

氏名	井上正久
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博乙第3833号
学位授与の日付	平成15年3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者(学位規則第4条第2項該当)
学位論文題名	歯原性腫瘍の形態分化・機能分化とBMP family発現の相関
論文審査委員	教授 菅原 利夫 教授 永井 教之 教授 松村 智弘

学位論文内容の要旨

【研究目的】

歯原性腫瘍は様々な分化段階における歯胚と形態学的に類似しているといわれ、WHOの歯原性腫瘍分類では、その組織学的特徴からのみ分類が行われている。近年、歯胚の発育に多くの機能蛋白・調節蛋白が働いていることが明らかとなった。エナメル形成に関与するアメロジェニン、歯根膜や歯胚の間葉組織に特異的に存在するIII型コラーゲンやオキシタラン線維はそれらの組織に重要な特性を与えている。また、調節蛋白であるBMP familyは歯胚形成において時期および部位特異的に発現し、細胞分化、形態形成に関与している。

しかし、歯原性腫瘍では歯胚との形態学的類似性にとどまり、これらの機能蛋白・調節蛋白の遺伝子・蛋白発現と腫瘍の形態分化、機能分化との相関については不明な点が多い。

本研究では代表的な上皮性歯原性腫瘍であるエナメル上皮腫、線維形成性エナメル上皮腫、腺様歯原性腫瘍の細胞分化を機能発現の面から明らかにするとともに、調節因子であるBMP familyの関与について検討することを目的とした。

【材料および方法】

歯原性腫瘍

歯原性腫瘍は岡山大学歯学部病理検査室で得られたエナメル上皮腫24例（濾胞型12例、叢状型12例）、線維形成性エナメル上皮腫8例、および腺様歯原性腫瘍8例を用いた。

形態学的観察

すべての生検および手術材料は10%緩衝ホルマリン溶液にて固定、常法に従いパラフィン包埋、H・E染色標本を作製した。

免疫組織化学的検索

パラフィンブロックから厚さ約4 μ mの薄切片を作製し、免疫組織化学的検索に用いた。一次抗体として、ヒトBMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7(Santa Cruz Biotechnology), アメロジェニン(高木亨博士より供与), III型コラーゲン(富士薬品)に対する抗体を用い間接法により検索を行った。

RT-PCR法によるアメロジェニンmRNAの検出

パラフィンブロックから20 μ mの切片を作製し、腫瘍組織領域を限定した後、Paraffin Block RNA Isolation Kit(Ambion)を用いてtotal RNAを抽出した。抽出したtotal RNAは逆転写酵素を用いてcDNAを合成、アメロジェニン特異的プライマーを用いたPCR法によ

り遺伝子の増幅を行った。

In situ hybridization法によるアメロジェニンmRNAの検索

X染色体cDNAの307から630までの領域(324bp)のヒトアメロジェニンcDNAをtemplateとしたdigoxigenin標識cRNA probeを作製した。パラフィンブロックから厚さ約4 μ mの薄切片を作製し、前処置の後、50℃、16時間の条件でhybridizationを行った。

【結果】

エナメル上皮腫において、アメロジェニン遺伝子の発現が認められた。胞巢の蕾状、歯堤状の形態を示す部位や、小型の胞巢辺縁部の細胞にBMP-2,4,7に対する陽性所見が認められた。BMP-7の局在は胞巢辺縁部の腫瘍細胞だけではなく胞巢中央部にも陽性所見が認められた。

線維形成性エナメル上皮腫の間質では腫瘍胞巢からオキシタラン線維の放射状配列が認められ、同部にIII型コラーゲンの陽性所見がみられた。腫瘍上皮成分におけるBMP familyの局在様式はエナメル上皮腫と同様であったが、より強い染色性を示した。間質では瀰漫性のBMP-2,3,4,7の陽性所見が認められた。

腺様歯原性腫瘍では、腫瘍細胞にアメロジェニン蛋白の局在、アメロジェニン遺伝子の発現がみられた。大部分の腫瘍細胞にBMP-2,4,7の陽性反応が認められ、特に石灰化物周囲で強陽性反応を示した。間質にBMP-3の陽性所見が認められた。腫瘍内の石灰化物にBMP-7の陽性所見を認めた。

【考察】

アメロジェニン遺伝子が形態的には初期歯胚に類似しているエナメル上皮腫の腫瘍細胞に認められ、エナメル上皮腫は機能分化の点では進んだ分化段階にあると考えられた。

線維形成性エナメル上皮腫では、間質は歯周組織への分化を示し、これらの分化にBMP familyが関与している可能性が示唆された。

腺様歯原性腫瘍では、BMP familyの局在および機能分化の面から、歯胚の基質形成期に類似しておBMP familyが基質形成・分化に関与していると考えられた。

【まとめ】

上皮性歯原性腫瘍であるエナメル上皮腫、線維形成性エナメル上皮腫、腺様歯原性腫瘍に対し分子生物学的・組織学的手法を用いて検討を行った結果、以下の結論が得られた。

- 1) 歯原性腫瘍の組織学的特徴と分子生物学的な遺伝子・蛋白の発現とは必ずしも相関がみられない。
- 2) 組織型によっては、間質（間葉組織）が歯周組織への分化を示すことが示唆される。
- 3) 各組織型の腫瘍実質と間質の歯原性への分化・誘導にBMP familyが特異的に関与していると考えられる。

組織学的特徴のみを基準とした現WHO分類には不十分な点がみられる。今後新たな分類には分子生物学的な手法を導入する必要性があろう。

論文審査結果の要旨

歯原性腫瘍は様々な分化段階における歯胚と形態学的に類似しているといわれ、WHOの歯原性腫瘍分類では、その組織学的特徴からのみ分類が行われている。近年、歯胚の発育に多くの機能蛋白・調節蛋白が働いていることが明らかとなったが、歯原性腫瘍における機能蛋白・調節蛋白の遺伝子・蛋白発現と腫瘍の形態分化、機能分化との相関については不明な点が多い。

本研究は上皮性歯原性腫瘍における細胞分化を機能発現の面から明らかにするとともに、調節因子であるBMP familyの関与について検討することを目的とするものである。

エナメル上皮腫において、アメロジェニン遺伝子の発現を認め、線維形成性エナメル上皮腫では間質が歯周組織への分化を示すことを明らかにした。さらに、各腫瘍において、特徴あるBMP familyの局在様式を示すことによって各組織型の腫瘍実質と間質の歯原性への分化・誘導にBMP familyが特異的に関与していることを明らかにした。

これらの結果は、従来不明であった歯原性腫瘍の機能蛋白・調節蛋白の発現と機能分化との相関を明らかにするものである。また、本研究結果は現在のWHO歯原性腫瘍分類の矛盾点を指摘するものであり、極めて意義がある。従って、本論文は博士（歯学）の学位の授与に値するものと判定した。