白の存在は強く重層扁平上皮の性格を示唆するものではあるが、ケラチンの免疫組織化学的研究報告から、ほとんどの上皮細胞はケラチンを持っており、重層扁平上皮細胞に特徴的でないことが明らかになっている。^{2,10,11)}ケラチンは heterogeneity のある分子量40,000~70,000の蛋白で、表皮のみならず、ほとんどの上皮細胞にトノフィラメントを形成する。^{2,10,11,16,18,52)}われわれの抗ケラチン抗体は足底の角化部から得られたケラチンを抽出精製し、ウサギに免疫し得られた抗体であるので、全ケラチンに対する抗体である。ケラチンの各分画に対し抗体を作製し、エナメル上皮腫の免疫組織学的検索を行えば、エナメル上皮腫の組織像、組織発生とケラチン・パターンに関連が認められるかもしれない。今後残された問題である。

結 論

エナメル上皮腫17例のケラチンの免疫組織化学的検索を行い、すべての腫瘍細胞にケラチンの局在が認められた。ケラチンの染色性は周辺部の細胞より、内部の紡錘状、星状細胞に強い染色性が認められた。ケラチンは上皮性のマーカーとして、上皮性、非上皮性の腫瘍の鑑別に役立つと思われる。

参 考 文 献

1. Franke, W. W., Schmid, E., Osborn, M., and Weber, K. : Different intermediate-sized filaments distin-

- guished by immunofluorescence microscopy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75 ; 5034-5038, 1978.
2. Sun, T. T. and Green, H. : Immunofluorescent staining of keratin fibers in cultured Cells, 14 ; 469-476, 1978.
3. Franke, W. W., Schmid, E., Winter, S., Osborn, M., and Weber, K. : Wide-spread occurrence of the intermediate-sized filaments of the vimentin-type in cultured cells from diverse vertebrates, *Exp. Cell Res.*, 123 ; 25-46, 1979.
4. Starger, J. and Goldman, R. D. : Isolation and preliminary characterization of 10 nm filaments from baby hamster kidney (BHK-21) cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74 ; 2422-2426, 1977.
5. Bannasch, P., Zerban, H., Schmid, E., and Franke, W. W. : Liver tumors distinguished by immunofluorescence microscopy with antibodies to proteins of intermediate-sized filaments, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77 ; 4948-4952, 1980.
6. Bannasch, P., Zerban, H., Schmid, E., and Franke, W. W. : Characterization of cytoskeletal components in epithelial and mesenchymal liver tumors by electron and immunofluorescence microscopy, *Virchows Arch. (Cell Pathol.)*, 36 ; 139-158, 1981.
7. Altmannsberger, M., Osborn, M., Hölscher, A., Schauer, A., and Weber, K. : The distribution of keratin type intermediate filaments in human breast cancer : An immunohistological study. *Virchows Arch. (Cell Pathol.)*, 37 ; 277-284, 1981.
8. Altmannsberger, M., Weber, K., Hölscher, A., Schauer, A., and Osborn, M. : Antibodies to intermediate filaments as diagnostic tools : Human gastrointestinal carcinomas express prekeratin, *Lab. Invest.*, 46 ; 520-526, 1982.
9. Franke, W. W., Weber, K., Osborn, M., Schmid, E., and Freudenstein, C. : Antibody to prekeratin : Decoration of tonofilament-like arrays in various cells of epithelial character. *Exp. Cell Res.*, 116 ; 429-445, 1978.
10. Sun, T. T., Shih, C. and Green, H. : Keratin cytoskeletons in epithelial cells of internal organs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76 ; 2813-2817, 1979.
11. Schlegel, R., Banks-Schlegel, S., and Pinkus, G. S. : Immunohistochemical localization of keratin in normal human tissues, *Lab. Invest.*, 42 ; 91-96, 1980.
12. Franke, W. W., Denk, H., Kalt, R., and Schmid, E.

- : Biochemical and immunological identification of cytokeratin proteins present in hepatocytes of mammalian liver tissue, *Exp. Cell Res.*, 131 ; 299-318, 1981.
13. Gray, R. H., Bradec, R. K., Byrsk, M. M. and Bernstein, I. A. : Immunocytochemical localization of a protein in tonofilaments as a morphologic marker for epidermal differentiation, *J. Histochem. Cytochem.*, 25 ; 1127-1139, 1977.
 14. Franke, W. W., Appelhans, B., Schmid, E., Freudenstein, C., Osborn, M., and Weber, K. : Identification and characterization of epithelial cells in mammalian tissues by immunofluorescence microscopy using antibodies to prekeratin, *Differentiation*, 15 ; 7-25, 1979.
 15. Franke, W. W., Schmid, E., Freudenstein, C., Appelhans, B., Osborn, M., Weber, K., and Keenan, T. W. : Intermediate-sized filaments of the prekeratin type in myoepithelial cells. *J. Cell Biol.*, 84 ; 633-654, 1980.
 16. Banks-Schlegel, S. P., Schlegel, R., and Pinkus, G. S. : Keratin protein domains with the human epidermis, *Exp. Cell Res.*, 136 ; 465-469, 1981.
 17. Schlegel, R., Banks-Schlegel, S., McLeod, J. A., and Pinkus, G. S. : Immunoperoxidase localization of keratin in human neoplasms, A preliminary survey, *Am. J. Pathol.*, 101 ; 41-50, 1980.
 18. Löning, T., Staquet, M. J., Thivolet, J., and Seifert, G. : Keratin polypeptides distribution in normal and diseased human epidermis and oral mucosa : Immunohistochemical study on unaltered epithelium and inflammatory, premalignant and malignant lesions, *Virchows Arch.(Path. Anat. and Histol.)*, 388 ; 273-288, 1980.
 19. Sieinski, W., Dorsett, B., and Ioachim, H. L. : Identification of prekeratin by immunofluorescence staining in the differential diagnosis of tumors, *Human Pathol.*, 12 ; 452-458, 1981.
 20. Denk, H., Krepler, R., Lackinger, E., Artlieb, U. and Franke, W. W. : Biochemical and immunocytochemical analysis of the intermediate filament cytoskeleton in human hepatocellular carcinomas and in hepatic neoplastic nodules of mice, *Lab. Invest.*, 46 ; 584-596, 1982.
 21. Tuszynski, G. E., Frank, E., Damsky, C., Buck, C., and Warren, L. : The detection of smooth muscle desmin-like protein in BHK 21/C13 fibroblasts, *J. Biol. Chem.*, 254 ; 6138-6143, 1979.
 22. Gard, D. L., Bell, P. B., and Lazarides, E. : Coexistence of desmin and fibroblastic intermediate filament subunit in muscle and nonmuscle cells : Identification and comparative peptide analysis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76 ; 3894-3898, 1979.
 23. Dahr, D. and Bignami, A. : Immunochemical and immunofluorescence studies of the glial fibrillary acidic protein in vertebrates, *Brain Res.*, 61 ; 279-293, 1973.
 24. Schachner, M. W., Hedlyepwhyte, E. T., Hsu, D., Schoonmaker, G., and Bignami, A. : Ultrastructural localization of glial fibrillary acidic protein in mouse cerebellum by immunoperoxidase labeling, *J. Cell Biol.*, 75 ; 67-73, 1977.
 25. Goldman, J. E., Schaumberg, H. H., and Norton, W. T. : Isolation and characterization of glial filaments from human brain, *J. Cell Biol.*, 78 ; 426-440, 1978.
 26. Liem, R. K., Yen, S. H., Salomon, G. D., and Shelanski, M. L. : Intermediate filaments in nervous tissue, *J. Cell Biol.*, 79 ; 637-645, 1978.
 27. 平出経布 : エナメル上皮腫の臨床的ならびに病理学的研究, *日口外誌*, 4 ; 214-218, 1958
 28. 寺崎太郎 : エナメル上皮腫に関する臨床病理学的研究, *阪大歯誌*, 4 ; 1277-1297, 1959.
 29. 柴崎佐平 : 珪瑯上皮腫の臨床的ならびに病理組織的研究, *歯科学報*, 60 ; 978-999, 1960.
 30. Anneroth, G. and Hansen, L. S. : Variations in keratinizing odontogenic cysts and tumors, *Oral surg.*, 54 ; 530-546, 1982.
 31. 北村和男 : 電子顕微鏡によるエナメル上皮腫の研究, 第二編エナメル上皮腫の電子顕微鏡的観察, *阪大歯誌*, 3 ; 25-34, 1958.
 32. Moe, H., Clausen, F. and Philipsen, H. P. : The ultrastructure of simple ameloblastoma, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 2 ; 140-154, 1961.
 33. 松田聡一郎 : エナメル上皮腫の電子顕微鏡的研究, *口病誌*, 34 ; 75-101, 1967.
 34. Sujaku, C., Oo, T., Tokoshima, A., Kopa, T., Matsuo, T. and Kuhara, T. : An electron microscopic observations on the ameloblastoma. *Kurume Med. J.*, 15 ; 127-136, 1968.
 35. Mincer, H. H. and McGinnis, J. P. : Ultrastructure of three histologic variants of the ameloblastoma, *Cancer*, 30 ; 1036-1045, 1972.
 36. 加藤俊雄 : Ameloblastoma における囊胞形成に関する

- る電子顕微鏡の観察, 歯科学報, 73 ; 1701-1752, 1973.
37. 河野信彦, 右田 信: エナメル上皮腫の電子顕微鏡的観察, 日口外誌, 23 ; 8-20, 1977.
 38. Kim, S. K., Nasjleti, C. E. and Weatherbee, L. : Fine structure of cell types in an ameloblastoma, J. Oral Pathol., 8 ; 319-332, 1979.
 39. Matthiessen, M. E., Vedtofte, P., and Romert, P. : Morphology of a simple ameloblastoma related to the human enamel organ, Scand. J. Dent. Res., 88 ; 181-186, 1980.
 40. 永田 睦, 仙波伊知郎, 杉原一正, 堂原義美, 山下佐英: エナメル上皮腫の走査電顕による観察, 日口外誌, 29 ; 200-207, 1983.
 41. Rosai, J. and Pinkus, G. D. : Immunohistochemical demonstration of epithelial differentiation in adamantinoma of the tibia, Am. J. Surg. Pathol., 6 ; 427-434, 1982.
 42. Asa, S. L., Kovacs, K., and Bilbao, J. M. : Immunohistochemical localization of keratin in craniopharyngiomas and squamous cell nests of the human pituitary, Lab. Invest., 44 ; 2A, 1981.
 43. Asa, S. L., Kavacs, K., and Bilbao, J. M. : The pars tuberalis of the human pituitary: A histologic, immunohistochemical, ultrastructural and immunoelectron microscopic analysis, Virchows Arch. (Pathol. Anat.), 399 ; 49-59, 1983.
 44. Sternberger, L. A., Hardy, P. H. Jr., Cuculis, J. J. and Meyer, H. J. : The unlabelled antibody enzyme method of immunohistochemistry ; Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes, J. Histochem. Cytochem., 18 ; 315-333, 1970.
 45. Sun, T. T. and Green, H. : Keratin filaments of cultured human epidermal cells : Formation of intermolecular disulfide bonds during terminal differentiation, J. Biol. Chem., 253 ; 2053-2060, 1978.
 46. Graham, R. C. Jr. and Karnovsky, M. T. : The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney : Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem., 14 ; 291-302, 1966.
 47. Battifora, H., Sun, T. T., Bahu, R. M., and Rao, S. : The use of antikeratin antiserum as a diagnostic tool; Thymoma versus lymphoma, Human Pathol., 11 ; 635-641, 1980.
 48. Miettinen, M., Lehto, V. K., and Virtanen, I. : Nasopharyngeal lymphoepithelioma : Histological diagnosis as aided by immunohistochemical demonstration of keratin, Virchows Arch. (Cell Pathol.), 40 ; 163-169, 1982.
 49. Unni, K. K., Dahlin, D. C., Beabout, J. W., and Ivins, J. C. : Adamantinomas of long bones, Cancer, 34 ; 1796-1805, 1974.
 50. Weiss, S. W. and Dorfman, H. D. : Adamantinoma of long bone : An analysis of nine new cases with emphasis on metastasizing lesions and fibrous dysplasia-like changes, Human Pathol., 8 ; 141-153, 1977.
 51. Llombart-Bosch, A. and Ortuno-Pacheco, G. : Ultrastructural findings supporting the angioblastic nature of the so-called adamantinoma of the tibia, Histopathology, 2 ; 189-200, 1978.
 52. Woodcock-Mitchell, J., Eichner, R., Nelson, W. G. and Sun, T. T. : Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies, J. Cell Biol., 95 ; 580-588, 1982.

Explanation of Figures.

- Fig. 1** Hematoxylin-eosin staining of ameloblastoma. The epithelial cells formed a network of cords which traversed irregularly in the scant or loose connective tissue stroma. Magnification X 45.
- Fig. 2** Immunohistochemistry of keratin in section of same specimen as in fig. 1.
Positivity is obvious throughout the neoplasm. Tumor cells reveal weak to strong staining for keratin. Intervening stromal cells are negative. Magnification X 45.
- Fig. 3** High-power view of tumor cells shown in fig. 1.
The peripheral cells of cords or strands are columnar and surround the spindle or stellate cells in the interior. Magnification X 280.
- Fig. 4** High-power view of tumor cells shown in fig. 2.
Stellate cells in the interior reveal strong staining and columnar cells at the periphery reveal weak to moderate staining for keratin. Magnification X 280.
- Fig. 5** Hematoxylin-eosin staining of ameloblastoma.
The ameloblastoma consisted of anastomosing masses and strands of epithelial cells separated by fibrous connective tissue. The tumor tissues are surrounded by a peripheral layer of columnar or cuboidal cells. The central portions tended to resemble the stellate reticulum of enamel organ. Magnification X 45.
- Fig. 6** Immunohistochemistry of keratin in section of same specimen as in fig. 5.
Positivity is obvious throughout the neoplasm. Tumor cells reveal moderate to strong staining for keratin. Stromal cells are negative for keratin. Magnification X 45.
- Fig. 7** Medium-power view shown in fig. 6. Magnification X 112.
- Fig. 8** High-power view shown in fig. 7.
Stellate cells in the interior are strongly positive for keratin. Magnification X 280.
- Fig. 9** Hematoxylin-eosin staining of the ameloblastoma.
The ameloblastoma consisted of anastomosing masses and strands of epithelial cells, separated by fibrous connective tissue. A portion of epithelium resembled squamous epithelium. The peripheral cells formed a continuous row of columnar cells. The central cells were polyhedral or spindle. Magnification X 45.
- Fig. 10** Immunohistochemistry of keratin in section of same specimen as in fig. 9. Positivity is obvious throughout the neoplasm. Stromal cells are negative. Magnification X 45.
- Fig. 11** Hematoxylin-eosin staining of ameloblastoma. The lesions consisted of fibrous connective tissue, throughout which were scattered islands and strands of epithelial tumor cells.
Note the squamous metaplasia and the hyaline band surrounding the tumor islands. Magnification X 45.
- Fig. 12** Immunohistochemistry of keratin in section of same specimen as fig. 11.
Moderate to strong staining for keratin was seen in the tumor cells. Also keratin was localized at the central part of the tumor island which revealed squamous metaplasia. Counterstain with hematoxylin. Magnification X 45.





