

岩手医科大学 学位審査報告



氏 名 三 條 晃 (昭和48年4月3日生)
 本 籍 地 岩 手 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第191号
 学 位 授 与 の 日 付 平成16年3月15日
 学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学 位 論 文 題 目 カルシウムが破骨細胞に及ぼす影響

論文内容の要旨

I. 研究目的

骨吸収によりカルシウム濃度は、吸収窩では最大40mMになることが知られており、骨芽細胞や破骨細胞はこのような環境下で骨形成・骨吸収に関わっている。しかし、高カルシウム環境下における破骨細胞分化誘導因子 (RANKL) の制御機序や、カルシウムと破骨細胞形成との関連性については不明の点が多い。

本研究では、高カルシウム環境が骨芽細胞の介在による破骨細胞前駆細胞の破骨細胞への分化に及ぼす影響を明確にすることを目的にした。そこで、ヒト骨肉種由来の骨芽細胞様細胞 (SaOS-2) を種々のカルシウム濃度で処理した後、RANKL とカルシウム感知受容体 (CaSR) 遺伝子の発現を検討し、さらに SaOS-2 とヒト前骨髄性白血病細胞 (HL60) との共存培養の手法によって破骨細胞の分化マーカーである酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase: TRAP) mRNA の発現ならびに破骨細胞数について検討を加えた。

II. 研究方法

歯を移動したラットの歯槽骨から切片を作製し、免疫組織化学染色を用いて CaSR を同定した。カルシウムの影響を調べる実験においては骨芽細胞として SaOS-2 を、破骨細胞前駆細胞として HL60 を用いた。はじめに細胞外カルシウム濃度の影響を検討するため SaOS-2 を 1.8mM (対照), 2.5mM, 10mM, 40mM カルシウムで1時間処理した。また細胞内カルシウム濃度の影響を検討するために 0 (対照), 0.1 μ M, 1.0 μ M の ionomycin で3時間処理した。SaOS-2 から総 RNA を抽出し、RT-PCR を行い、RANKL ならびに CaSR の mRNA 発現量を調べた。つぎに破骨細胞の分化に及ぼすカルシウムの影響を調べるために、SaOS-2 を HL60 と共存培養した。なお、HL60 と培養する前に SaOS-2 はホルマリン固定した。共存培養の実験1としてカルシウムで処理した SaOS-2 を HL60 と培養した。実験2として SaOS-2 をあらかじめ活性型ビタミン D3 (VD3) で処理した後にカルシウム存在下で HL60 と培養した。それぞれの HL60 から総 RNA を抽出し、RT-PCR 法により TRAP mRNA 発現量を調べるとともに、出現した破骨細胞数を計測した。

III. 研究成績

1. ラットの歯の移動により圧迫側に破骨細胞が出現することが観察された。また免疫組織学的検索から骨芽細胞と破骨細胞に CaSR の存在が認められた。
2. SaOS-2 における RANKL mRNA の発現量は、カルシウム濃度依存的に減少した。また対照 (1.8mM) において発現が認められた CaSR mRNA は細胞外カルシウム濃度に依存して減少した。
3. RANKL mRNA の発現量は、ionomycin 濃度に依存して上昇した。一方、CaSR mRNA の発現量は 0.1 μ M ionomycin では対照 (0 mM) に比べ増加したが、1.0 μ M ionomycin では対照と同程度であった。
4. カルシウムで処理した SaOS-2 と共存培養をした HL60 において TRAP mRNA の発現量はカルシウム濃度の上昇に伴い減少した。また破骨細胞数も減少した。

5. VD3で処理した SaOS-2 をカルシウム存在下で HL60 と共存培養した結果、10mM カルシウム濃度までは濃度依存的に TRAP mRNA 発現の増加を認めたが、40mM カルシウムでは対照 (1.8mM) の発現量と同程度であった。

IV. 考察および結論

1. 骨芽細胞ならびに破骨細胞に CaSR が観察されたので、両細胞の機能とカルシウム代謝との関連性が推測された。
2. SaOS-2 において、細胞外カルシウムにより RANKL mRNA ならびに CaSR mRNA の発現が変動することから、RANKL の発現に対する調節機構として CaSR がその一端を担っていることが示唆された。
3. SaOS-2 において、細胞内に取り込まれたカルシウムがセカンドメッセンジャーとして RANKL mRNA 発現を増加させることが示唆された。さらに、細胞内カルシウム上昇が CaSR mRNA 発現に影響を与えることが明らかになった。
4. HL60 の破骨細胞への分化の程度はカルシウムに応答して SaOS-2 に発現する RANKL の量に依存することが示された。
5. あらかじめ RANKL を発現させた SaOS-2 と HL60 の共存培養実験から、高濃度の細胞外カルシウムは破骨細胞の TRAP mRNA の発現を抑制することが明らかになった。

以上のことより、1) 骨芽細胞において、高濃度の細胞外カルシウムは細胞膜に存在する CaSR を介して RANKL の発現を抑制する。これにより破骨細胞前駆細胞の破骨細胞への分化を抑制する。2) 破骨細胞において、骨吸収の亢進した局所において骨から遊離されたカルシウム濃度が高くなることによって破骨細胞の機能を抑制する。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 三 浦 廣 行 (歯科矯正学講座)

副査 教授 佐 藤 詔 子 (口腔生化学講座)

副査 教授 名 和 橙黄雄 (口腔解剖学第二講座)

歯の移動時、骨吸収によってカルシウム濃度は、吸収窩において最大40mM に成ることが知られている。このような環境で骨芽細胞や破骨細胞は、骨形成と骨吸収に関わっている。本研究は、高カルシウム環境が骨芽細胞に及ぼす影響と骨芽細胞を介して破骨細胞前駆細胞の破骨細胞分化に及ぼす影響について検討したものである。

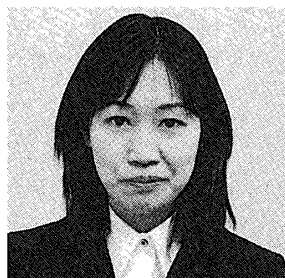
ラットの歯の移動により圧迫側に破骨細胞の出現が観察され、骨芽細胞と破骨細胞には、カルシウム感受容体 (CaSR) の存在が認められた。骨芽細胞 (SaOS-2) における破骨細胞分化因子 (RANKL) と CaSR の mRNA は、細胞外カルシウム濃度に依存して減少した。細胞内カルシウム濃度もまた RANKL と CaSR の mRNA 発現に影響を与えることが明らかになった。SaOS-2 とヒト前骨髄性白血病細胞 (HL60) の共存培養法を用いてカルシウムの影響を調べた。はじめに SaOS-2 をカルシウム処理したところ、HL60において tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) mRNA の発現量と破骨細胞数は、カルシウム濃度の上昇に伴い減少した。次に HL60へのカルシウムの影響を調べた結果、高カルシウム環境は破骨細胞への分化を抑制することが明らかになった。

これらの結果、骨芽細胞において、高濃度の細胞外カルシウムは細胞膜に存在する CaSR を介して RANKL の発現を抑制し、これにより破骨細胞前駆細胞の破骨細胞への分化を抑制するものと考えられた。また破骨細胞において、骨吸収の亢進した局所において骨から遊離されたカルシウム濃度が高くなることによって破骨細胞の機能を抑制することが示唆された。

これらの知見は、カルシウムと骨吸収との関連性を明らかにし、今後の骨代謝関連における基礎の一端になると考えられた。よって学位に値する研究であると判定した。

試験・試問の結果の要旨

本研究の目的、論文の内容について説明がなされ、方法、結果に対する考察について試問を行ったところ、適切かつ十分な解答が得られ、学位に値する知識と研究能力を十分に備えていることを認めた。



氏 名 岩 瀨 有紀子 (昭和50年10月7日生)
 本 籍 地 岩 手 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第192号
 学 位 授 与 の 日 付 平成16年3月25日
 学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学 位 論 文 題 目 カエル舌咽神経の Na 塩応答: Ni^{2+} によって増強された Na 塩応答における陰イオンの役割

論文内容の要旨

I. 研究目的

NaCl の味は独特で, Na 塩の中で最も強い塩味を呈する。Na 塩の陰イオンを変えても味の質は大きく変わらないので Na 塩の味覚は Na^+ に起因する。しかしながら, Na^+ の興奮効果に対する陰イオンの修飾作用のメカニズムはまだよく分かっていない。

これまでにラット鼓索神経の Na 塩応答の実験から, Na 塩受容のモデルが提唱されてきた。即ち, Na^+ 応答を引き起こす Na^+ 受容サイトは味細胞の先端受容膜および基底外側膜に存在する。NaCl 味刺激では Na^+ と Cl^- は小さい分子なので味細胞間の tight junction を通過でき, 従って Na^+ は先端受容膜および基底外側膜に作用できる。しかし, Na gluconate (NaGlu) 刺激では gluconate⁻ (Glu^-) のような大きな陰イオンは tight junction を通過できず, Na^+ は陰イオンの Glu^- に引かれ, 基底外側膜に達することができず先端受容膜にのみ作用する。このようなモデルにより同じ Na 塩でも NaCl の応答は大きく, 大きな陰イオンの Na 塩応答は小さいことが説明されている。

カエル舌咽神経は舌全体を支配しており, 塩味刺激に応答する。本研究はカエル舌咽神経の Na^+ 応答に対する陰イオンの修飾はラットとは全く異なる Na^+ 受容モデルによって説明されることを示す。

II. 研究方法

ウレタン麻酔下のウシガエル (*Rana catesbeiana*) を使用した。舌表面に Na 塩溶液を流し, 舌咽神経束から応答を記録した。舌表面を 0.05M NaCl で順応させた後, 刺激液を30秒間流した。応答の大きさは 0.5M NaCl 応答の大きさに対する相対値で表した。

カエル舌咽神経の NaCl 応答は微量の $NiCl_2$ により増強され, NaCl の閾値が減少することが報告されている。 $NiCl_2$ による Na 塩の閾値の減少は使用する Na 塩の濃度範囲を広げることになるので, 主な実験は $NiCl_2$ の効果が最も大きい 1 mM $NiCl_2$ 存在下で行った。

III. 研究成績

1. カエル舌咽神経は 0.1M 以上の Na 塩に応答する。Na 塩の興奮効果の順序は $NaCl > Na_2SO_4 > NaGlu$ であった。
2. 1 mM $NiCl_2$ 存在下では NaCl 応答が顕著に増強され, NaCl の閾値は 0.02M にまで減少した。1 mM $NiCl_2$ 存在下で興奮効果の順序は $NaCl >> Na_2SO_4 > NaGlu$ となった。
3. 1 mM $NiCl_2$ 存在下で NaCl とほかの Na 塩の混合液の実験から, 次の結果を得た。NaGlu は 0.1M NaCl 応答を濃度依存的に抑制し, 0.1M NaGlu は 0.1M NaCl 応答を約 85% 抑制した。0.1M NaGlu は 0.1–0.3M NaCl を有意に抑制したが, NaCl が 0.3M より高くなると抑制の程度は減少した。一方, 0.1M NaCl 応答は 0.025–0.25 M Na_2SO_4 によって影響されず, 高濃度の 0.25M Na_2SO_4 は 0.1–0.5M NaCl 応答に影響を与えなかった。このように Na_2SO_4 と NaCl の混合液の応答の大きさは Na^+ や SO_4^{2-} 濃度によって決定されず, Cl^- によって

決定された。

IV. 考察及び結論

本実験結果は tight junction を通過できない大きな Glu^- によって NaCl 応答が抑制されたことから、 Na^+ 受容サイト (Na^+ チャネルまたは Na^+ 受容体) は基底外側膜には存在せず、先端受容膜に存在することが示唆された。従って、 Na^+ の興奮効果に対する陰イオンの修飾作用はラットの Na^+ 受容モデルで示されたような味細胞間の tight junction における陰イオンの透過性では説明できない。

本実験から Na_2SO_4 は NaCl 応答に影響を与えず、 Na_2SO_4 応答は濃度が高くとも応答の大きさは小さいので、 Na^+ 自身の興奮効果は小さいことが推察された。そこで、NaCl 応答が Na_2SO_4 応答より大きいのは Cl^- の修飾作用による。即ち、 Cl^- が膜に存在する陰イオン結合体に結合し、 Na^+ と Na^+ 受容サイトの複合体に二次的に影響を与え、 Na^+ の興奮効果を大きくしたものと思われる。一方、 Glu^- は陰イオン結合体に対して Cl^- と競合拮抗し NaCl 応答を抑制する。しかし、NaCl の濃度が高くなると Cl^- が陰イオン結合体に結合した Glu^- にとって代わるので Glu^- の抑制効果は減少し、NaCl 応答が現れる。また、 SO_4^{2-} は陰イオン結合体に親和性が低いことが考えられ、 Na_2SO_4 と NaCl の混合液の応答の大きさは Cl^- の濃度によって決定される。 Ni^{2+} は Ni^{2+} に結合する膜要素を介して陰イオン結合体および Na^+ 受容サイトに作用し、 Na^+ の興奮効果および Na^+ の Na^+ 受容サイトに対する親和性を高める。

以上のモデルにより実験結果はうまく説明される。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 北 田 泰 之 (口腔生理学講座)

副査 教授 名 和 橙黄雄 (口腔解剖学第二講座)

副査 教授 久保田 稔 (歯科保存学第一講座)

Na 塩の中で NaCl が最も強い塩味を呈する。しかし、なぜ Na^+ と Cl^- の組み合わせが最も強い塩味になるのかよく分かっていない。ラットの鼓索神経の Na 塩応答の実験から Na^+ 受容サイトは味細胞の先端受容膜と基底外側膜の両方に存在することが推察された。従って、味細胞間のタイトジャンクションを通過できる小さい陰イオンの Cl^- をもつ NaCl 応答の大きさは通過できない大きな陰イオンをもつ Na 塩応答のそれより大きくなる。しかし、本研究はカエル舌咽神経の Na 塩受容はラット鼓索神経 Na 塩受容とは異なることを示した。即ち、タイトジャンクションを通過できない大きな陰イオンの gluconate⁻ が NaCl 応答を強く抑制したことから、カエル味細胞では Na^+ 受容サイトは先端受容膜に存在し、基底外側膜には存在しないことが明らかになった。さらに Na_2SO_4 応答の大きさは NaCl 応答のそれより小さく、Na 塩の混合実験から SO_4^{2-} は Na^+ 応答に影響を与えないことを見出した。この実験結果は Na^+ それ自体の興奮効果が小さいことを意味する。従って、 Na^+ と Cl^- の組み合わせが大きな興奮効果を持つのは Cl^- が二次的に Na^+ 受容サイトに作用し、NaCl 応答を大きくすることが考えられた。

本研究は実験事実に基づき、 Na^+ と Cl^- の組み合わせが最も強い塩味となるメカニズムを論理的に説明した。本研究はカエルの味覚においては Na^+ 受容メカニズムはラットのそれとは異なることを明らかにし、味覚生理に新しい知見をもたらした。本論文は学位論文に十分に値するものと評価した。

試験・試問の結果の要旨

味覚生理学、生理学一般について試問を行ったところ、満足すべき解答が得られた。また、今後の研究に対する姿勢も明確であることから学位授与に値する十分な学識と研究指導力を備えているものと認めた。



氏名 大内 まりえ (昭和48年11月28日)
本籍地 東京都
学位の種類 博士 (歯学)
学位授与番号 岩医大院歯博第193号
学位授与の日付 平成16年3月25日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
学位論文題目 圧迫側歯根膜の血流変化について

論文内容の要旨

I. 研究目的

歯を移動する際には、歯根膜への適切な圧迫力 (矯正力) が必要である。適切な圧迫力を得るためには、圧迫側歯根膜の血流変化や血管網の形態変化を理解することが重要である。しかし、形態学的変化が生じた歯根膜血管網における長期的な血流変化に関する報告はみられない。本研究では、レーザースペックル信号と心拍信号の cross-correlation coefficient に基づき動脈性と静脈性血管に区分して測定が可能な組織血流解析装置を用いて、イヌの下顎犬歯における圧迫側歯根膜の経日的な血流変化を検討することを目的とした。

II. 研究方法

実験動物は体重が9~12kgの雄性雑成犬5匹を用い、静脈内全身麻酔を施した後、下顎犬歯の歯冠を歯肉縁から約1mmの高さで切除した。引き続きエックス線写真を併用しながら抜髄、根管充填を行い、歯髄側から近心歯根膜へ向かう残存歯質が約0.5mmとなる窩洞を形成した。レーザー光入射及び受光用のプローブを、個々の動物ごとに規格化した位置に固定するためにレジンキャップを装着した。そのキャップにプローブを固定して血流を測定し、心拍は舌深動脈からパルスオキシメーターにて測定した。非圧迫時歯根膜血流の測定を行った2匹のイヌについて、下顎右側犬歯の歯根膜で血管構築を検討するために血管の三次元再構築像を作製した。3匹のイヌの下顎右側犬歯は、圧迫側歯根膜の血流測定を行うために近心方向へ牽引した。反対側の犬歯と前歯部全体を固定させ、エラストメトリック・スレッドを用いて200gの力を作用させた。血流測定は非圧迫時、圧迫直後、1、3、7、14日にそれぞれ行った。

III. 研究成績

1. 組織血流解析装置では歯根膜における動脈性と静脈性血管の血流量の変化を捉えることができた。
2. 圧迫直後には歯根膜の血流量の減少がみられた。
3. 圧迫後1日目には血流量の増加がみられ、とくに動脈性血管において著しい増加がみられた。
4. 圧迫後3日目以降には動脈性と静脈性血管の血流量がともに非圧迫時の値へ回復する傾向がみられた。

IV. 考察および結論

本研究で用いた組織血流解析装置は歯根膜にも十分応用できるものであり、測定結果を動脈性と静脈性血管に区分し、それぞれの血流量を長期にわたり経日的に比較検討できることが示唆された。歯の移動時、1日目では血管は圧迫を受けるのにもかかわらず血流量は増加傾向を示し、血管の面からも圧迫部位による組織代謝の促進が推測された。すなわち、圧迫による影響は動脈性血管では血液速度や血流量の増加として表れ、その増加した血流量を受け取る静脈性血管では既存血管の拡張および血管新生といった形で表れると推測できる。これらの観点から血管動態の観察は機能と形態の両面から経日的に行う必要があると考えられる。また本研究から、矯正治療における歯の移動において、初期荷重の適否がその後の組織反応に影響を与えることが推察でき、臨床的意義も大きいものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 三 浦 廣 行 (歯科矯正学講座)

副査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

副査 教授 名 和 橙黄雄 (口腔解剖学第二講座)

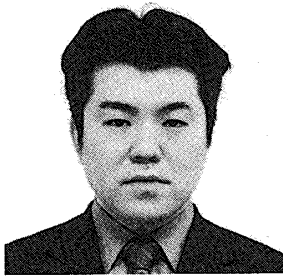
歯を移動させる際の歯根膜への適切な圧迫力を得るためには、圧迫側歯根膜の血流変化や血管網の形態変化を理解する必要があるが、形態学的な変化が生じた歯根膜血管網における長期的な血流変化に関する報告はみられない。本研究は圧迫側歯根膜を動脈性と静脈性血管に区分して測定できる組織血流解析装置を用いて、歯の移動時の経日的な血流変化について研究した報告である。

歯根膜の圧迫直後では動脈性血管に比べて静脈性血管の減少がみられたが、圧迫後1日目には血流量が増加し、とくに動脈性血管では著しい増加がみられた。圧迫後3日目以降では動脈性と静脈性血管がともに非圧迫時の値へ回復する傾向がみられた。圧迫後1日目の所見では圧迫による影響から動脈性血管では血液速度がさらに速くなり、血流量が増加したことで既存の血管から新生血管が生じる環境を成立させたことが示唆された。

本研究は、圧迫側歯根膜の血流変化を初めて長期的に測定した研究であり、圧迫後1日目に血流量が増加したという新たな知見を示したものである。矯正治療における歯の移動において、初期荷重の適否がその後の組織反応に影響を与えると推測されていたことに対して実証したことは、臨床的意義も大きいものと考えられたことから学位論文に十分値するものと評価した。

試験・試問の結果の要旨

本研究の臨床的意義、論文の内容および基礎となる解剖学、組織学的知識について試問したところ、適切かつ十分な解答が得られ、学位に値する知識と研究能力を有するものと認めた。



氏 名 小林 琢 也 (昭和49年8月3日生)
 本 籍 地 岩 手 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第194号
 学 位 授 与 の 日 付 平成16年3月25日
 学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学 位 論 文 題 目 実験的咬合干渉が c-fos mRNA 発現に及ぼすラット脳内ストレス
 応答の経日変化

論文内容の要旨

I. 研究目的

従来, 咀嚼系の末梢フィードバック機構に関する研究は極めて多いが, 口腔感覚の変化による求心性情報が脳機能に及ぼす影響については, なお十分明らかではない。近年, 口腔領域からの感覚情報の入力 that 脳機能に及ぼす影響に関心が高まる中で, 我々の教室では, 歯の喪失や咬合障害感が脳血流, 脳内伝達物質, 3 T f-MRI, 脳波などに影響を及ぼすことを報告してきた。著者らは, 咬合の障害はストレスとして脳内応答を示すという仮説のもと, ストレス実験モデルとの比較から, ラットに実験的に付与した咬合干渉はストレス応答として脳内で認知されることを明らかにしてきた。しかし, 経日変化については不明であったことから, 本研究では, 脳内の観察に神経興奮伝達経路の指標として用いられる c-fos mRNA 発現と生体のストレス応答の指標として用いられる血中コルチコステロン濃度を指標として, 実験的咬合干渉が及ぼす身体的ならびに情動的ストレス応答の経日的な観察を行った。

II. 研究方法

実験には生後11週齢の雄性 Wistar ラットを72匹用いた。実験群および実験条件は, 各36匹からなる干渉群および対照群である。干渉は, 直径1.0mmのビーズを上顎右側第一臼歯近心小窩に合着し, 観察期間中終始装着した。対照群は無刺激状態の飼育ケージ内で通常飼育を行った。観察期日は1, 2, 5, 7, 9, 14日目とした。脳内ストレス応答の観察には Microprobe システムを用いた in situ hybridization 法にて, ストレスに関与するとされる扁桃核, 梨状葉皮質, 海馬, 帯状回皮質 (入力系4部位) と視床下部室傍核, 青斑核, 大縫線核, 中心灰白質 (出力系4部位) の8部位で c-fos mRNA 陽性細胞数を計測した。身体的ストレス応答の観察には, 内分泌系のストレス応答の指標である血中コルチコステロン濃度を, 各群同時時間帯において腹大動脈から採血し分析を行った。

III. 研究成績

脳内8部位の c-fos mRNA 陽性細胞発現の経日的変化は, 群間および観察期日の主変動因子に有意性 (いずれも $P < 0.001$) を認め, 群と観察期日の交互作用効果には有意性を認めなかった。多重比較検定結果から, 観察8部位のすべてで干渉群が対照群より有意に c-fos mRNA の発現が多かった。経日的には入力系の扁桃核, 出力系の視床下部室傍核, 青斑核, 大縫線核で有意性 ($P < 0.001$) を認め, 干渉群の入力系では観察期日を通じて横ばい状態であるのに対し, 出力系では5日目以降著明に減少した。血中コルチコステロン濃度は群間に有意性 ($P < 0.001$) を認め, 干渉群で有意 ($P < 0.001$) に高かった。また, 群間と観察期日による交互作用効果にも有意性 ($P < 0.001$) を認め, 対照群では経日的にまったく変化しなかったのに対し, 干渉群では暫時減少し, 1日目に対し7日目以降で有意差 ($P < 0.001$) を認め, 対照群との差も消失した。

IV. 考察及び結論

歯科臨床において, 不定愁訴, 歯科心身症, 顎関節症などはストレスの関与が疑われるが, これらの病因は患者

の精神心理的背景によると考えられ、咬合因子との関連は質の高いエビデンスに欠けるとして軽視されている。しかし、本研究においては、実験的咬合干渉の付与によって、脳内応答と生体応答とが密接に関連したストレス応答を示し、入力系部位ではストレス刺激に対して経日的に適応反応を示すことなく、一定レベルのストレス応答が残存し、出力系部位でもストレス応答の消失を認めることはなかった。これらの結果から、本実験で用いた実験的咬合干渉は上位中枢と密接な関連を示し、ストレスとして認知応答してい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 北 田 泰 之（口腔生理学講座）

副査 教授 石 橋 寛 二（歯科補綴学第二講座）

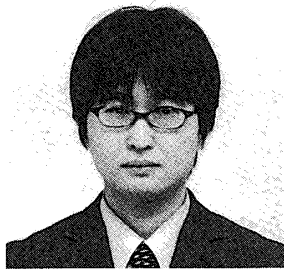
副査 教授 野 坂 洋一郎（口腔解剖学第一講座）

咬合異常がストレッサーとなり脳神経系にストレス応答が生じる可能性があるが、咬合異常中に脳のどの部位で神経活動が変動するか詳細は分かっていない。本研究はラットに実験的咬合干渉装置を2週間に亘り付与し、干渉装置付与による脳内神経活動の影響を調べたものである。脳内神経活動の増加の指標として *in situ hybridization* 法で検出した *c-fos* mRNA 陽性細胞数を測定した。*c-fos* mRNA 陽性細胞の脳内測定部位を情動関連の脳部位である入力系4部位（扁桃体、梨状葉皮質、海馬、帯状回皮質）と出力系4部位（視床下部室傍核、青斑核、大縫線核、中心灰白質）に分けて分析を行った。併せて全身のストレス応答のマーカーとして用いられてきた血中のコルチコステロン濃度を測定した。その結果、干渉装着直後から *c-fos* mRNA 陽性細胞数は入力系4部位において対照群に比べ増加し、干渉装着中もそのまま持続した。一方、出力系4部位は対照群に比べ *c-fos* mRNA 陽性細胞数は干渉装着直後には増加するが次第に減少した。血清コルチコステロン濃度は干渉装着直後には急激に増加したが日が経つと対照群のレベルにまで減少した。これらの結果から、実験的咬合干渉は明らかなストレッサーとなること、干渉装着中に脳内入力系の部位でのストレス応答は高いまま持続し経日的に消失しないこと、脳内出力系のストレス応答には慣れが生じることが明らかになった。

咬合干渉と生体のストレス応答の関係を脳内各部位で *c-fos* mRNA 陽性細胞数および血清コルチコステロン濃度測定から解析した本研究は咬合研究の方法論として新規性が高く、咬合異常を理解する上で極めて有用性の高い論文であると考えられる。よって学位論文に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

脳とストレス、ストレスと生体応答、歯科補綴学との関連について試問を行った結果、満足すべき解答が得られた。また、今後の研究に対する姿勢も明確であることから、学位授与に値する十分な学識と研究指導能力を有するものと認めた。



氏 名 豊 田 康 夫 (昭和50年10月15日)
 本 籍 地 群 馬 県
 学 位 の 種 類 博 士 (歯 学)
 学 位 授 与 番 号 岩 医 大 院 歯 博 第 195 号
 学 位 授 与 の 日 付 平 成 16 年 3 月 25 日
 学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 者 (博 士 課 程 修 了 者)
 学 位 論 文 題 目 実 験 的 咬 合 干 渉 付 与 に よ る 情 動 反 応 の 脳 電 位 分 布 と dipole の 推 定

論文内容の要旨

I. 研究目的

教室の筋電図, 脳波学的系統研究によって, 実験的咬合干渉による不快感を検出できることは明らかにできたが, これらは末梢や頭皮上の脳電位の報告であり, 脳内における賦活部位や局在との関連が今後の課題として残されていた。そこで, 実験的咬合干渉により惹起される求心性情報が脳機能におよぼす影響を明らかにすることを目的とし, 脳電位の発生源を3層実形状モデルによる dipole 推定法を用いて, 脳内の賦活部位や局在について検討した。

II. 研究方法

本研究の主旨を説明し同意の得られた, 健常者7名(平均26.8歳)を被検者とした。実験的咬合干渉は, 100 μ m過高となる歯科用金銀パラジウム合金製のリングを下顎右, または左側の第二大臼歯に接着した。観察期日は, 干渉装着前(コントロール), 同装着直後, 同2日後, 同除去後として除去後1週間以降の3日間, 計4回とした。被検者の主観的な感覚はVAS(Visual Analogue Scale)により評価し, 咀嚼筋活動への影響は咬筋および側頭筋後部の筋電図により評価した。脳波及び筋電図は, シールドルームにて被検者を閉眼で直立座位とし, 記録開始後約60秒後に, 5秒間の噛みしめを指示し, これを30秒間隔で4回繰り返す, 4回目の終了後さらに60秒以上記録した。筋電図は, 5秒間の噛みしめの中央3秒間を計測し, 単位時間あたりの積分値(以下, 平均電位)を求め, 4筋平均値を代表値とした。脳波は, ATAMAP2を用いて, δ , θ , α , β の4帯域に区分し, 各帯域ごとの総パワー値に占める比率(以下, 含有率)を算出した。分析区間は, 噛みしめ開始前と4回目終了後の筋電位の混入のない5.12秒間とした。dipoleの推定にはSynapointProを用い, 分析区間は脳波と同じ噛みしめの開始直前および噛みしめ後の300msecとした。3層実形状モデルを用いてdipoleの推定を行い, 1時刻ポイントに対して同時に1個のdipoleを推定し, 有意な推定条件としてGoodness of Fit(GOF)が91%以上とし, dipoleの集積度をMRIに重ね合わせた。

III. 研究成績

1. 感覚的評価は, 干渉装着によって不快感, 過高感, 咬頭嵌合位の不安定性が有意($p < 0.001$)に増大し, 除去により回復した。
2. 咬筋及び側頭筋後部の平均電位は, 干渉装着によって有意($p < 0.001$)に減少し, 除去により回復した。
3. 脳波含有率は, 干渉装着によって, % α は有意($p < 0.001$)に減少, % β は有意($p < 0.001$)に増加し, 除去により回復した。
4. dipole推定法により, すべての被検者で電位発生源が推定できた。実験期間を通して側頭部, 前頭部, 後頭部では, dipole推定源の集積を認めたのに対し, 干渉装着直後, 同2日後では, 扁桃体, 海馬, 視床, 島, 帯状回付近にその発生源が集積し, 特に扁桃体では, 干渉除去により干渉装着中に推定されたdipole推定源の集積が消失した。

IV. 考察及び結論

実験的咬合干渉の装着は、感覚的評価、咀嚼筋電図、脳波に影響を与え、dipole 推定法により干渉装着と関連する脳内賦活部位を推定でき、これらの変化は干渉除去によりコントロールレベルに回復した。本実験で干渉装着に関連した賦活部位は、fMRI で不快情動により両側の扁桃体や島皮質などに脳血流量の増加を認めたとの William らの報告や、ラットにおいて実験的咬合干渉とストレスとの密接な関係を認めたとする小林らの報告とよく一致し、本研究で用いた実験的咬合干渉は不快情動として上位中枢に影響を及ぼしていた可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 北 田 泰 之 (口腔生理学講座)

副査 教授 石 橋 寛 二 (歯科補綴学第二講座)

副査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

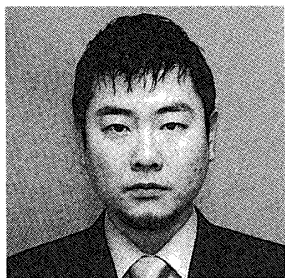
従来より咀嚼の神経調節機構に関する研究は多い。一方、ヒトにおいて咬合由来の求心性情報が高次脳機能に及ぼす影響、特にその脳内における局在についての研究は少ないのが現状である。

本研究は実験的咬合干渉により惹起される求心性情報が脳機能におよぼす影響を明らかにすることを目的とし、実験的咬合干渉時の感覚的評価、咀嚼筋電図および脳波分析を行った。また、脳電位の発生源を3層実形状モデルによる dipole 推定法を用いて、脳内の賦活部位や局在について検討した。その結果、実験的咬合干渉が不快情動として上位中枢に影響を及ぼし、dipole 推定法により推定した脳内賦活部位は咬合干渉時に扁桃体、海馬、視床、島、帯状回付近であることが分かった。これらの dipole 推定源の中、干渉除去直後で扁桃体の dipole は消失したが他の脳内賦活部位は消失しなかった。

本研究は、実験的咬合干渉が不快情動として上位中枢に影響を及ぼすこと、そしてその顎口腔系の障害感によって賦活される高次中枢の部位を明らかにした。咬合異常を理解する上で有用性の高い論文であると考えられ、学位論文に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

実験的咬合干渉と脳波、咀嚼筋活動、情動変化と生理学的知見ならびに脳生理、歯科補綴学との関連について試問を行った結果、満足すべき解答を得られた。また、今後の研究に対する姿勢も明確であることから、学位授与に値する十分な学識と研究指導能力を有するものと認めた。



氏 名 福 田 大 介 (昭和48年7月5日)
 本 籍 地 岩 手 県
 学 位 の 種 類 博 士 (歯 学)
 学 位 授 与 番 号 岩 医 大 院 歯 博 第 196 号
 学 位 授 与 の 日 付 平 成 16 年 3 月 25 日
 学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 者 (博 士 課 程 修 了 者)
 学 位 論 文 題 目 ラ ッ ト の 延 髄 後 角 の 侵 害 受 容 細 胞 に 対 す る 内 包 条 件 刺 激 の 抑 制 効 果

論文内容の要旨

I. 研究目的

モルヒネが効果を示さない神経因性疼痛や癌性疼痛の除痛法の一つとして内包の電気刺激が用いられているが、その神経生理学的機序については明らかではない。Okadaら(2002)は間脳の後腹内側核(VPM)、後核群、不確帯で記録された侵害受容細胞が内包の条件刺激によって抑制されることを報告した。しかし、内包による痛覚抑制が間脳へ至るどのレベルで起こるのかは不明である。そこで本研究は三叉神経系からの侵害性情報を受け、そして間脳に中継する延髄後角の二次ニューロンレベルにおいて内包条件刺激による抑制が観察されるかどうかを調査した。

II. 研究方法

実験には Sprague-Dawley 雄性ラット(体重250~400g) 68匹を用いた。笑気と酸素の混合ガス(2:1)および0.5%ハロタンで麻酔し、臭化パンクロニウムで不動化したラットの延髄後角の三叉神経脊髄路核尾側核とその内側の網様垂核の領域に微小電極を刺入し、口腔顔面領域への侵害刺激に応じる侵害受容細胞の活動を記録した。これら細胞の末梢受容野に電気刺激(試験刺激)を与え、その応答が50msec前に与えた内包条件刺激により変化するかを観察した。内包の条件刺激として同心円電極を通じ、持続時間0.5msecで強さ100-300 μ Aの矩形波、頻度330Hz刺激を100msecの間与えた。実験終了後、記録部位および条件刺激部位をマーキングし組織学的検索を行った。

III. 研究成績

1. 34個の侵害受容細胞が延髄後角で記録され、そのうち31個は触刺激から侵害刺激に至る種々の刺激強度に比例して段階的に応じる広作動域(WDR)細胞、3個が侵害刺激にのみ応じる特異的侵害受容(NS)細胞であった。
2. WDR細胞は尾側核辺縁層と網様垂核背側部に分布し、NS細胞は尾側核辺縁層にのみ分布していることが確認された。
3. 34個の侵害受容細胞のうち18個(16個のWDR細胞と2個のNS細胞)の応答が内包の条件刺激により抑制された。その抑制はコントロール応答の $79.8 \pm 23.3\%$ に達し、その抑制効果はWDR細胞およびNS細胞のどちらも条件-試験刺激間隔(C-T間隔)が500-700msecまで持続した。
4. 抑制効果が確認された内包の条件刺激部位は大脳皮質体性感覚野や運動野から脊髄や延髄への下行路に相当する外側部に集中していた。
5. 内包条件刺激による抑制効果は、オピオイド拮抗薬であるナロキソンの静注(1mg/kg)によって影響を受けないことが観察された。

IV. 考察及び結論

内包の条件刺激によって三叉神経系からの痛覚情報の上行が二次ニューロンレベルで抑制されることが電気生理学的に確認された。今回の実験結果は、二種の侵害受容細胞の半数以上が内包の条件刺激により同程度に抑制されることを示した。しかもその抑制は C-T 間隔が 500-700 msec まで観察されたことから、内包の条件刺激による抑制効果にシナプス前抑制 (presynaptic inhibition) が関与していることが示唆された。また、抑制効果が観察された内包の刺激部位は大脳皮質から脊髄や延髄への下行路に相当する外側部に集中しており、その内包刺激による抑制効果はオピオイド拮抗薬であるナロキソンの静注によって影響を受けないことが観察された。以上の知見は、内包条件刺激による痛覚抑制は延髄後角の二次ニューロンレベルで起こり、その抑制は大脳皮質からの下行性線維を介して、オピオイドが関わらない系を通して行われることを示唆する。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 三 浦 廣 行 (歯科矯正学講座)

副査 教授 北 田 泰 之 (口腔生理学講座)

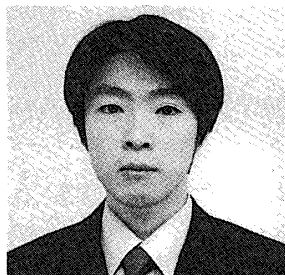
副査 教授 加 藤 裕 久 (歯科薬理学講座)

モルヒネが効果を示さない神経因性疼痛や癌性疼痛の除痛法の一つとして内包の条件刺激が用いられているが、その神経生理学的機序については明らかではない。近年間脳で記録される侵害受容細胞が内包の条件刺激によって抑制されることが報告された。しかし、内包刺激によって痛覚情報の間脳への上行がどのレベルで抑制されるのかは調べられてない。そこで本研究は三叉神経系から痛覚情報を受け、そしてそれを間脳に中継する延髄後角の二次ニューロンレベルにおいて内包条件刺激による抑制が観察されるかどうかを調査したものである。

延髄後角で記録された侵害受容細胞を、触刺激から侵害刺激に至る広い刺激範囲に段階的に応じる広作動域 (WDR) 細胞と侵害刺激にのみ応じる特異的侵害受容 (NS) 細胞に分類した。これら二種の細胞の応答は同側内包の条件刺激によりコントロール応答の 20% まで抑制されることを確認した。また、この抑制効果は条件-試験刺激間隔 (C-T 間隔) が 500-700 msec まで持続することから、内包刺激による痛覚抑制にシナプス前抑制が関与していることが示唆された。さらに、抑制効果が確認された内包の条件刺激部位は大脳皮質体性感覚野や運動野から脊髄や延髄への下行路に相当する外側部に集中していることを組織学的に明らかにした。また内包条件刺激による抑制効果は、オピオイド拮抗薬であるナロキソンの静注 (1 mg/kg) によって影響を受けないことを観察した。これらの知見から、内包条件刺激による痛覚抑制は延髄後角の二次ニューロンレベルで起こり、その抑制は大脳皮質からの下行性線維を介して、オピオイドが関わらない系を通して行われることが推察された。本研究結果は内包刺激による鎮痛効果の神経生理学的基礎の一部を成すと考えられ、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、結果に対する考察ならびに基礎となる生理学的知識について試問した結果、適切な解答が得られた。これらの点から学位に値する十分な学識と研究能力を備えていると認められた。



氏 名 堤 陽 一 (昭和51年3月4日)
本 籍 地 埼 玉 県
学 位 の 種 類 博士 (歯学)
学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第197号
学 位 授 与 の 日 付 平成16年3月25日
学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
学 位 論 文 題 目 マウス扁平上皮癌の増殖に対する iNOS 阻害薬の影響

論文内容の要旨

I. 研究目的

一酸化窒素 (NO) は、多彩な生理機能をもつ生理活性物質であるが、一方で多くの疾病の発症ならびに進展に深く関わっている。生体内での NO 生成は NO 合成酵素 (NOS) が担っており、活性がカルシウムシグナルによって制御される神経型 NOS (nNOS)、血管内皮型 NOS (eNOS) は生理機能の維持に必要な少量の NO を産生するのに対し、病的刺激によって誘導される誘導型 NOS (iNOS) は持続的に大量の NO を産生し、様々な生体障害作用を示すと考えられている。近年、ヒト癌組織で、iNOS が発現している例が数多く報告されている。iNOS によって過剰に産生された NO は、血管の拡張、透過性を促進して癌細胞への栄養、酸素の補給を容易にする。また、NO は腫瘍の血管新生にも関与しており、ヒト腫瘍細胞で血管内皮増殖因子 (VEGF) の発現を高めているという報告がある。iNOS は正常組織では発現していないため、3種の NOS アイソザイムのうち腫瘍に発現した iNOS を選択的に阻害すれば正常組織への影響が少なく癌の増殖を抑制できる可能性が期待される。しかし、これまで NOS 阻害薬を用いた研究は非特異的 NOS 阻害薬を用いたものが多く、in vivo において腫瘍に対する選択的 iNOS 阻害薬の影響について検討したものは極めて少ない。そこで本研究では近交系 WHT/Ht マウスに自然発生した移植可能な扁平上皮癌の増殖と血管新生および腫瘍中の VEGF に対する選択的 iNOS 阻害薬の影響について検討した。

II. 研究方法

実験動物は、近交系 WHT/Ht マウスの雌、8~12週齢 (体重24~26g) を1群あたり5匹として使用した。腫瘍は、同マウスに自然発生し胸部皮下に継代移植している扁平上皮癌細胞を PBS で 1×10^6 個 / 0.1ml に調製して使用した。選択的 iNOS 阻害薬として iNOS に対して最も特異性が高いとされる1400W を使用した。濃度は第1群は10mg/kg、第2群は20mg/kgとし、濃度の調節は PBS を用いて行った。対照群には PBS を使用した。

1. 血管新生に対する1400W の影響

腫瘍細胞浮遊液を、腹部皮下2か所へ移植し、これを0日とし、1日目、2日目に1400W を各濃度で背部皮下に投与し、腫瘍移植後3日目にマウスを屠殺し、移植部周囲の生体血管より腫瘍に向かって走行する血管の数を手術用顕微鏡を用いて測定し、2か所の平均血管数を求めた。

2. 腫瘍増殖に対する1400W の影響

腫瘍細胞浮遊液を、背部皮下へ移植し、長径7mmに達した時点をも0日とした。この時点から1400W を各濃度で8時間毎に7日間腹腔内投与し、腫瘍体積を経日的に測定した。1400W の投与開始から7日目に腫瘍を摘出し腫瘍重量を測定した。

3. 腫瘍細胞における iNOS と VEGF の発現

摘出した腫瘍中の iNOS および VEGF の発現を免疫組織化学的染色法およびウエスタンブロット法を用いて追究した。

4. マウスの体重に対する1400W の影響

全身毒性の評価の指標として、腫瘍細胞を背部に移植した各群のマウスにおける屠殺時の体重を測定した。

Ⅲ. 研究成績

1. WHT/Ht マウスの皮内に移植した扁平上皮癌細胞により誘導された血管の数は、1400W 投与群で有意に抑制された。
2. WHT/Ht マウスの皮下に移植した扁平上皮癌の腫瘍体積、腫瘍重量ともに1400W 投与群で有意に抑制された。
3. WHT/Ht マウスに皮下移植した扁平上皮癌組織の免疫組織化学的染色法およびウエスタンブロット法において1400W の iNOS 阻害効果が確認され、1400W 投与による VEGF 蛋白発現の減少が認められた。
4. 実験期間中における体重の変動は各群の間に有意差は認められなかった。

Ⅳ. 考察及び結論

NO は血管の拡張、透過性を亢進するだけでなく、血管構築を脆弱化し、血管が発芽しやすい環境をつくることで血管新生を促進する。本研究において、1400W は WHT/Ht マウスに皮内移植した腫瘍に対して新生血管数を著明に抑制した。この血管新生抑制作用は iNOS 阻害による NO 産生の抑制によるものと考えられた。また、WHT/Ht マウスの皮下に移植した扁平上皮癌において認められた1400W の有意な腫瘍増殖抑制効果はこの血管新生抑制作用によるものと考えられた。WHT/Ht マウスに皮下移植した扁平上皮癌組織の免疫組織化学的染色法およびウエスタンブロット法において1400W 投与による VEGF 蛋白発現の減少が認められた。NO は腫瘍中 VEGF の発現を誘導する作用を有していることから、1400W は iNOS を阻害することで NO の産生を抑制し、それにより VEGF 発現誘導を抑制していると考えられた。実験期間中における体重の変動は各群の間に有意差は認められなかった。

以上のことから、選択的 iNOS 阻害薬1400W は腫瘍の血管新生と増殖を抑制する新たな治療薬になり得ると思われた。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

- 主査 教授 関 山 三 郎 (口腔外科学第二講座)
副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)
副査 教授 水 城 春 美 (口腔外科学第一講座)

近年、ヒト癌組織を用いた研究で、iNOS が発現している例が数多く報告されている。iNOS によって過剰に産生された NO は、血管の拡張、透過性を促進して癌細胞への栄養、酸素の補給を容易にする。iNOS は正常組織では発現していないため、iNOS を選択的に阻害すれば正常組織への影響が少なく、癌の増殖を抑制できる可能性が期待される。しかし、これまでの研究は非特異的 NOS 阻害薬を用いたものが多く、選択的 iNOS 阻害薬を用いて検討したものは極めて少ない。また、NO は腫瘍の血管新生にも関与しており、腫瘍細胞で血管内皮増殖因子 (VEGF) の発現を高めているという報告があるが、NO の血管新生に対する作用については不明な点が多い。本研究は近交系 WHT/Ht マウスに自然発生した移植可能な扁平上皮癌の増殖と血管新生および腫瘍中の VEGF に対する選択的 iNOS 阻害薬 (1400W) の影響について検討を行ったものである。

研究計画は整然と立てられている。血管新生については、手術用顕微鏡を用いて新生血管数の評価を行った。その結果、血管新生は1400W 投与により著明に抑制された。腫瘍増殖については、腫瘍体積を経日的に測定し、1400W の投与開始から7日目に腫瘍を摘出し、腫瘍重量を測定した。その結果、腫瘍体積、腫瘍重量ともに1400W 投与により著明に抑制された。iNOS と VEGF の発現については、摘出した腫瘍中の iNOS と VEGF の発現を免疫組織化学的染色法およびウエスタンブロット法を用いて追究した。その結果、1400W 投与による iNOS 発現の阻

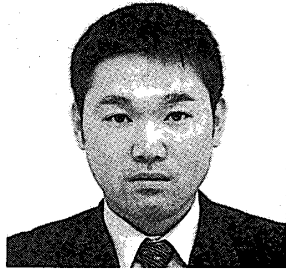
害効果が確認され、1400W 投与による VEGF 蛋白発現の減少が認められた。NO は腫瘍中 VEGF の発現を誘導する作用を有していることから、1400W は iNOS を阻害することで NO の産生を抑制し、それにより VEGF 発現誘導を抑制していると考えられた。

本研究から得られた結果は、今後、臨床応用が期待される選択的 iNOS 阻害薬の重要な基礎的データの一部となり得るものである。

これらの研究結果に対する考察も的確であり、学位授与に値するものと認めた。

試験・試問の結果の要旨

本研究の目的と結果の意義、さらに NO の作用、ウェスタンブロット法、免疫組織学的検索方法に関連した事項について試問を行ったところ、適切な解答を得た。また、実験手技、操作に精通し、結果に対する考察も明確であった。よって学位授与に値する十分な学識を有し、研究指導力を備えているものと認めた。



氏名 中島 崇樹 (昭和49年8月25日)
 本籍地 長野県
 学位の種類 博士 (歯学)
 学位授与番号 岩医大院歯博第198号
 学位授与の日付 平成16年3月25日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学位論文題目 舌扁平上皮癌における CD44変異型の発現
 -免疫組織化学および *in situ* hybridization による検討-

論文内容の要旨

I. 研究目的

CD44分子には選択的スプライシング機構により標準型 CD44 (CD44 standard form, CD44s) と変異型 CD44 (CD44 variant form, CD44v) が存在し, CD44v の発現と癌転移との関連が報告されている。そこで, 舌扁平上皮癌における CD44s および CD44v の発現と頸部リンパ節転移との関連について検討した。

II. 研究方法

材料は, 組織学的に舌扁平上皮癌と診断し, 治療した34症例の舌癌組織のホルマリン固定パラフィン包埋標本である。標本を連続的に厚さ 4 μ の切片に薄切し, ヘマトキシリン・エオジン染色, 免疫組織化学的染色および *in situ* hybridization (ISH) を行った。免疫組織化学的染色は, CD44s, CD44v 4, CD44v 5, CD44v 6, CD44v 7-8, CD44v 9 に対する抗体を用い, ABC 法にて行った。その評価は全腫瘍細胞に対する陽性細胞の割合により行った。さらに, CD44s と CD44v のそれぞれの発現状態から, 症例を発現陽性群と発現陰性群に分け, 頸部リンパ節転移との関連性を Fisher's exact probability test によって検討した。疾患特異的累積生存率は Kaplan-Meier 法により算出し, 両群間における生存率の有意差を log-rank test にて検討した。また, CD44v 6 については ISH にて CD44v 6 mRNA の発現を検索した。

III. 研究成績

正常口腔上皮では CD44s, CD44v 4, CD44v 5, CD44v 6, CD44v 7-8, CD44v 9 の発現が有棘細胞および基底細胞の細胞間に認められ, CD44v 4 は細胞質にも発現が認められた。舌扁平上皮癌では, CD44s, CD44v 4, CD44v 5, CD44v 6, CD44v 7-8, CD44v 9 の発現が癌真珠を除く癌巣全域の腫瘍細胞間および一部の細胞質に認められた。34症例の癌組織における CD44s, CD44v 4, CD44v 5, CD44v 6, CD44v 7-8, CD44v 9 の発現率はそれぞれ64.7%, 52.9%, 88.2%, 64.7%, 70.6%, 52.9%であった。頸部リンパ節転移症例では非転移症例に比べて, CD44v 6 と CD44v 7-8 の発現が低下していた ($P < 0.01$)。

疾患特異的累積生存率は, CD44v 6 の発現陽性群と発現陰性群との間に有意差が認められた ($P < 0.05$)。また, ISH を用いた CD44v 6 mRNA の発現について観察したところ, CD44v 6 mRNA のシグナルは免疫組織化学の所見と同様に腫瘍細胞の核内および細胞質に認められ, とくに癌巣周縁部の腫瘍細胞で顕著な発現が認められた。頸部リンパ節転移陽性症例では CD44v 6 mRNA のシグナル発現は低かった ($P < 0.05$)。

IV. 考察及び結論

本研究で, 舌扁平上皮癌における CD44v 6, CD44v 7-8 の発現低下が転移と相関することが認められた。これらの結果から, 変異型 CD44 の中で v 6 と v 7-8 の検索は癌細胞の浸潤能と転移能を予測する重要な情報となりうることを示唆された。

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 (口腔外科学第一講座)

副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)

副査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

口腔癌の治療において、頸部リンパ節転移の有無が治療成績に与える影響は大きく、リンパ節転移を予測することは治療成績の向上につながると考えられることから、リンパ節転移の予測について種々の研究がなされている。

CD44は細胞間、細胞-細胞基質間の接着を媒介する膜表面分子で、CD44の発現とある種の癌のリンパ節転移とに関連があると報告されている。

CD44分子には選択的スプライシング機構により標準型CD44 (CD44 standard form, CD44s) と変異型CD44 (CD44 variant form, CD44v) が存在し、口腔癌においてもある種のCD44vの発現と頸部リンパ節転移との関連について検討した論文が散見される。しかし、多種類のCD44vの発現状態とリンパ節転移の関連を検討した論文は見当たらないことから、本研究では同一標本における5種のCD44vの発現状態とリンパ節転移との関連を検討した。

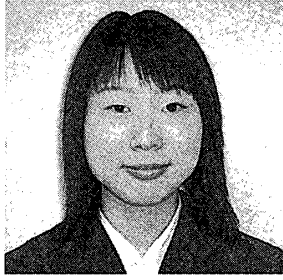
材料は34症例の舌扁平上皮癌組織のホルマリン固定パラフィン包埋標本で、標本を連続的に厚さ4 μ の切片に薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色、免疫組織化学的染色および*in situ* hybridization (ISH)を行った。免疫組織化学的染色は、CD44s, CD44v 4, CD44v 5, CD44v 6, CD44v 7-8, CD44v 9に対する抗体を用い、ABC法にて行った。発現状態から症例を発現陽性群と発現陰性群に分け、頸部リンパ節転移との関連性を統計的に検討した。疾患特異的累積生存率はKaplan-Meier法により算出し、両群間における生存率の有意差を検討した。また、CD44v 6 mRNAの発現をISHにて検索した。

その結果、頸部リンパ節転移症例では非転移症例に比べて、CD44v 6とCD44v 7-8の発現が低下していた。また、CD44v 6の発現陽性群の疾患特異的累積生存率は、発現陰性群と比べて有意に低かった。ISHを用いたCD44v 6 mRNAの発現の観察では、CD44v 6 mRNAのシグナルは免疫組織化学の所見とほぼ同様で、頸部リンパ節転移陽性症例ではCD44v 6 mRNAのシグナル発現が低かった。

本研究により、舌扁平上皮癌のリンパ節転移とCD44vの発現との関連において、従来報告されてきたCD44v 6のほかに、CD44v 7-8の発現低下が転移と相関することが示され、CD44v 6と併せてv 7-8の検索も癌細胞の転移能を予測する重要な情報となりうることが示唆された。このことは、口腔癌の診断・治療において大変意義のある成果である。また、研究結果に対する考察も的確であり、学位授与に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

本論文の要旨について明確な説明がなされ、本研究の目的と方法、結果、さらに口腔癌のリンパ節転移などについて試問したところ、いずれも適切な解答を得た。この結果から、学位授与に値する十分な学識と研究能力を有しているものと認めた。



氏 名 山 浦 千 春 (昭和50年11月19日)
 本 籍 地 福 岡 県
 学 位 の 種 類 博 士 (歯 学)
 学 位 授 与 番 号 岩 医 大 院 歯 博 第 199 号
 学 位 授 与 の 日 付 平 成 16 年 3 月 25 日
 学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当 者 (博 士 課 程 修 了 者)
 学 位 論 文 題 目 *Streptococcus anginosus* 由 来 抗 原 に よ る マ ウ ス 腹 腔 滲 出 細 胞 か ら
 の NO 産 生 誘 導 機 構

論文内容の要旨

I. 研究目的

Streptococcus anginosus は口腔常在菌の一菌種で病原性は低いと考えられるが、条件さえ整えば化膿性膿瘍や細菌性心内膜炎の原因菌ともなることが知られている。我々はこれまで *S. anginosus* の病原因子の解明を目的に研究を行い、本菌の培養上清中にマウス腹腔滲出細胞 (PEC) を活性化し一酸化窒素 (NO) 産生を誘発する強力な免疫生物活性を有する抗原 (SAA) が存在することを明らかにしてきた。しかし、SAA による NO 産生誘導機序の詳細、特に PEC 中の NO 産生細胞の同定、内因性サイトカインの関与、細胞内シグナル伝達系など不明な点が残されている。そこで本研究では、PEC から分画した各細胞画分ならびに株化マクロファージ細胞を用いて、SAA による NO 産生誘導機序の詳細について検討した。

II. 研究方法

SAA は、*S. anginosus* NCTC 10713株の培養上清から既報 (Sasaki ら, 2001) に従い精製した。対照抗原として *S. anginosus* の菌体表層多糖抗原 (RRA) を調製し用いた。PEC は、チオグリコレート腹腔内投与方法を用いて C57BL/6 マウスより調製した。得られた PEC はさらにプラスチックシャーレ付着細胞 (AD) と非付着細胞 (NAD) に分画した。また、マウスマクロファージ株化細胞である J774.1細胞を用いた。NO 産生能はグリース法で、iNOS および種々のサイトカイン mRNA 発現は RT-PCR により検討した。細胞内シグナル伝達系としての MAP キナーゼの活性化は、抗リン酸化 MAP キナーゼ (ERK 1/2 および p38) 抗体を用いたウエスタンブロット法により検出した。さらに、SAA による NO 産生誘導にかかわる細胞内シグナル伝達系の関与については ERK 1/2 阻害剤 (PD98059) と p38阻害剤 (SB203580) を用いて検討した。

III. 研究成績

SAA による NO 産生誘導および iNOS mRNA の発現は、PEC 中の AD および J774.1細胞で認められた。RRA 刺激では、いずれの細胞画分においても NO 産生および iNOS mRNA の発現は誘導されなかった。RRA は SAA 同様、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 および IL-12 mRNA 発現を誘導した。SAA はさらに PEC 中の NAD に対して IFN- γ mRNA の発現を誘導した。しかし、SAA 刺激による PEC からの IFN- γ 産生量は少なく、また、rIFN- γ (50U/ml) 添加によっても NO 産生の増強は観察されなかった。PEC を SAA で刺激すると、ERK 1/2 と p38 の両 MAP キナーゼの活性化が観察されたが、RRA 刺激では ERK 1/2 の活性化のみ観察された。SB203580 を反応系に添加すると SAA による NO 産生誘導が抑制されたが、PD98059 添加系では抑制効果は認められなかった。

IV. 考察及び結論

S. anginosus 由来抗原である SAA は、IFN- γ を含む内因性サイトカインの関与なしに PEC 中のマクロファージを直接刺激して NO 産生を誘導することが明らかとなった。さらに、細胞内シグナル伝達系については、SAA による NO 産生誘導には p38 が関与していること、サイトカイン産生には ERK 1/2 が関与していることが強く

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 木村重信 (口腔微生物学講座)

副査 教授 坂巻公男 (歯科放射線学講座)

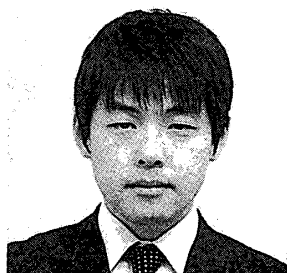
副査 教授 佐藤詔子 (口腔生化学講座)

Sasaki, H.らの報告以来, ヒト口腔常在菌の一菌種である *Streptococcus anginosus* の感染が食道癌や口腔の扁平上皮癌の発症に関連する可能性が示唆されているが, その病原因子についてはほとんど解明が進んでいない。著者らはこれまでに, *S. anginosus* の培養上清中にマウス腹腔滲出細胞 (PEC) を活性化し一酸化窒素 (NO) 産生を誘発する強力な免疫生物活性を有する抗原 (SAA) が存在することを報告している。本研究で著者は, PEC から分画した各細胞画分ならびに株化マクロファージ細胞を用いて, SAA による NO 産生誘導機構の詳細について検討した。その結果, SAA は LPS 等の他の細菌性抗原とは異なり PEC 中のマクロファージを直接刺激して NO 産生を誘導すること, また, SAA は PEC からのサイトカイン産生も誘導するものの NO 産生誘導機構には内因性サイトカインは関与しないことを, RT-PCR 法, ELISA 法, rIFN- γ の添加系等を用いて明確に示した。さらに著者は, 抗リン酸化 MAP キナーゼ抗体を用いたウエスタンブロット法を用いて SAA 刺激後の細胞内シグナル伝達系について解析し, SAA によるマクロファージからの NO 産生誘導には p38が関与し, サイトカイン産生には ERK 1/2が関与していることを示した。

本研究は *S. anginosus* の病原因子としての SAA による NO 産生誘導機構を細胞・分子レベルから詳細に解析したもので, 得られた知見は本菌の病原性の解明に寄与するものと思われる。さらに, NO の過剰産生が発癌機序の一つに挙げられていることを勘案すれば, 本研究成果は細菌による発癌 (生物発癌) 機序の解明へ道を拓くものであると考えられることから, 学位に値するものと評価した。

試験・試問の結果の要旨

本研究の結果, 今後の研究の展開ならびに関連事項についての試問を行ったところ, 的確な解答が得られたことから, 学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと認めた。



氏 名 田 中 滋 (昭和50年9月6日)
 本 籍 地 福 井 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第200号
 学 位 授 与 の 日 付 平成16年3月25日
 学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学 位 論 文 題 目 機械的維持力による矯正ブラケットの接着耐久性に関する基礎的研究

論文内容の要旨

I. 研究目的

現在矯正臨床で用いられているブラケット接着システムは、4-META など接着性モノマーの発達により歯質およびブラケットに対して化学的接着力が向上した。しかし接着強度が強すぎるため、ディボンディング時に歯質を損傷することがある。

本研究は、ブラケット材に対する化学的接着力が水中で低下する接着材を試作し、ブラケット材料の表面形状や粗さを変え、機械的維持力を働かせた接着システムについてその初期接着強度と水中での耐久性を調べた。すなわち、機械的維持力による矯正ブラケット接着システムが臨床的に有効で、かつ歯質に対して安全なシステムとして応用可能かどうかを検討した。

II. 研究方法

1. 材料

ウシ下顎前歯唇側面を注水下で耐水研磨紙 #1000まで研磨後に研磨面を露出させた状態でレジン包埋し、37%リン酸処理、水洗、乾燥したものを被着歯とした。ブラケット材の被着体として2種類のステンレス棒を用いた。接着面形状は研磨処理 (NP)、サンドブラスト処理 (NS)、および #100のステンレスメッシュ溶接後にサンドブラスト処理したもの (MS) とした。

接着材は4-META系接着性レジン (スーパーボンドC&B) と親水性のレジンを含む Bis-GMA 系の矯正用レジン (エンライト LV) を重量比1.00:1.15で混合したものをを用いた。

2. 接着操作

接着材をエナメル質表面に盛り、500gfの荷重をかけてステンレス棒との突合せ接着を行った。余剰レジンを除去後、光照射して接着材を重合させた。比較のためステンレス同士の接着を同様の方法で行った。接着試料は大気中に1時間放置、その後に水中24時間、7日間および4週間の4条件で保管した。ステンレス同士の接着試料は水中保管を2週間までとした。引張接着試験による接着強度の測定は万能試験機にて行った。

III. 研究成績

歯とステンレスでは、NPは1時間後に6.9MPaの接着強度を示したが、水中24時間で0.8MPaまで低下した。破断面はレジンとステンレスの界面であった。NSは1時間で18.5MPa、MSは16.7MPaの接着強度を示し、いずれも4週間その強度を維持し、破断面はエナメル質界面にきわめて近い接着材内部であった。ステンレス同士では、NPは1時間後に約27.3MPaの強度を示し、破断面は凝集破壊であり、2週間その強度を維持した。しかし破断面は接着層辺縁部から中心に向かって界面剥離が拡大しているのが観察された。NSは1時間後に約33.3MPaを示し、NPより有意に高く、水中2週間後も高い強度を維持し、破断面全面の凝集破壊であった。

IV. 考察および結論

今回試作した接着材は歯に対して約7 MPa以上の接着強度を有し、機械的維持力が期待できないステンレス平滑面に対しては乾燥下ではそれと同等以上の接着強度を有するが、水中では急激に低下し、界面破壊を示すことが判明した。しかしステンレス面を粗造化するか、あるいはステンレスメッシュを取り付けて機械的維持力を作用させると接着強度および接着耐久性が向上した。しかも破断はいずれもステンレス被着面の近くでの接着材自身の凝集破壊であり、歯面を損傷することはなかった。つまり、機械的維持力による接着システムによって歯を損傷せずに接着耐久性を得ることが可能であると考えられた。また歯とステンレスの接着とステンレス同士の接着における水中での耐久性の比較から、ブラケットと歯の接着耐久性を低下させる水分は、接着層周囲から接着界面を通る経路ではなく、歯質を経由して浸入する可能性が認められた。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 石橋 寛二 (歯科補綴学第二講座)

副査 教授 三浦 廣行 (歯科矯正学講座)

副査 教授 荒木 吉馬 (歯科理工学講座)

矯正用ブラケットと歯との接着には、接着性レジンを用いた化学的な接着システムが多く用いられている。しかし接着強度が強すぎるために、ディボンディングの際に歯質の損傷を招く問題が指摘されている。

本研究は、臨床的に有効で安全なブラケット接着システムの1つとして、機械的な接着システムが応用可能かどうかを検討したものである。接着材としてブラケット材に対する化学的接着力が水中で低下するものを用い、ウシエナメル質とステンレスの接着試験を行った。

その結果、研磨処理 (NP) は水中24時間で急激な接着強度の低下がみられ、破断面はステンレス界面であった。これに対しサンドブラスト処理 (NS)、メッシュ溶接後にサンドブラスト処理 (MS) したものはともに水中4週間後も初期の接着強度を維持し、接着材内部での凝集破壊がみられ、歯質を損傷することはなかった。またステンレス同士の接着試験の結果と比較すると、歯とステンレスの接着強度を低下させる水分は歯質を経由して接着界面に浸入する可能性が示唆された。

本研究は、機械的接着システムにおいて接着強度とその耐久性が調節できる可能性と、接着界面に対する水の進入経路について新たな知見を示したものであり、学位論文に十分価するものと評価した。

試験・試問の結果の要旨

本研究の目的、概要について説明がなされ、今後の研究の展開ならびに関連事項に関して試問を行ったところ、適切かつ十分な解答が得られたことから、学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと認めた。



氏名 坂上 公一 (昭和49年7月4日)
 本籍地 長崎県
 学位の種類 博士 (歯学)
 学位授与番号 岩医大院歯博第201号
 学位授与の日付 平成16年3月25日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学位論文題目 Endostatin のマウス扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果に関する研究

論文内容の要旨

I. 研究目的

Endostatin (以下エンドスタチン) は血管内皮細胞を標的細胞とした強力な血管新生抑制物質である。現在まで *in vivo* において様々な固形癌に対する抗腫瘍効果が示されているが、頭頸部領域で多く見られる扁平上皮癌に対するエンドスタチンの抗腫瘍効果について検討した報告はみあたらない。そこで、本研究ではリコンビナントエンドスタチンを用いて *in vivo* にて、マウスの扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果と、腫瘍に流入する新生血管抑制作用について検討するとともに、*in vitro* で正常ヒト臍帯静脈内皮細胞 (以下 HUVEC) を用いて細胞増殖と管腔形成に対する作用について検討した。

II. 研究方法

実験動物は、当講座にて近交系として維持している 8~12週齢の雄性、WHT/Ht マウスの体重25~28g のものを使用した。実験群を投与群と対照群の2群に分け1群あたり5匹として使用した。腫瘍は、同マウスに自然発生し胸部皮下に継代移植している扁平上皮癌細胞を PBS で 1×10^6 個 / 0.1ml に調製して使用した。HUVEC は様々な成長因子を含む培地にて 37°C, 5% CO₂ 条件下にて継代維持した。マウスリコンビナントエンドスタチン (以下マウスエンドスタチン) は PBS に溶解し、50µg/匹となるように調整し、ヒトリコンビナントエンドスタチン (以下ヒトエンドスタチン) は培地に添加、溶解し 0.1, 0.5, 1, 10, および 20µg/ml となるように調整した。

1. マウスエンドスタチンの腫瘍増殖に対する影響

マウスに腫瘍を接種後、腫瘍長径が 7mm に達した日を 0 日目とし、0, 1 および 2 日目に腫瘍周囲の皮下にマウスエンドスタチンを投与して 3 日目に屠殺した。腫瘍体積は腫瘍径を経日的に測定して算出した。また、同時に体重の測定を行った。

2. 腫瘍に流入する新生血管に対する影響

マウス扁平上皮癌細胞浮遊液をマウスの両側脇腹皮内 1 か所ずつへ接種し、この日を 0 日目とした。1 および 2 日目にマウスエンドスタチン背部皮下に投与し、3 日目に屠殺した。腫瘍に流入する血管の評価は手術用顕微鏡を用いて腫瘍の上方から二次元的に観察して行った。

3. 細胞倍加時間の測定

HUVEC を 24-well plate に播種し、経日的に細胞数を計測して細胞増殖曲線から細胞倍加時間を求めた。

4. HUVEC の増殖におよぼすヒトエンドスタチンの影響

ヒトエンドスタチンの細胞増殖におよぼす影響として細胞数の算定と、S 期細胞の検出を行った。細胞数の算定は、0.1, 1, 10 および 20µg/ml の濃度の培養液で 10 日間培養して行った。また、S 期細胞の検出は、1, 10 および 20µg/ml の濃度の培養液で 3 日間の培養後 BrdU の取り込みを行い、酵素抗体法にて染色して行った。

5. ヒトエンドスタチンの管腔形成に及ぼす影響

Matrigel™ Matrix でコーティングした96-well plate に HUVEC を播種し、0.5, 1 および10 μ g/ml の濃度の培養液で24時間培養し、管腔形成率を算出した。

III. 研究成績

1. エンドスタチン投与群は、2日目より腫瘍の増殖が抑制されはじめ、エンドスタチンによるマウス扁平上皮癌の腫瘍増殖抑制効果が認められた。(p<0.01)
2. エンドスタチン投与群は対照群と比較して腫瘍に流入する新生血管数を有意に抑制した。(p<0.01)
3. エンドスタチンは、HUVEC の細胞増殖を有意 (p<0.01) に抑制し、BrdU 陽性細胞率も有意 (p<0.01) に抑制した。
4. エンドスタチンは、管腔形成を有意 (p<0.01) に抑制した。
5. 経日的なマウスの体重測定では、投与群および対照群間に差を認めなかった。

IV. 考察および結論

エンドスタチンは、悪性腫瘍を休眠状態にすることが可能な血管新生抑制物質と考えられているが、抗腫瘍作用に関しては作用機序をはじめ未だ不明な点が多い物質である。本研究において、エンドスタチンはマウス扁平上皮癌の腫瘍増殖を有意に抑制した。そして、腫瘍に流入する新生血管数も抑制していることから、マウス扁平上皮癌に対する腫瘍抑制効果は腫瘍に流入する新生血管の抑制によるものと推測された。また、エンドスタチンは HUVEC の細胞増殖を抑制しその作用は、細胞周期の G1 期から S 期への進行を阻害することで引き起こされていることが明らかとなった。また、管腔形成を抑制した結果から、エンドスタチンが細胞増殖と細胞分化に対して強力な抑制効果を示していると考えられた。

以上のことからエンドスタチンは血管内皮細胞の細胞周期において S 期への進行過程に作用することで細胞増殖を阻害し、その結果腫瘍に流入する新生血管が抑制され、腫瘍の縮小を引き起こしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 関山 三郎 (口腔外科学第二講座)
副査 教授 佐藤 方信 (口腔病理学講座)
副査 教授 野坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

エンドスタチンは血管内皮細胞を標的細胞とした強力な血管新生抑制物質であり、in vivo において様々な固形癌に対する抗腫瘍効果が示されている。しかし、頭頸部領域で多くみられる扁平上皮癌に対するエンドスタチンの抗腫瘍効果について検討した報告は他になく、また、エンドスタチンの作用機序についても不明な点が多い。本研究は、リコンビナントエンドスタチンを用いて in vivo にて、継代移植している WHT/Ht マウスの扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果と、腫瘍に流入する新生血管抑制作用について検討するとともに、in vitro で正常ヒト臍帯静脈内皮細胞 (以下 HUVEC) を用いて細胞増殖と管腔形成に対する作用について検討したものである。

研究計画は予備実験を基にエンドスタチンの濃度を定め、たうえで計画的に設定され、腫瘍の増殖抑制効果および腫瘍に流入する新生血管を手術用顕微鏡を用いて算定している。HUVEC については細胞倍加時間を求めるとともに BrdU を用いて S 期細胞を検出し、管腔形成については Endorich の方法に準じて管腔形成率を求めた。

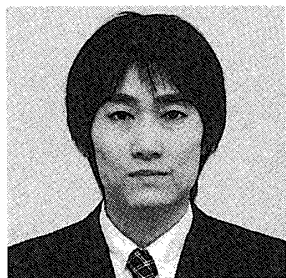
研究成績は、エンドスタチンは50 μ g/匹の濃度の投与により腫瘍の増大を抑制し、腫瘍に流入する新生血管数を抑制した。また、エンドスタチンは HUVEC の細胞増殖を抑制するとともに S 期細胞の陽性率を減少させ、管腔形

成の抑制作用を認めた。最近、エンドスタチンは細胞内の情報伝達系に作用すると言われており、エンドスタチンの細胞に対する作用は *in vivo* および *in vitro* において同様であると考えられている。これらのことからエンドスタチンは血管内皮細胞の細胞周期において S 期への進行過程に作用することにより細胞増殖を阻害し、その結果、腫瘍に流入する新生血管が抑制され腫瘍の縮小を引き起こしていると考えられた。

これらの知見は、今後エンドスタチンの臨床応用が期待されるうえで重要な基礎的データの一部となりうると考えられた。実験結果に対する考察も適切であり、学位論文に十分値するものと評価した。

試験・試問の結果の要旨

本研究の目的、研究の意義、その他、腫瘍に関する基礎的事項、細胞培養に関連する一般的知識について試問したところ適切な解答を得た。これらの点から学位に値する学識と研究指導力を備えているものと認めた。



氏 名 諏訪部 武 (昭和50年9月29日)
本 籍 地 静 岡 県
学 位 の 種 類 博士 (歯学)
学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第202号
学 位 授 与 の 日 付 平成16年3月25日
学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
学 位 論 文 題 目 Voltage-gated inward currents of morphologically identified cells of the frog taste disc
(形態に基づいてタイプを同定したカエル味覚器細胞の電位依存性内向き電流)

論文内容の要旨

I. 研究目的

脊椎動物の味蕾内にはI型, II型, III型細胞が存在する。しかしながら, これら細胞タイプと電気生理学的性質の関係を結びつけた報告は非常に少ない。カエルの味覚器内細胞は他の脊椎動物と異なって, 外部形態が異なっている。本研究ではタイプを同定したカエルの味覚器細胞からどのような電位依存性電流が記録されるかを調べた。

II. 研究方法

ウシガエル (*Rana catesbeiana*) を用いた。ウレタン麻酔下で舌を摘出し, 茸状乳頭をメスで垂直方向に切断し, 厚さ約100 μ Mのスライス標本を作製した。スライス標本は断面を上向きにして記録用チャンバーの底部に固定した。スライス標本中の味覚器細胞から whole cell patch clamp 法で膜電流および膜電位を記録した。あらかじめピペット充填液に蛍光色素 (Lucifer yellow) を加えておき, whole cell 記録終了後に蛍光観察を行い, 記録した細胞のタイプを同定した。

III. 研究成績

Lucifer yellow で染色された細胞の特徴的な形態に基づいて34個のIb型細胞, 40個のII型細胞および48個のIII型細胞が同定され, それぞれの細胞の電気生理学的性質が調べられた。

膜電位固定状態において保持電位の -80 mV から $+60$ mV まで 10 mV 間隔で増加する脱分極パルスを与えるとIb型, II型およびIII型細胞から電位依存性 Na^+ 電流とこれに続く電位依存性 K^+ 電流が記録された。

Ib型細胞とII型細胞の電位依存性 Na^+ チャネルは $1\mu\text{M}$ テトロドトキシン (TTX) で消失し TTX 感受性であったが, III型細胞の電位依存性 Na^+ チャネルは $5\mu\text{M}$ の TTX によっても影響されず, TTX 抵抗性であった。

III型細胞の電位依存性 Na^+ 電流の最大値はIb型細胞およびII型細胞と比較して有意に小さかった。しかし, この最大値を細胞表面積の指標となる膜容量で割った値 (電流密度) で比較するとIII型細胞はII型細胞に近く, Ib型細胞より有意に大きかった。

電位依存性 Na^+ 電流の不活性化の時間経過はIb型細胞およびII型細胞と比較してIII型細胞は有意に遅かった。この遅い Na^+ 電流の不活性化はIII型細胞を特徴づける。

電位依存性 Ca^{2+} チャネルの存在はIII型細胞においてのみ確認された。この知見はカエル味細胞としては初めての報告である。

膜電流固定状態で細胞を脱分極させるような電流パルスを与えるとIb型, II型およびIII型細胞から活動電位が記録された。Ib型およびII型細胞の活動電位は TTX 感受性で, III型細胞のそれは TTX 抵抗性であった。

IV. 考察および結論

これまで、カエル味覚器細胞の whole cell 記録は単離した翼状先端突起をもつ wing (Ib 型) cell と棍棒状先端突起をもつ rod cell で行われてきた。II 型および III 型細胞は rod cell に属すが、今回報告したような III 型細胞の電気生理学的性質はこれまで報告されてこなかった。これは単離処理の過程で細い突起の III 型細胞はダメージを受け、残った比較的太い突起の II 型細胞からの記録のみが報告されたものと思われる。今回、酵素処理や攪拌処理を必要としないスライス標本を用いることで III 型細胞を含め、Ib 型および II 型細胞の電気生理学的性質の比較を行う事ができた。

III 型細胞の電位依存性 Na^+ 電流の最大値は小さかったが、電流密度は、III 型細胞は Ib 型よりも有意に大きく、II 型細胞に近いことから III 型細胞は成熟した細胞であると考えられる。

味細胞の化学シナプス伝達には味細胞内の Ca^{2+} 濃度の上昇が必要である。本研究で III 型細胞は脱分極により活動電位を発生し、しかも電位依存性 Ca^{2+} チャネルを有することが明らかとなった。また、電顕による研究からカエル III 型細胞は求心性神経末端とシナプス様構造を形成しているという報告がある。これらの知見から、カエルの III 型細胞は味細胞であると結論づけられる。

本研究で示された TTX 抵抗性電位依存性 Na^+ チャネルの存在は脊椎動物の味細胞で初めての報告である。TTX 抵抗性の生理学的意味は今後の課題である。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 久保田 稔 (歯科保存学第一講座)
副査 教授 北 田 泰 之 (口腔生理学講座)
副査 教授 名 和 橙黄雄 (口腔解剖学第二講座)

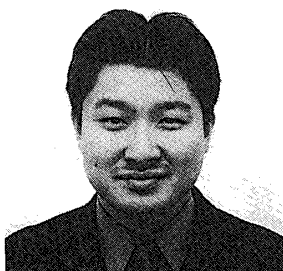
脊椎動物の味蕾内細胞には I 型, II 型および III 型細胞が存在するがどの細胞が味覚受容細胞 (味細胞) か明確にはなっていない。また、これら細胞タイプと電気生理学的性質の関係もよく分かっていない。カエルの味覚器細胞は他の脊椎動物のそれと違って細胞の外形から細胞タイプを同定できる。そこで、本研究はカエルの味覚器細胞タイプと膜電流の関係を調べたものである。ホールセルパッチ電極法により電位依存性電流を記録した後、電極内に充填した蛍光色素により細胞の染色を行い細胞タイプの同定を行った。その結果、Ib 型細胞および II 型細胞の内向き Na^+ 電流は TTX 感受性であり、III 型細胞の内向き Na^+ 電流は TTX 抵抗性であることが分かった。この TTX 抵抗性の内向き Na^+ 電流は脊椎動物味細胞では初めての発見である。

味細胞は味覚神経線維とシナプスを形成しているので、味覚物質を受容した味細胞がシナプス伝達を起こすには細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇する必要がある。本研究において電位依存性 Ca^{2+} チャネルが、III 型細胞にのみ見つかった。電位依存性 Ca^{2+} チャネルの存在はカエル味覚器細胞では初めての報告である。本研究結果から III 型細胞は味覚受容において TTX 抵抗性の活動電位を発生し、電位依存性 Ca^{2+} チャネルを使ってシナプス伝達を起こすことが推察された。おそらく、カエルにおいて III 型細胞は味細胞であると思われる。

本研究により味覚器内細胞タイプと膜電流の関係が明白になり、味覚受容機構の解明に寄与することが期待されることから本論文は学位論文に値するものと評価した。

試験・試問の結果の要旨

味覚受容メカニズム、細胞生理学一般について試問を行ったところ、満足すべき解答が得られた。また、今後の研究に対する姿勢も明確であることから学位授与に値する十分な学識と研究指導力を備えているものと認めた。



氏名 太田敏博(昭和49年4月26日)
本籍地 北海道
学位の種類 博士(歯学)
学位授与番号 岩医大院歯博第203号
学位授与の日付 平成16年3月25日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当者(博士課程修了者)
学位論文題目 The anti-angiogenic agent, E7820, induces changes in the architecture of lymphatic vessels around tumors.
—血管新生阻害薬 E7820による腫瘍周囲リンパ管の構築変化—

論文内容の要旨

I. 研究目的

固形腫瘍の増殖は腫瘍細胞に由来する増殖因子によって新生される血管に依存することが明らかになり、それに基づいて、血管の新生を阻害することにより抗腫瘍効果を期待する薬剤が開発されてきた。血管新生阻害薬の腫瘍増殖抑制効果は高く、さらに所属リンパ節への転移の抑制も報告されている。しかし、血管新生阻害薬のリンパ節転移抑制機序を、血管新生阻害のみで説明することは難しく、もう一つの脈管であるリンパ管に対する薬剤の影響を検討する必要がある。関らは TNP-470投与による腫瘍周囲リンパ管の新生阻害が、転移を抑制していることを形態学的に推測した。しかし、TNP-470の血管新生阻害の作用機序は不明な点が多く、所属リンパ節への転移抑制機序も不明である。われわれが本実験で使用した血管新生阻害薬 E7820 (エーザイ株式会社) は経口投与に開発された、膜表面蛋白であるインテグリン $\alpha 2$ 発現抑制により血管の管腔形成を抑制する新しい血管新生阻害薬である。癌治療薬は、血管新生阻害薬を含めほとんどが局所での有効濃度を考慮して高濃度で経静脈的に、または大量を経口的に投与されており、それにより様々な副作用が引き起こされることが予測される。そこで、われわれは薬剤の投与量をできるだけ少なくし、しかも腫瘍内および腫瘍周囲で高濃度を得るため、腫瘍塊中心部に薬剤を直接注入する投与方法を用いて検索した。

II. 研究方法

ウサギ舌辺縁部に VX2 癌細胞を移植し、移植後3日目より隔日で計4回、5%グルコースで希釈した10mg/mlの E7820 100 μ lを各回、腫瘍中心部に注入した。なお、薬剤を投与しなかった群を対照群とした。最終投与の翌日、過麻酔によりウサギを屠殺後、舌を摘出し、5% carboxymethyl cellulose にて凍結包埋し、10 μ mの連続切片を作成した。切片を5'-nucleotidase 染色して、光学顕微鏡撮影装置を用いて撮影し、コンピュータに二次元画像として取り込み、リンパ管のみを抽出してリンパ管構造を三次元再構築し観察した。また、リンパ節転移の有無に関しては、薬剤投与部位の所属リンパ節である深頸リンパ節を摘出後、連続切片標本に H-E 染色を施し、病理組織学的に検索した。

III. 研究成績

腫瘍周囲のリンパ管は、腫瘍外郭200 μ mの範囲では上縦舌筋下集合リンパ管を含む集合リンパ管および毛細リンパ管が観察されず、毛細リンパ管の新生も認められなかった。また、腫瘍の体積は、薬剤投与4回目の時点で、対照群と比較して約1/4であり、著明に腫瘍の増殖が抑制された。対照群には5例中5例に深頸リンパ節への転移が認められたのに対し、薬剤を投与した群では5例中4例に転移が認められなかった。転移が認められた1例のリンパ節は、大きさは正常のリンパ節と同等であり、H-E染色にて癌細胞が辺縁洞から中間洞への移行部に限局していた。このリンパ節転移を認めた1例と他の4例とは、腫瘍の体積やリンパ管の三次元構築像において相違はなかった。また全例に肺転移は認められなかった。

IV. 考察及び結論

腫瘍の増殖は本薬剤により抑制されたと考えられた。また薬剤投与により、腫瘍外郭200 μ mの広範囲のリンパ管が消失した。所属リンパ節への転移は5例中1例にのみ認められた。癌細胞がリンパ管源流 (initial lymphatic vessel) に到達する確率が低くなった結果、リンパ節転移が抑制されたと考察した。E7820の腫瘍内投与により、少量の薬剤投与量で著効を認めたことから、本薬剤の有効性と、腫瘍内投与による臨床応用の可能性が示唆された。

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 (口腔外科学第一講座)

副査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)

固形腫瘍の増殖は腫瘍細胞に由来する増殖因子によって新生される血管に依存することから、血管の新生阻害による抗腫瘍効果が期待され、血管新生阻害薬による腫瘍増殖抑制について研究がなされている。また、血管新生阻害薬には所属リンパ節への転移抑制の効果が報告されていることから、血管新生阻害薬は血管新生のみでなく、リンパ管の新生にも影響を与えることが推測されている。

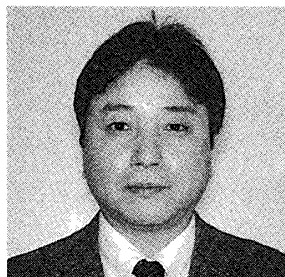
本研究は、新しく開発された血管新生阻害薬 E7820 (エーザイ株式会社) のリンパ管の構築ならびに腫瘍増殖抑制効果、リンパ節転移抑制効果について検討したものである。実験にはウサギの舌縁部に移植した VX2 癌を用い、E7820を腫瘍局所に注入して、腫瘍周囲のリンパ管構築、腫瘍増殖の状態および所属リンパ節転移の有無を形態的、組織学的に観察した。

結果は、腫瘍体積は薬剤投与4回目の時点で、対照群 (E7820非投与) と比較して約1/4であり、著明に腫瘍の増殖が抑制された。投与群におけるリンパ管構築の組織学的観察では、腫瘍外郭200 μ mの範囲の上縦舌筋下集合リンパ管を含む集合リンパ管および毛細リンパ管が認められず、また毛細リンパ管の新生はみられず、既存リンパ管への障害ならびにリンパ管の新生阻害が示された。頸部リンパ節への転移については、対照群では5例中5例で転移が認められたのに対して、投与群では5例中1例に転移が認められたのみで、転移抑制効果も示された。

E7820は経口投与薬として開発されたが、本研究において、少量の E7820の局所注射が明らかにリンパ管新生阻害、腫瘍増殖抑制ならびにリンパ節転移抑制の効果を示したことは、この薬剤を口腔癌治療に臨床応用する際に貴重な基礎的データとなり得るものと思われる。また、これらの研究結果に対する考察も的確であり、学位授与に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

本論文の要旨について明確な説明がなされ、本研究の目的と方法、結果、さらに血管新生阻害薬の作用機序、副作用などについて試問したところ、いずれも適切な解答を得た。この結果から、学位授与に値する十分な学識と研究能力を有しているものと認めた。



氏 名 佐藤 仁 (昭和36年4月6日生)
 本 籍 地 青 森 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大歯博第101号
 学 位 授 与 の 日 付 平成16年3月15日
 学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当者 (博士の学位論文提出者)
 学 位 論 文 題 目 口腔扁平上皮癌の画像診断における塩化タリウム SPECT の臨床的検討

論文内容の要旨

I. 研究目的

近年、塩化タリウムの高い腫瘍親和性が明らかになり、様々な悪性腫瘍における有用性が報告されている。しかし口腔扁平上皮癌における塩化タリウム SPECT の応用法は確立していない。本研究の目的は、口腔扁平上皮癌における塩化タリウム SPECT の集積比を用いた質的診断の有用性を検討することである。

II. 研究方法

対象症例は口腔扁平上皮癌の一次症例患者32名33病変および、初診時に悪性腫瘍が疑われた炎症性疾患患者4名である。SPECT 撮像には、3検出器回転型ガンマカメラを使用した。塩化タリウム注射液74MBq (2 mCi) を静脈内投与し、15分後の早期像および3時間後の後期像を撮像し、早期集積比 (ER)、後期集積比 (DR) および Retention Index (RI) を計測した。口腔扁平上皮癌症例は原発腫瘍の大きさ (長径および短径)、発生部位、WHO の分化度、Jakobsson の浸潤様式と、ER, DR および RI との関係を統計学的に解析した。

III. 研究成績

1. 塩化タリウム SPECT によって口腔扁平上皮癌一次症例の原発巣について、97.0%と高い検出率が得られた。
2. 塩化タリウム SPECT の RI は口腔扁平上皮癌の大きさに影響されるため、RI による質的診断では腫瘍の大きさを考慮する必要が示唆された。
3. 塩化タリウム SPECT の RI は炎症性疾患と口腔扁平上皮癌では有意な差が認められ、両者の鑑別の可能性が推察された。
4. 塩化タリウム SPECT の RI は口腔扁平上皮癌の高分化群または低浸潤度群においてより低い傾向にあった。

IV. 考察および結論

以上のように塩化タリウム SPECT は病変検出率が高く、口腔扁平上皮癌と炎症性疾患の鑑別診断や悪性度診断への応用が期待されることから、口腔扁平上皮癌の質的な画像診断において有用性が期待できると考えられた。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 坂 卷 公 男 (歯科放射線学講座)
 副査 教授 水 城 春 美 (口腔外科学第一講座)
 副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)

近年、種々の悪性腫瘍における塩化タリウムの腫瘍イメージング製剤としての有用性が報告されている。しか

し、口腔扁平上皮癌における塩化タリウム SPECT の応用法は確立されていない。本研究では、口腔扁平上皮癌の悪性度の判別や炎症性疾患との鑑別などにおける、塩化タリウム SPECT の有用性を検討した。

口腔扁平上皮癌の一次症例患者32名33病変および炎症性疾患の患者4名について検討した。SPECT 検査においては患者に塩化タリウム注射液74MBq を静脈内投与し、15分後の早期像および3時間後の後期像を撮像し、早期集積比 (ER)、後期集積比 (DR) および Retention Index (RI) を計測した。これらの数値と原発腫瘍の大きさ、部位、組織学的分化度および浸潤様式との関連性を統計学的に解析した。

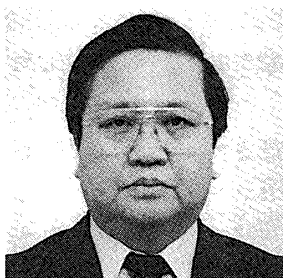
塩化タリウム SPECT によって、口腔扁平上皮癌患者からえた33病変中の32病変が検出され、97.0%と高い検出率が得られた。RI は腫瘍の長径、短径のいずれとも有意な負の相関関係を示し、RI は腫瘍の大きさに影響されることが明らかになった。病理組織診断別に RI を比較したところ、口腔扁平上皮癌群の RI (0.80 ± 0.16 , $n=30$) は炎症性疾患群の RI (0.58 ± 0.04 , $n=4$) よりも有意に高く ($p=0.011$)、両者の鑑別にあたって有用な指標になりうる可能性が推察された。RI は腫瘍の大きさに影響されるため、RI にほとんど影響を認めない短径が20mm以上40mm未満の腫瘍群について検討したところ、高分化群または低浸潤度群の RI に低い傾向がみられた。

塩化タリウム SPECT は、口腔扁平上皮癌の病変検出率が高く、炎症性疾患との鑑別診断や悪性度の判別への応用が見込まれ、その臨床的有用性が期待された。

本研究で得られた結果は、口腔扁平上皮癌等に関する塩化タリウム SPECT の臨床的応用に大変有効な研究であり、学位論文に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

本論文の要旨について明確な説明がされ、SPECT などの質的画像診断と CT, MRI などの形態的画像診断による悪性腫瘍の検出率や、その治療法並びに予後を含めた診断についてより進んだ、十分な学識と研究能力を有すると認めた。英語の試験結果も優れており、合格と判定した。



氏名 瀬川 敦 義 (昭和27年 8月18日)
 本籍地 岩手 県
 学位の種類 博士 (歯学)
 学位授与番号 岩医大歯博第102号
 学位授与の日付 平成16年 3月15日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当者 (博士の学位論文提出者)
 学位論文題目 頭頸部癌の頸部リンパ節転移に関する臨床病理学的研究

論文内容の要旨

I. 研究目的

頭頸部癌の治療において原発巣の制御は予後に重要な影響を与えるが、原発巣の制御以上に頸部転移巣の制御の成功が予後に大きく影響するとされている。頭頸部癌においては occult metastasis が多いことから予防的頸部郭清術を行う施設、予防照射を行う施設、wait and watch という方針で経過観察中に転移が出現した時点で頸部郭清術を行う施設と様々であり、その結果も報告により違いがあり、今なお議論されている。そこで本研究では、当科で行った頸部郭清術症例について臨床病理学的に検討を行い、転移および予後に関与したと考えられる臨床的、病理組織学的因子について検討を行い、頸部郭清術を行う時期、術式の選択について方向性を見いだすことを目的とした。

II. 研究方法

対象は1975年4月から2003年3月までの28年間に岩手医科大学歯学部付属病院第2口腔外科を受診し、扁平上皮癌と診断され、所属リンパ節の転移を疑い頸部郭清術を行った一次症例139例、149側とした。臨床的検索はTNM分類(UICC, 1997)を用い、腫瘍の発育様式については内向型、外向型に分類し判定した。また、頸部郭清術を行った時期を初回治療時、後発転移時および原発巣再発時に分け検討した。病理組織学的所見については、初診時の原発巣の生検組織を通常の方法で作成した標本で観察し、Broders分類、分化度、核分裂像、核異型性、浸潤様式およびリンパ球浸潤について検討を行った。また、それぞれの所見に対して悪性度に関与する程度を考慮し得点を付与し、組織学的悪性度の評価を行った。さらに、組織学的治療効果については大星、下里の分類に基づき分類し、検討した。また、転移レベルについては頭頸部癌取り扱い規約に準じ検討した。予後についての検討はKaplan-Meier法により累積生存率を算出し行った。

III. 研究成績

1. 初診時年齢は24歳から89歳で平均は59.2±11.3歳であった。部位別では舌61例、下顎歯肉25例、口底18例、頬粘膜15例、上顎洞9例、口峽咽頭6例、上顎歯肉4例、口唇1例であった。TNM分類(UICC, 1997)では、T別では、T1が22例、T2が50例、T3が26例、T4が41例であった。N別では、N0が86例、N1が44例、N2が9例、N3が0例であった。
2. 頸部郭清術を行った時期は、初回治療時に行った症例が107例、後発転移時に行った症例が23例、原発巣再発時に行った症例が9例であった。
3. 頸部郭清術を行った149側で摘出されたリンパ節は1,862個で、1側平均12.5個であった。組織学的に転移が確認されたリンパ節は149側中79側に認め、1,862個中172個に組織学的に転移を認め、1側の平均は2.2個であった。節外浸潤を認めたリンパ節は172個中7個であった。
4. 組織学的に転移が確認されたリンパ節の存在部位はレベルI, II, IIIで全体の90%を占めていた。また、レベルVには組織学的に転移を認めたリンパ節はなかった。
5. 原発巣の部位別では、舌において組織学的に転移が確認されたリンパ節が複数個である傾向が高い、対側への

転移を含め遠位レベルへの転移の頻度が高い、節外浸潤の頻度が高い傾向がみられた。

6. 初診時の組織像からでは、浸潤様式が4D型のもの、組織学的悪性度が高いものは組織学的に転移の確認されたリンパ節を認める傾向が高かった。
7. 累積生存率からみると予後不良と考えられる因子は、3個以上の組織学的に転移の確認されたリンパ節が存在すること、節外浸潤を認めることおよびレベルⅢ、レベルⅣに組織学的に転移が確認されたリンパ節が存在することが考えられた。しかし、頸部郭清術の時期については初回治療時であっても後発転移時であっても予後に影響はなかった。

IV. 考察および結論

1. 臨床的観点からのみの頸部リンパ節転移の診断は困難であり、原発巣の部位による転移の様相を十分に把握する必要がある。
2. 病理組織学的には、初診時の生検像における浸潤様式、組織学的悪性度により、頸部リンパ節転移の頻度に差があることが示唆された。
3. 節外浸潤リンパ節の頻度は低く、適切な時期に頸部郭清術が行われていたと考えられる。しかし、早期に節外浸潤が起こったと思われる症例もあり、より適切な手術時期の判断が求められる。

以上の結果より、原発巣の臨床所見および病理組織学的所見と頸部リンパ節転移の様相が明らかになり、症例によってはレベルⅤの郭清が省略できる可能性が示された。また、頸部郭清術の時期は予後に影響はなかったことから wait and watch という治療方針は妥当と考えられた。今後治療率の改善には頸部リンパ節転移の診断法の確立が重要と思われる。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 関 山 三 郎 (口腔外科学第二講座)
副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)
副査 教授 戸 塚 盛 雄 (歯科放射線学講座)

頭頸部癌の治療において原発巣の制御は予後に重要な影響を与えるが、原発巣の制御以上に頸部転移巣の制御の成功が予後に大きく影響するとされている。しかし、頸部リンパ節転移に対する絶対的な診断法は現在なく、occult metastasisが多いという問題とあわせて予防的郭清術を行う施設、予防照射を行う施設、wait and watch という方針で経過観察中に転移が出現した時点で頸部郭清術を行う施設と様々であり、その結果も報告により違いがあり今なお議論されている。本研究は、頸部郭清術を行った症例を対象に、転移および予後に関与したと考えられる臨床的、病理組織学的因子について検討を行い、頸部郭清術を行う時期、術式の選択について方向性を見いだすことを目的としたものである。

過去28年間の頸部郭清術症例139例、149例について分析したもので、うち57例については初診時の生検の病理組織像から頸部リンパ節転移について比較、検討したものである。

その結果、149例で摘出されたリンパ節数は1,862個で1側平均12.5個であり、そのなかで組織学的に転移が確認されたリンパ節は172個で1側平均2.2個であり、節外浸潤を認めたリンパ節は7個であった。これら転移リンパ節の存在したレベルはⅠからⅢで全体の90%を占め、レベルⅤには組織学的に転移が確認されたリンパ節がないことが示された。また、原発巣の部位別でも転移様式に差があることが示され、舌癌における頸部リンパ節転移の特徴が示されている。初診時の組織像からでは、浸潤様式が4D型のもの、組織学的悪性度が高いものは組織学的に転移の確認されたリンパ節を認める傾向が高いことが示されている。予後については累積生存率から検討されているが、3個以上の組織学的に転移の確認されたリンパ節が存在すること、節外浸潤を認めることおよびレベル

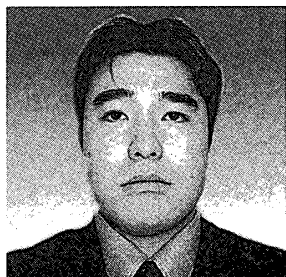
Ⅲ, Ⅳに組織学的に転移が確認されたリンパ節が存在することが示されている。しかし, 頸部郭清術の時期については初回治療時であっても後発転移時であっても予後には影響はなかったと結論している。

以上の結果より, 原発巣の臨床所見および病理組織学的所見と頸部リンパ節転移の様相が明らかになり, 症例によってはレベルVの郭清が省略できる可能性が示された。また, 頸部郭清術の時期は予後に影響はなかったことから wait and watch という治療方針が妥当であるとの結果が示されている。さらに, 今後センチネルリンパ節の問題も含め, 頸部リンパ節の診断法の確立の重要性を示している。

これらの研究結果に対する考察も妥当であり, 学位授与に十分値するものと認める。

試験・試問の結果の要旨

本研究の内容および口腔悪性腫瘍に関する事項について, 基礎的ならびに臨床的立場から多面的な試問を行ったところ, いずれも適切な解答が得られた。腫瘍治療学に関する一般的知識も豊富であり, これらの点から学位に値する十分な学識を有するものと認める。また, 英語の試験を実施した結果, 合格と判定した。



氏 名 泉 澤 充 (昭和42年5月15日)
 本 籍 地 岩 手 県
 学 位 の 種 類 博 士 (歯 学)
 学 位 授 与 番 号 岩 医 大 歯 博 第 103 号
 学 位 授 与 の 日 付 平 成 16 年 3 月 15 日
 学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当 者 (博 士 の 学 位 論 文 提 出 者)
 学 位 論 文 題 目 The relationship between histopathological findings in oral squamous cell carcinoma and FDG uptake on PET
 - 口腔扁平上皮癌における病理組織学的所見と FDG 集積との関係 -

論文内容の要旨

I. 研究目的

FDG-PET は、悪性腫瘍の機能的診断法として臨床応用され、治療後の評価や腫瘍再発診断では CT/MRI よりも正診率が高く、その有用性が報告されている。FDG 集積量は、SUV という値で定量化されるが、この SUV が高値を示すと生存率が低いという報告もあることから、治療法の選択や予後因子として注目されている。しかし、同じ扁平上皮癌症例でも SUV にばらつきが見られることがあり、診断に苦慮する場合が多い。本研究では、FDG-PET を正しく読影するための基礎的データを得るため、扁平上皮癌を持つ口腔癌の組織学的所見や腫瘍進展度、腫瘍細胞密度と、PET によって測定される SUV との関連性を分析した。

II. 研究方法

対象は、FDG-PET 検査が施行可能であった口腔扁平上皮癌症例45例とした。PET 装置は、HeadTome IV (島津社製) を用い、6.5mm間隔で14枚の axial 像を得た。FDG の集積部位を解剖学的に同定するため、希釈 FDG で作成した3個の放射性マーカーを患者の頭部皮膚に装着し、PET の撮影を行った。組織学的分化度は WHO の分類、組織学的悪性度は、Jakobsson の分類に従い4段階に分類した。腫瘍の臨床的進展度は TNM 分類の T 分類を用いた。それぞれ分類した項目と PET 検査で得られた SUV との関連性について検討した。遡及的に、細胞密度の評価ができた症例は15例あった。手術標本または試験切除標本を光学顕微鏡で観察し、腫瘍細胞の密度をスコアー化して評価し、SUV との関連性を検討した。

III. 結果

全ての対象症例で、FDG 集積が高い部位は PET/CT 合成画像により解剖学的に同定可能であった。組織学的分化度と SUV の関係では、well, moderate とともにばらつきが認められるものの、それぞれの平均値 (SUV=6.5) に有意の差は認められなかった。組織学的悪性度と SUV との関係でもばらつきが認められたが、SUV の平均値に有意差は認められなかった。T 分類と SUV の関係では、T が大きくなると SUV も高くなる傾向を示していた。細胞密度指数と SUV の関係では、腫瘍細胞密度が上昇するにしたがって SUV も上昇することが示され、統計学的にも相関性が認められた。

IV. 考察および結論

一般に FDG 集積は細胞分裂指数に依存すると言われているが、*in vitro* の実験では、最も FDG が取り込まれる S 期での集積量は、最小である G1 期の2.5倍程度であると報告されている。今回の症例の平均 SUV は、約6.5と高い値を示していることから、細胞分裂指数だけではこの値を説明できない。一方、癌組織による FDG 集積の約24%は、免疫担当細胞など非腫瘍細胞によるものであることも報告されている。これらの報告と今回の我々の成績

から、FDG-PET で得られる SUV には、FDG 集積の細胞周期依存性のほか、非腫瘍細胞による取り込みや、腫瘍組織における癌細胞と間質との割合も大きく関与していると思われ、細胞成分が少ない場合は、false negative と誤診する可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 坂 卷 公 男 (歯科放射線学講座)

副査 教授 水 城 春 美 (口腔外科学第一講座)

副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)

FDG-PET は、CT/MRI などの形態学的診断法に対し、腫瘍細胞の糖代謝を画像化する機能的診断法である。通常、FDG-PET の診断には、FDG 集積量を定量化した SUV が用いられているが、腫瘍細胞の組織学的分化度や悪性度に大差のない症例群についても SUV にばらつきが見られることが多い。そこで、組織学的悪性度や分化度、腫瘍の臨床的進展度、腫瘍細胞密度の4つの要因と SUV の関連とを追究し、ばらつきの原因について検討を行った。

腫瘍細胞の組織学的分化度や悪性度と SUV の関連性について検討したところ、それぞれの SUV の平均値には有意差は認められなかった。その理由として、これらの要因は腫瘍細胞と周囲組織との形態的な分類であり、腫瘍細胞の生化学的な分類ではないため、SUV の平均値に差が認められなかったと考えられた。腫瘍進展度と SUV の関係では、腫瘍進展度が增大するにつれ SUV も高くなる傾向を示していた。これは、腫瘍が増大するにつれ glucose transporter の発現が多くなることと、周囲組織からのガンマ線の入射が増加する PET 装置の特性が反映されたためと考えられた。腫瘍細胞密度と SUV の関係では、腫瘍細胞密度が増すにつれ SUV も上昇することが示され、統計学的にも相関性が認められた。FDG 集積に関する過去の研究では、SUV が腫瘍細胞の分裂能に依存していることや、腫瘍組織中の免疫担当細胞へも FDG が集積しているとの報告がある。しかし本研究の成績から、SUV にはこれらの因子だけではなく、腫瘍細胞密度も反映されていることが明らかになり、腫瘍細胞塊が小さく、細胞成分が少ない場合などでは false negative として誤診される可能性が示された。

本研究は、頭頸部癌の診断精度を高めることに貢献するほか、PET を読影する上での基礎的データを提供するものであり、学位に十分値するものと認める。

試験・試問の結果の要旨

本研究の目的・結果の意義や FDG の集積メカニズム、PET の有用性について試問したところ明確な回答が得られたほか、悪性腫瘍に対する CT や MRI 診断法との相違についても適切な解答が得られ、十分な学識と研究能力を有することを認めた。英語の試験の結果も優れており合格と判定した。