

	ハムデイ メトワリ
氏名	Hamdy Metwaly
学位	博士 (歯学)
学位記番号	新大院博 (歯) 第 43 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 3 項該当
博士論文名	Vascular endothelial cell participation in formation of lymphoepithelial lesions (epi-myoeplithelial islands) in lymphoepithelial sialadenitis (benign lymphoepithelial lesion) (良性リンパ上皮性病変における筋上皮島形成への血管内皮細胞の関与：細胞外基質産生状況からの解析)
論文審査委員	主査 教授 朔 敬 副査 教授 前田 健康 教授 大島 勇人

博士論文の要旨

緒言

自己免疫性機転が推定される唾液腺炎の代表的なものにシェーグレン症候群慢性唾液腺炎がある。この型の唾液腺炎では、リンパ球浸潤がきわめて高度で、そのために唾液腺腫大をきたす。炎症の持続進行にともなって唾液腺実質細胞は脱落するが、残存導管上皮がリンパ球背景で再生する場合に過剰増殖していわゆる筋上皮島を形成することがあるために、リンパ上皮性唾液腺炎または良性リンパ上皮性病変ともよばれる。しかし、筋上皮島の形成機序は不明であり、とくに筋上皮島内の特徴的硝子様基質の沈着機構も不詳である。

そこで、申請者はリンパ球背景の筋上皮島内細胞外基質 (ECM) 産生沈着が筋上皮島構成細胞のいずれによって担当されるのかを明らかにし、筋上皮島形成機序を検討することを計画した。筋上皮島には、導管上皮細胞のほかにリンパ球とマクロファージがふくまれることはすでに判明していたので、これらのどちらが、すなわち実質細胞と間質細胞のいずれが、筋上皮島内の ECM 産生に貢献しているのかを明らかにすれば、この特異な構造物の形成機構が解明できるという仮説をたてたのである。この実質-間質相互作用は、炎症をふくむ多くの病態、とくに腫瘍の進展機序を理解するのに重要な命題であり、この筋上皮島をふくむリンパ上皮性唾液腺炎は、実質細胞と間質細胞の関わりをきわめて単純化して解析しうるモデル病態として重要である。

材料と方法

①症例：リンパ上皮性唾液腺炎症例を新潟大学口腔病理学分野ならびに上海第二医科大学口腔病理学講座の病理診断ファイルから抽出し、組織保存状況の良好な 6 例を検索対象とした。これらのホルマリン固定パラフィン包埋材料から連続切片を作製し、HE 染色をほどこすとともに、以下の組織化学的実験に供した。

②免疫組織化学的実験：ECM 分子として、パールカン (基底膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン)、テネイシン、ラミニン、ファイブロネクチン、IV 型コラゲン、III 型コラゲン、V 型コラゲン、VI 型コラゲン、唾液腺導管上皮細胞マーカーとして MUC1 とケラチン、筋上皮細胞マーカーとして S-100 蛋白質、ケラチン 14、血管内皮細胞マーカーとして、ビメンチン、CD31、CD34、リンパ球マーカーとして、CD4、CD8、CD45RO、CD20、CD43、マクロファージマーカーとして、CD68 の各分子に対するウサギポリクローン抗体ないしはマウスモノクローン抗体を

準備し、免疫ペルオキシダーゼ酵素抗体法をおこなった。

③ハイブリッド組織化学的実験:上記のECMのうち、パールカンおよびテネインのmRNA発現状況を上記組織標本で確認するためにin-situハイブリダイゼーション(ISH)をおこなった。RNAプローブは口腔粘膜扁平上皮細胞由来RNAを材料にRT-PCR法で増幅し、SP6/T7RNAポリメラーゼでジゴキシゲニン標識アンチセンスおよびセンスプローブを作製した。脱パラフィン切片をプロテイナーゼK処理後ハイブリッドさせた。洗浄後、免疫アルカリフォスファターゼ酵素抗体法をおこなった。

結果と考察

筋上皮島は、免疫組織化学的には主としてケラチン陽性の上皮細胞からなり、島中央部のMUC1陽性から導管上皮分化が確認された。島辺縁部のケラチン陽性細胞はS-100蛋白質およびケラチン14陽性で、島基底側の筋上皮細胞分化が確認された。なお、S-100蛋白質陽性はCD68陽性のマクロファージに類似して島内部にもみられた。ついで、重要な構成要素はビメンチンおよびCD34陽性の血管内皮細胞で、これらは単一に、シート状に、あるいは管状構造を形成した。島外から血管が筋上皮島を貫通する場合もあった。CD31はより多数の筋上皮細胞に陽性をしめし、ケラチン陽性との重複性が示唆された。さらに筋上皮島内には、血管内皮細胞の管状配列にそって、パールカン、テネイン、IV型コラーゲン、ラミニンの基底膜関連ECM陽性がみられ、硝子滴はとくに前二者とファイブロンネクチンの強陽性を、III・V・VI型コラーゲンは蜘蛛の巣状の陽性をしめた。間質リンパ球はCD20のB細胞優勢、島内もB細胞優勢で、少数のT細胞は主としてCD4陽性であった。ハイブリッド組織化学では、筋上皮島の上皮細胞成分とともに線状あるいは管状に配列する血管内皮細胞により高度にパールカン・テネインのmRNAシグナルが局在していた。さらに、間質リンパ球およびマクロファージにも両分子の遺伝子が確認された。したがって、島内では硝子滴で代表されるECMはむしろ間質細胞としての内皮細胞により産生され、間質でもリンパ系細胞によりECMが産生されていることが明らかとなった。以上より、筋上皮島内血管分布が初めて証明され、筋上皮島の形成維持に血管栄養が重要な役割をはたしていることが示唆された。同時に、内皮細胞およびリンパ系細胞の間質細胞がECM合成を担当する環境では上皮細胞のそれは低下する機序が証明され、ECM産生の実質-間質スイッチング現象のひとつが本病変で証明された。

審査結果の要旨

自己免疫性機転が推定される唾液腺炎の代表的なものにシェーグレン症候群慢性唾液腺炎がある。この型の唾液腺炎では、リンパ球浸潤がきわめて高度で、そのために唾液腺腫大をきたす。炎症の持続進行にともなって唾液腺実質細胞は脱落するが、残存導管上皮がリンパ球背景で再生する場合に過剰増殖していわゆる筋上皮島を形成することがあるために、リンパ上皮性唾液腺炎または良性リンパ上皮性病変ともよばれる。しかし、筋上皮島の形成機序は不明であり、とくに筋上皮島内の特徴的硝子様基質の沈着機構も不詳であった。

そこで、申請者はリンパ球背景の筋上皮島内細胞外基質(ECM)産生沈着が筋上皮島構成細胞のいずれによって担当されるのかを明らかにし、筋上皮島形成機序を検討することを計画した。筋上皮島には、導管上皮細胞のほかにリンパ球とマクロファージがふくまれることはすでに判明していたので、これらのどちらが、すなわち実質細胞と間質細胞のいずれが、筋上皮島内のECM産生に貢献しているのかを明らかにすれば、この特異な構造物の形成機構が解明できるという仮説のもとに、Hamdyの研究は計画された。またこの実質-間質相互作用は、炎症をふくむ多くの病態、とくに腫瘍の進展機序を理解するのに重要な命題であり、この筋上皮島をふくむリンパ上皮性唾液腺炎は、実質細胞と間質細胞の関わりをきわめて単純化して解析しうるモデル病態として重要なものである。

リンパ上皮性唾液腺炎症例を新潟大学口腔病理学分野等の病理診断ファイルから抽出し、

組織化学的実験対象としている。その結果、筋上皮島は、各種抗体を用いた免疫ペルオキシダーゼ酵素抗体法にて、主としてケラチン陽性の上皮細胞からなり、島中央部の MUC1 陽性から導管上皮分化が確認されたという。また島辺縁部のケラチン陽性細胞は S-100 蛋白質およびケラチン 14 陽性で、島基底側の筋上皮細胞分化が確認されたという。なお、S-100 蛋白質陽性は CD68 陽性のマクロファージに類似して島内部にもみられた。ついで、重要な構成要素はビメンチンおよび CD34 陽性の血管内皮細胞で、これらは単一に、シート状に、あるいは管状構造を形成した。島外から血管が筋上皮島を貫通する場合もあった。CD31 はより多数の筋上皮島細胞に陽性をしめし、ケラチン陽性との重複性が示唆されたという。さらに筋上皮島内には、血管内皮細胞の管状配列にそって、パールカン、テネイシン、IV 型コラーゲン、ラミニンの基底膜関連 ECM 陽性がみられ、硝子滴はとくに前二者とファイブロネクチンの強陽性を、III・V・VI 型コラーゲンは蜘蛛の巣状の陽性をしめした。間質リンパ球は CD20 の B 細胞優勢、島内も B 細胞優勢で、少数の T 細胞は主として CD4 陽性であった。また RNA プローブを用いた免疫アルカリフォスファターゼ酵素抗体法にて、筋上皮島の上皮細胞成分とともに線状あるいは管状に配列する血管内皮細胞により高度にパールカン・テネイシンの mRNA シグナルが局在していた。さらに、間質リンパ球およびマクロファージにも両分子の遺伝子が確認されたという。したがって、島内では硝子滴で代表される ECM はむしろ間質細胞としての内皮細胞により産生され、間質でもリンパ系細胞により ECM が産生されていることが明らかとなったとしている。

以上の結果は、筋上皮島内血管分布を初めて証明し、筋上皮島の形成維持に血管栄養が重要な役割をはたしていることを示唆している。同時に、内皮細胞およびリンパ系細胞の間質細胞が ECM 合成を担当する環境では上皮細胞のそれは低下する機序が証明され、ECM 産生の実質-間質スイッチング現象のひとつが本病変で証明されたという点で、本研究の学位論文としての価値を認める。