

論文審査の結果の要旨及び担当者

報告番号	博(歯)甲第139号	氏名	吉本 真弓
論文審査担当者	主査教員	原 宜興	
	副査教員	林 善彦	
	副査教員	池田 通	
<p>論文審査の要旨</p> <p>吉本 真弓は、平成 12 年 3 月長崎大学歯学部を卒業後、平成 12 年 6 月長崎大学附属病院研修医を経て、平成 13 年 4 月より長崎大学大学院歯科学研究科に入学し現在に至っている。学位論文の基礎となる研究の要旨は、歯学研究科が平成 16 年 11 月 11 日に実施した研究経過報告会において発表した。また、外国語試験(フランス語)は、平成 17 年 2 月 10 日に合格した。</p> <p>学位論文の主論文として「LPS 誘導型骨吸収における RANKL および OPG に関する免疫組織学的研究」(日本歯科保存学雑誌)を完成して歯学研究科長に提出し、歯学博士の学位を申請した。歯学研究科教授会は、これを平成 17 年 2 月 16 日の定例教授会に付議し、論文の内容の要旨ならびに申請の資格等を検討した結果、受理して差し支えないものと認めたので、3 名の審査委員を選定した。審査委員は、共同で論文の内容を慎重に審査し、申請者から研究内容の報告を受けた後、試問を行い、論文審査の結果ならびに最終試験の結果を平成 17 年 3 月 16 日の歯学研究科教授会に報告した。本研究の内容は以下のとおりである。</p> <p>炎症性骨吸収は炎症性細胞浸潤と破骨細胞による骨吸収を特徴とする。Receptor activator of NF-<math>\kappa</math>B ligand (RANKL) は、受容体である (Receptor activator of NF-<math>\kappa</math>B) RANK と結合し、破骨細胞の分化、活性化、生存に促進的に関与する。また osteoprotegerin (OPG) は RANKL と RANK の結合を拮抗阻害し破骨細胞形成に抑制的に作用する。これまでに、<i>Escherichia coli</i> (<i>E coli</i>) 由来 LPS をマウス歯肉へ頻回投与することで誘導される炎症性骨吸収の増加に伴い、骨面付近の結合組織中に多形核白血球 (PMN) や T 細胞が多数認められるという報告がある。しかし RANKL および OPG 陽性細胞の発現がどのように変化するか、またどの細胞が破骨細胞形成の調節に関与しているのかは明らかではない。そこで LPS 誘導型骨吸収が増加または減少する際の骨吸収部位における RANKL および OPG 発現の変化を免疫組織学的に検討した。</p>			

*E. coli*由来 LPS を PBS に溶解し、マウスの下顎臼歯部歯肉に投与した。LPS を一日おきに 8 回投与後、48 時間後に屠殺した群を Base line 群とし、9 回目に LPS または PBS を投与し 24 時間後に屠殺した群をそれぞれ LPS 群と PBS 群とした。さらに対照として PBS を 9 回投与して 24 時間後に屠殺した群を Injection Control 群とした。各群のパラフィンブロックから第一臼歯近心歯槽骨が観察できるような連続切片を作製し、10 枚ごとに H.E.、TRAP 染色、さらに RANKL と OPG の免疫染色を行った。また T 細胞における RANKL の発現と PMN における OPG の発現を調べるために、同一切片上で再染色法による免疫染色を行った。そして骨吸収の程度を比較するために、破骨細胞の接した骨面を活性吸収面と定め、その割合を求めた。RANKL と OPG 陽性細胞は非炎症性細胞と炎症性細胞に分類し、歯肉結合組織中の陽性細胞数を算出した。また多形核の細胞を PMN として、全 PMN に対する OPG 陽性 PMN 数の割合を算出した。

Base line 群は結合組織中に PMN を主体とした炎症性細胞浸潤を認め、一部の吸収窩に破骨細胞が存在した。LPS 群では PMN やリンパ球を主体とした多数の炎症性細胞浸潤と多数の大型の破骨細胞が観察された。PBS 群は炎症性細胞の浸潤は軽度で、吸収窩には破骨細胞をほとんど認めなかった。Injection Control 群は軽度の炎症性細胞浸潤があったが、吸収窩や破骨細胞は存在しなかった。活性吸収面の割合は Base line 群と比べて LPS 群は増加し、PBS 群は Base line 群、LPS 群よりも低い値を示した。

RANKL 陽性細胞は、炎症性細胞において LPS 群が Base line 群に比べて増加し、PBS 群は LPS 群よりも低い値を示した。OPG 陽性細胞数は、炎症性細胞において PBS 群が Base line 群と LPS 群に比べて高い値を示した。非炎症性細胞では LPS 群は Base line 群と比べて有意に減少し、PBS 群は LPS 群に比べて有意に高い値を示した。また LPS 群では RANKL を発現している T 細胞を、PBS 群では OPG を発現している PMN を血管周囲に多く認めた。全 PMN 数は LPS 群が Base line 群および PBS 群に比べ高い値を示した。また OPG 陽性 PMN 数は PBS 群が Base line 群および LPS 群に比べて高い値を示した。これらをもとに算出した全 PMN に対する OPG 陽性 PMN の割合は PBS 群が Base line 群、LPS 群に比べ高い割合を示していた。

今回の実験より、LPS 投与により炎症性骨吸収が増加する際には、RANKL を発現する炎症性細胞の増加と OPG を発現する非炎症性細胞の減少が、また破骨細胞の消失により骨吸収が減少する際には OPG を発現する炎症性細胞の増加が重要であると考えられた。また LPS 誘導性の炎症性骨吸収の促進には、T 細胞の発現する RANKL が重要な働きをしていることが示唆された。また、PMN は OPG を発現することで破骨細胞形成に抑制的に作用していると考えられた。

上記審査委員会は本論文が T 細胞の発現する RANKL と PMN の発現する OPG が LPS 誘導性の骨吸収に関与することを明らかにし、また今後歯学の進歩に貢献するものと評価し、歯学博士の学位論文に値するものと認めた。