

氏名	なが さわ だい 長 澤 大
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	岩医大院歯博第239号
学位授与の日付	平成20年3月11日
学位論文題目	口腔白板症上皮細胞におけるマイコプラズマ感染 —抗マイコプラズマ・ウサギポリクローナル抗体を用いた蛍光免疫組織化学による検討—

論文内容の要旨

I 研究目的

口腔白板症の病因あるいは発症機転は、未だ解明されていない。以前のDNA特異的蛍光色素(Hoechst 33258)を用いた研究により、白板症の上皮細胞の細胞質に多数の微細な蛍光像が観察され、微生物の存在が示唆された。さらに、その微生物は口腔マイコプラズマであることが推測された。そこで、口腔白板症の病因の解明を目標として、本研究では口腔白板症におけるマイコプラズマの細胞内感染の有無と局在を明らかにする目的で、口腔白板症組織を材料とし、抗マイコプラズマ・ウサギポリクローナル抗体を用いた蛍光免疫組織化学により、白板症上皮層におけるマイコプラズマの感染の有無と状態を観察した。

II 研究方法

1999年1月から2005年12月までの7年間に岩手医科大学歯学部附属病院を受診し、白板症との臨床診断により生検あるいは手術にて切除された組織における病理組織学的検査で、31例の上皮性異形成を伴わないものと19例の上皮性異形成を呈するものと診断されたものを検索に用いた。対照には、粘液嚢胞などの疾患で切除されたもののうち、健常粘膜を含む19例を用いた。材料を厚さ4 μ mに薄切し、CSA IIシステム(Dako)を用いて、免疫組織化学的染色を行った。共焦点レーザー走査顕微鏡LSM510META(Carl Zeiss)を用い、白板症組織標本と対照の健常粘膜標本における陽性反応の有無、局在について観察を行った。陽性反応の程度を蛍光像の数や強さによって、蛍光像が中程度～高度の場合を「++」、軽度の場合を「+」、ごくわずかあるいは全く認められない場合を「-」とした。

III 研究成績

1. 上皮性異形成を伴わない白板症標本の蛍光免疫染色では、31例全例(100%)で上皮の顆粒層から有棘層の細胞に微細な蛍光像が観察された。陽性反応の強度では「++」が24例、「+」が7例であった。
2. 上皮性異形成を呈する標本では、19例中10例(52.6%)で上皮細胞に蛍光像が観察された。軽度異形成では6例中3例(50%)、中等度異形成では8例中3例(37.5%)、高度異形成では5例中4例(80%)が「++」または「+」の陽性反応を示した。また、上皮性異形成の程度に関係なく、陽性所見のみられた10例全てにおいて上皮に角化の亢進が認められた。
3. 健常粘膜標本における免疫組織化学では、上皮細胞に蛍光像がほとんどみられないか、あるいは上皮層の上部に限局して観察される程度であった。また、「+」の陽性反応を示したものが19例中7例(36.8%)あった。

IV 考察及び結論

口腔白板症組織の蛍光免疫染色では、上皮性異形成を伴わない白板症群と健常粘膜上皮群との陽性反応の所見には明らかな違いが認められた。一方、上皮性異形成を呈するものでは、異形成の程度と陽性率に明らかな関連が認められなかったが、異形成の程度にかかわらず、角化の亢進の著しい例では上皮細胞の細胞質に微細な蛍光像が観

察されたのに対し、角化の乏しい例では蛍光像がほとんどみられなかった。これらの結果から、マイコプラズマの感染は口腔粘膜上皮層の角化の亢進と強く関連していることが示された。

また、陽性所見を示した多くの例で、上皮層の顆粒層や有棘層の上部に陽性反応が認められたことから、上皮層内で検出されたマイコプラズマは、口腔に存在するマイコプラズマが上皮の表面から上皮層内に侵入し、さらに上皮細胞内に侵入したものと推測される。

今回の研究結果から、口腔粘膜の多段階発癌の過程において、上皮細胞におけるマイコプラズマの感染は、白板症の発症に深く関わっていることが示唆された。しかし、上皮性異形成ではマイコプラズマの検出率が逆に低下することから、上皮性異形成とマイコプラズマ感染との関連は明らかでなく、両者の関連の有無については、今後さらに検討する必要がある。

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 (口腔外科学第一講座)

副査 教授 武 田 泰 典 (口腔病理学講座)

副査 教授 杉 山 芳 樹 (口腔外科学第二講座)

DNA 特異的蛍光色素 (Hoechst 33258) を用いた研究により、白板症の上皮細胞の細胞質に多数の微細な蛍光像が観察され、微生物の存在が示唆されている。その微生物がマイコプラズマであることが推測されたことから、口腔白板症におけるマイコプラズマの感染の有無を明らかにする目的で、口腔白板症組織を材料として、抗マイコプラズマ・ウサギポリクローナル抗体を用いた蛍光免疫組織化学により、白板症上皮層におけるマイコプラズマの感染の有無とその分布状態を観察した。

材料は、1999年1月～2005年12月の7年間に岩手医科大学歯学部附属病院を受診し、白板症と臨床診断し生検あるいは手術により切除された50例のホルマリン固定パラフィン包埋標本である。その病理組織学的検査で、上皮性異形成を伴わないものが31例、上皮性異形成を呈するものが19例であった。対照には、他の疾患により切除された健常粘膜を含む19例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた。標本を厚さ4 μ mに薄切し、Catalyzed Signal Amplification (CSA) II (Dako社)を用いて蛍光免疫組織化学的染色を行い、共焦点レーザー走査顕微鏡LSM510META (Carl Zeiss社)を用いて白板症と対照の健常粘膜における陽性反応の有無と局在について観察した。

その結果、上皮性異形成を伴わない白板症の31例全例(100%)で、上皮層の顆粒層から有棘層の上皮細胞に微細な蛍光像が観察された。一方、上皮性異形成を呈するものでは、軽度異形成では6例中3例(50%)、中程度異形成では8例中3例(37.5%)、高度異形成では5例中4例(80%)が陽性を示した。また、陽性を示した全例で、上皮の角化の亢進が認められた。健常粘膜では、蛍光像がほとんどみられないか、19例中7例(36.8%)で上皮層の上部に限局して観察される程度であった。

以上の結果から、口腔白板症の角化の亢進の程度とマイコプラズマの感染とに強い関連性が示唆された。一方、上皮性異形成とマイコプラズマの感染には、明確な関連は見出せなかった。

本研究で得られた結果は、口腔白板症の発症原因を解明する糸口となる可能性があり、口腔白板症とマイコプラズマ感染とに着目した研究は今までになく、学位論文に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

本論文の目的、概要について説明がなされ、研究方法、結果に対する考察について試問した結果、適切な解答が得られた。また、今後の研究にも意欲を示すとともに後輩への指導能力も備えていると判定した。