

氏名	まつもと まこと 松本 誠
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	岩医大院歯博第259号
学位授与の日付	平成22年6月1日
学位論文題目	免疫組織化学による口腔扁平苔癬の上皮におけるマイコプラズマの局在の検討

論文内容の要旨

I 研究目的

口腔扁平苔癬(OLP)は口腔粘膜の炎症性角化性病変で、その発症に細胞性免疫が関与していると考えられているが、現在のところその病因は不明である。OLPは白板症と同様に過角化を呈し、また、临床上、白板症と類似した所見を呈することがある。当科の長澤、川村らによる口腔白板症の研究で、白板症の上皮における口腔マイコプラズマへの存在が認められた。このことから、口腔扁平苔癬におけるマイコプラズマの存在が強く推測され、今回の研究では免疫組織化学により口腔扁平苔癬におけるマイコプラズマの存在について検討した。また、白板症における口腔マイコプラズマの局在と比較し、両者の病態とマイコプラズマの局在との関連性について検討した。

II 研究方法

まず、2008年9月～2009年3月に本学附属病院歯科医療センター第一口腔外科を受診し、OLPと臨床診断され、診断確定の目的で生検を行った患者4名から採取した生検組織の一部を用いて、Hoechst 33258によるDNA蛍光染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した。次いで、1999年1月～2008年12月に岩手医科大学附属病院歯科医療センター第一口腔外科を受診し、病理組織学的検査でOLPと診断された35例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を材料として用いて、蛍光免疫組織化学を行った。対照症例には健常粘膜を有する口腔組織15例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた。さらに、OLPにおける陽性反応の発現状態を口腔白板症におけるそれと比較することを目的に、上皮性異形成を伴わない24例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を試料として用いた。免疫組織化学は、抗マイコプラズマ・ポリクローナル抗体を一次抗体とし、CSA IIシステムによる蛍光免疫組織化学を行い、共焦点レーザー走査顕微鏡による観察を行った。

OLPと対照症例の健常粘膜標本における陽性反応の発現率の違いを検討した。ついで、OLPと白板症における陽性反応の発現状態の違いを比較するために、各標本の上皮層を上層と下層の2層に分け、陽性反応の発現状態を比較検討した。

III 研究成績

1. 4例のOLPのDNA蛍光染色では、4例とも上皮細胞の核周囲の細胞質に微細な蛍光像が観察され、微生物の存在が示唆された。
2. OLPの免疫組織化学では、32/35例(91.4%)で陽性反応が認められた。陽性反応は、上皮の下層の棘細胞層から基底層に多くみられる傾向にあった。
3. 健常粘膜標本の免疫組織化学では、5例(33.3%)において上皮層の一部に限局して観察されるにすぎず、OLPの陽性率とに違いが認められた。
4. 上皮性異形成を伴わない口腔白板症組織の蛍光免疫組織化学的では、全例が陽性所見を呈した。
5. OLPと白板症の上皮層における陽性反応の分布の比較では、OLPでは「上>下群」が3例(9.4%)、「上≒下群」が10例(31.3%)、「上<下群」が19例(59.4%)で、「上<下群」がもっとも多かったのに対して、口腔白板症では「上≒下群」が24例中20例(83.3%)、「上>下群」が24例中4例(16.7%)で「上≒下群」が多く、

OLPと白板症の上皮層における陽性反応の分布に違いがみられた。とくに、OLPでは基底細胞に陽性反応が多く観察されたのに対して、白板症の基底細胞では陽性反応は少ない傾向であった。

IV 考察及び結論

今回の研究で、OLPにおいても、白板症と同様に上皮層におけるマイコプラズマの侵入／寄生が示された。しかし、白板症と比較して、OLPでは陽性反応が上皮層の下部に多く観察され、とくに基底細胞において陽性反応が多く認められ、基底細胞におけるマイコプラズマの侵入／寄生の有無と程度が、OLPの病態と深く関わっ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 水城 春美 (口腔外科学講座 顎口腔外科学分野)
副査 教授 武田 泰典 (口腔病因病態制御学講座 口腔病理学分野)
副査 教授 杉山 芳樹 (口腔外科学講座 歯科口腔外科学分野)

口腔扁平苔癬 (OLP) は発症頻度の高い口腔粘膜疾患で、多くの研究がなされ、その発症に局所の細胞性免疫が関与していると考えられているが、まだ発症原因は明らかでない。OLPは慢性炎症性角化性病変で、過角化性変化と萎縮性変化が混在する。一方、過角化を示す代表的な口腔粘膜疾患に白板症がある。本研究は、OLPと白板症の類似点に着目して、OLPの発症原因を解明する一助とするために、白板症上皮で認められたマイコプラズマがOLPの上皮においても検出されるか否かを、免疫組織化学を用いて検討した。また、白板症におけるマイコプラズマの局在と比較し、OLPの病態とマイコプラズマの局在との関連性について検討した。

はじめに、OLP患者4名から採取した生検材料の一部を用いて凍結切片を作製し、Hoechst 33258によるDNA蛍光染色を行い、OLPの上皮細胞の細胞質における微細な蛍光像を認めた。これにより、OLPの上皮細胞における微生物の存在が示唆された。

つぎに、OLPと病理組織診断された35例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を材料として、抗マイコプラズマ・ウサギポリクローナル抗体を用いて免疫組織化学を行った。対照には健常粘膜を有する口腔組織15例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた。その結果、OLPの免疫組織化学では32/35例(91.4%)で陽性反応が認められた。一方、対照症例では陽性率は33.3%で、両者に有意差が認められ、OLPの上皮におけるマイコプラズマの存在が強く示唆された。

さらに、上皮性異形成を伴わない24例の白板症標本を試料として免疫組織化学を行い、OLP標本における陽性反応の局在と比較検討した。OLPでの、陽性反応は上皮層の下半部の有棘層から基底層に多く認められたのに対して、白板症では上皮層の全体にわたって陽性反応を示す症例が多くを占めた。とくに、OLPでは基底細胞で陽性反応が多く観察されたが、白板症では基底細胞における陽性反応はきわめて少なく、両者の間に相違が認められた。このことから、基底細胞における陽性反応の有無と程度がOLPの病態と関連していると推測している。

本研究は、OLPと白板症との類似点に着目して、免疫組織学によってOLPの上皮におけるマイコプラズマの存在を示唆した初めての論文で、今後のOLPの研究の嚆矢となるもので、その意義は十分にあると思われ、学位に値すると判断した。

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、今後の研究の展望も持っており、研究への意欲を示した。