

## 論文審査の結果の要旨

氏名：小倉 由希

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Exfoliative Cytology of Oral Mucosa Epithelium : Cytochemical Study and Morphologic

Analysis of Patients with Type 2 Diabetes

（口腔粘膜上皮の擦過細胞診：2型糖尿病患者における細胞化学的および形態学的検討）

審査委員：（主査） 教授 久山 佳代

（副査） 教授 牧山 康秀

教授 福本 雅彦

糖尿病はインスリン作用の不足に基づく慢性高血糖を主徴とする疾患群であり、様々な遺伝素因に種々の環境因子が作用して発症する。本邦の患者数は、生活習慣と社会環境の変化に伴って急速に増加している。本疾患は多くの合併症を伴うことが周知されており、近年では糖尿病の発癌リスクに関する報告もみられる。口腔領域との関連では歯周病を中心に研究がなされている。また、患者への侵襲が少ない擦過細胞診を用いて、口腔粘膜上皮細胞の形態的研究も散見され、核面積や N/C 比に変化があると報告されている。しかしながら、細胞増殖能や悪性転化能の観点も含めた口腔粘膜上皮細胞への糖尿病の影響を検討した包括的な報告は内外の文献を渉猟したが認められない。本研究においては口腔粘膜上皮の擦過細胞を用いて、細胞化学的および形態学的な検索を実施し糖尿病、殊に 2 型糖尿病が口腔粘膜上皮に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

被験者は日本大学松戸歯学部付属病院もしくは他院内科にて 2 型糖尿病と診断されている罹患期間 1 年以上の患者 44 名（男性：27 名，女性：17 名，平均年齢 63.5 歳）（糖尿病群）と血糖値および HbA1c 値（NGSP）が基準値範囲内である者 10 名（男性：5 名，女性：5 名，平均年齢 43.6 歳）の健常者（健常者群）を対象とした。両群とも貧血，他の全身疾患，口腔粘膜疾患を有する者および喫煙者は除外した。被験者は良好な口腔清掃状態を保ち，肉眼的に炎症症状が無いことを確認した。舌側縁，歯肉，頬粘膜から擦過にて口腔粘膜上皮細胞を採取した。その後，直接塗抹細胞診法と液状化検体細胞診法（TACAS™法，MBL Co., Ltd. Japan）を用いて標本作製を行い，Papanicolaou 染色，細胞増殖能の指標である抗 Ki-67 抗体，悪性転化の指標である抗 p53 抗体を用い検索した。また，細胞の糖化状態を抗 AGEs 抗体を用いて，更にレクチンにより糖鎖末端の変化を観察した。形態的検索としては画像解析ソフト ImageJ（NIH，USA）を用いて核面積，細胞質面積の計測および N/C 比の算出を行った。統計解析には SPSS（IBM，Japan）を用い，糖尿病群と健常者群の核面積，細胞質面積，N/C 比の比較を Mann-Whitney の U 検定にて行った。

細胞化学的検索にて糖尿病患者群の細胞核内に辺縁不正で棒状のクロマチン凝集様物質を認めた。健常者群にはこれらの現象はほとんど見られなかった。一般にクロマチンの凝集は細胞周期に関連しており，口腔粘膜上皮において細胞分裂像が観察できるのは基底細胞層付近である。口腔領域の擦過細胞診では通常，表層型の細胞が採取され，上皮深層の基底層付近の細胞は採取されない。そのため，本現象は基底細胞の極性喪失の可能性を疑い抗 Ki-67 抗体，抗 p53 抗体による免疫化学的な検討を行った。その結果抗 Ki-67 抗体，抗 p53 抗体いずれも陰性を示したため細胞採取時における表層型細胞の細胞増殖能の亢進や悪性転化の可能性は認めなかった。形態的検討の結果，糖尿病群において核面積，N/C 比が有意に増大し，細胞質面積に差は認めなかった。核のみの腫大は分裂期の細胞や炎症の影響を受けた細胞，腫瘍細胞内で多く見られる。本研究において細胞増殖能，悪性転化能の亢進は認めなかったため，本変化はこれらに起因するものではないと考えられた。抗 AGEs 抗体とレクチンによる細胞化学的検索結果は，抗 AGEs 抗体では両群で陽性細胞を認めたが，糖尿病群に陽性細胞の発現率が高く，レクチン染色においては PNA，RCA<sub>120</sub>

において両群間で明確な染色性の差を認めた。これらの結果は持続的高血糖や血糖値の乱高下が細胞表面の糖鎖末端などに変化を及ぼし口腔粘膜上皮細胞分化過程に何らかの影響を与えたことが考えられ、このことがクロマチン凝集様物質の発現と関連している可能性が推察された。また、クロマチン凝集様物質は角化の強い細胞に比較して角化の弱い細胞に高い頻度で出現している傾向があり、角化の弱い細胞が血糖値の変動の影響を受けやすいことが推察された。以上のことから、本研究結果は侵襲性が少ない擦過細胞診を用いて2型糖尿病患者の口腔粘膜上皮を観察することにより糖尿病の補助的な病状判断基準として用いることができる可能性を示したものであり、歯科臨床の観点から口腔と全身疾患を結びつけ、今後の歯科医学の発展に寄与するものとする。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和2年1月23日