

	やまざき まなぶ
氏名	山崎 学
学位	博士 (歯学)
学位記番号	新大院博 (歯) 第 74 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Basement membrane-type heparan sulfate proteoglycan (perlecan) and low-density lipoprotein (LDL) are co-localized in granulation tissues: a possible pathogenesis of cholesterol granulomas in jaw cysts (肉芽組織においてパールカンとLDLの局在は一致する:顎骨嚢胞のコレステロール肉芽腫の形成機序としての可能性)
論文審査委員	主査 教授 朔 敬 副査 教授 齊藤 力 教授 高木律男

博士論文の要旨

【緒言】

歯科病理検査でもっとも頻度の高い検査対象疾患である歯根嚢胞は齶触の続発症として発生する。歯根嚢胞の発育には嚢胞壁に形成されるコレステロール肉芽腫が重要な役割をはたしていることは周知のことであったが、同肉芽腫の形成機序については不詳であった。申請者の所属する研究室の大きな研究課題のひとつは、基底膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG)・パールカンの生理的ならびに病的状況における機能の解明であり、これまでに炎症性・腫瘍性をとわず、生体の免疫防御・修復過程で形成される間質あるいは肉芽組織にはパールカンが過剰発現されることを明らかにしてきた。そこで、申請者らはパールカンのコア蛋白質第 2 ドメインに低密度リポ蛋白質 (LDL) 受容体と高いホモロジーを有する領域 (LDL レセプタ様繰り返し配列) が存在することに注目した。すなわち、肉芽組織にパールカンが豊富であり、パールカンのコア蛋白質第 2 ドメインが LDL 受容体として機能するならば同ドメインを介して LDL が捕捉されることで肉芽組織にコレステロールが沈着し、コレステロールの局所濃縮によって結晶化が生じて異物反応をおこすのではないかという仮説をたてて以下の実験を実施した。

【材料と方法】

コレステロール肉芽腫をともなう歯根嚢胞 33 症例のホルマリン固定パラフィン包埋材料をもちいて、パールカン・コア蛋白質、アポリポ蛋白質 B (apoB)、酸化 LDL (Ox-LDL) 各分子の免疫組織学的局在の動態を免疫ペルオキシダーゼ法・DAB 発色または免疫アルカリフォスファダーゼ法・フクシン発色によって検索した。同時に、パールカン・コア蛋白質第 3 ドメインに特異的な RNA プローブをもちいた in-situ ハイブリダイゼーション (ISH) によって、パールカン・コア蛋白質の mRNA 発現状況を検討した。さらに、歯根嚢胞の外科摘出新鮮材料 4 症例から全 RNA をフェノール・クロロフォルム法により抽出し、逆転写法にて cDNA に合成したのち、パールカン・コア蛋白質第 1 ドメイン内に設計したプライマーをもちいてポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法によって増幅した。

【結果と考察】

歯根嚢胞壁を構成する幼若な肉芽組織の粘液様あるいは浮腫状をしめす基質部分にパールカンおよび apoB、Ox-LDL 各分子が共在していた。さらに、肉芽組織内に浸潤するマクロファージは apoB ならびに Ox-LDL 両分子陽性をしめた。一方、泡沫化をきたしたマクロファージは Ox-LDL 強陽性をしめたが、apoB は一部の細胞にしか陽性像がみられなかった。また、Ox-LDL はコレステロール隙周囲の異物型巨細胞にも局在していた。これらの結果より、パールカンがそのコア蛋白質第 2 ドメインを介して、LDL 分子を捕捉して基質に沈着させる可能性がしめされた。このような局所環境で酸化修飾をうけた LDL (Ox-LDL) は、スカベンジャーレセプタを発現するマクロファージに貪食され、apoB 部分は細胞内で代謝されるものの、脂質部分は長くとどまり、マクロファージの泡沫化現象に寄与することが示唆された。さらにこれらの炎症性細胞由来のコレステロールエステルが肉芽組織局所で濃縮・結晶化されることで、コレステロール肉芽腫が形成され、これら一連に異物肉芽反応が歯根嚢胞の成長に重要な役割をはたしている可能性が明らかにされた。ISH の結果から、パールカンは歯根嚢胞壁の線維芽細胞、血管内皮細胞、血管周皮細胞、さらに単核の炎症性細胞で産生されていることが判明した。

審査結果の要旨

齶触の続発症として発症する歯根嚢胞は歯科領域における病理検査対象疾患としてもっとも高頻度である。歯根嚢胞をはじめとする顎骨嚢胞では、嚢胞壁にコレステロール肉芽腫の形成がしばしば認められ、その存在は病変が炎症性背景を有している証拠であることはよく知られている。しかしながら、コレステロール肉芽腫の形成機序は明らかにされていなかった。申請者の所属する研究室の大きな研究課題のひとつとして、基底膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG)・パールカンの生理的ならびに病的状況における機能の解明があり、申請者らはこれまでに炎症性ならびに腫瘍性病変において、生体の免疫防御・修復過程で形成される間質あるいは肉芽組織にはパールカンが過剰発現されることを明らかにしてきた。そこで、申請者はパールカンのコア蛋白質第 2 ドメインに低密度リポ蛋白質 (LDL) 受容体と高いホモロジーを有する領域 (LDL レセプタ様繰り返し配列) が存在することに注目した。すなわち、嚢胞壁を構成する肉芽組織にパールカンが豊富に存在し、パールカンのコア蛋白質第 2 ドメインが LDL 受容体として機能するならば、同ドメインを介して LDL が捕捉されることで肉芽組織にコレステロールが沈着し、コレステロールの局所濃縮によって結晶化が生じて異物反応をおこすのではないかとという仮説のもと、申請者の研究は計画されている。

申請者は、コレステロール肉芽腫をともなう歯根嚢胞 33 症例のホルマリン固定パラフィン包埋材料をもちいて、パールカン・コア蛋白質、アポリポ蛋白質 B (apoB)、酸化 LDL (Ox-LDL) 各分子の免疫組織学的局在の動態を検索した結果、歯根嚢胞壁を構成する幼若な肉芽組織の粘液様～浮腫状をしめす基質部分にパールカンおよび apoB、Ox-LDL 各分子の共局在を呈示し、パールカンがコア蛋白質第 2 ドメインを介して、LDL 分子を捕捉して基質に沈着させる可能性を論じている。さらに、肉芽組織内に浸潤するマクロファージが apoB・Ox-LDL 両分子に陽性をしめすのに対し、泡沫化マクロファージは Ox-LDL 強陽性を呈したが、apoB にたいしては一部の細胞にしか陽性像がみられなかったことから、apoB と酸化脂質の細胞内代謝の相違をしめし、酸化脂質がマクロファージの泡沫化現象に寄与することが示唆している。泡沫化マクロファージは細胞死をきたし、これらの炎症性細胞由来のコレステロールエステルが肉芽組織局所で濃縮・結晶化されることで、コレステロール肉芽腫が形成され、これら

一連の異物肉芽反応が歯根嚢胞の成長に重要な役割をはたしている可能性がしめされた。

したがって、本研究により、肉芽組織におけるコレステロール肉芽腫の形成機序がパールカンの分子機能という観点からしめされ、炎症組織における細胞外基質分子動態解明の端緒として本研究の学位論文としての価値を認める。