

論文の内容の要旨

氏名：田 村 隆 仁

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：S100A4 and S100A8 are involved in the pathogenesis of periapical granulomas
(S100A4 および S100A8 は歯根肉芽腫の病理発生に関与する)

歯根肉芽腫は、感染根管内の細菌が持続的に作用することにより、根尖周囲組織に生じる慢性炎症である。その治療法には感染根管治療が第一選択とされるが、処置が奏功せず抜歯となる場合もある。歯根肉芽腫の病態には様々な炎症メディエーターが関与していることが報告されているが、未だその病態の全てを解明するには至っていない。

カルシウム結合タンパクである S100 は、カルシウム結合ドメインを持つ低分子量タンパク質の総称であり、20 種類以上のサブクラスを有している。このうち S100A4 および S100A8 は様々な慢性炎症性疾患において血管内皮細胞やリンパ球などにおける interleukin (IL) -1 β , nuclear factor-kappa B (NF- κ B), IL-10 および tumor necrosis factor (TNF) - α の発現を亢進させることによって、炎症を増悪または抑制する働きがあると報告されている。一方、転写因子である NF- κ B は、細胞質内で I κ B と複合体を形成し不活性の状態で存在している。細胞外からの刺激に対応して、I κ B kinase が活性化され、I κ B がリン酸化されることにより、NF- κ B- I κ B 複合体が分離し、これにより NF- κ B の核内移行が可能となり、転写を活性化する。しかし、これらの分子群が、口腔内の慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫において、どのような役割を担っているのかという点についてはこれまで詳細には解析されていない。そこで本研究では、歯根肉芽腫の病態解明の一助とするため、これら分子の発現およびその相関性について検討した。

日本大学歯学部付属歯科病院に来院し、外科的歯内療法に適応と診断された患者 (n = 44) から根尖病巣組織を採取し、本研究に供試した。組織を二分割したのち、一方を用いてパラフィン切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) を行った。他方については、OCT コンパウンドを用いて凍結保存した。HE 染色の結果、歯根肉芽腫と診断された根尖病巣組織を用いて、抗ヒト S100A4 抗体を用いた酵素抗体法による免疫組織学的検索を行った。またコントロールとして埋伏抜歯に伴って採取された健常歯肉組織を、同様の方法で HE 染色ならびに免疫組織学的検索を行った。凍結した歯根肉芽腫および健常歯肉組織から total RNA を抽出し、相補的 DNA を作製したのち、ヒト S100A4, S100A8, IL-1 β , I κ B, IL-10 および TNF- α 特異的プライマーを用いて、real-time PCR を行った。得られた遺伝子発現量は、内部標準として検索した glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) の発現量を元にそれぞれ標準化した。歯根肉芽腫および健常歯肉組織におけるそれぞれの遺伝子発現量は、Mann-Whitney *U* test を用いて有意水準 0.05 で統計学的分析を行った。また、歯根肉芽腫における S100A4, S100A8 および炎症メディエーター間での遺伝子発現の相関性を検討するため、real-time PCR 法を用いて得られた各遺伝子発現量を基に、S100A4 に対する S100A8, IL-1 β , I κ B, IL-10 および TNF- α の相関性、および S100A8 に対する IL-1 β , I κ B, IL-10 および TNF- α の相関性を Pearson's correlation coefficient を用いて検討した。

HE 染色の結果、44 名の患者から採取した根尖病巣のうち 32 例は歯根肉芽腫、他の 12 例は歯根嚢胞と診断した。歯根肉芽腫を用いた免疫組織学的検索の結果、線維芽細胞、血管内皮細胞およびリンパ球に S100A4 陽性反応を認めたが、健常歯肉組織においては陽性細胞を検出できなかった。real-time PCR の結果、全ての歯根肉芽腫組織において S100A4, S100A8, IL-1 β , I κ B, IL-10 および TNF- α の遺伝子発現を確認することができた。また健常歯肉組織との比較において、これらの遺伝子発現量は、歯根肉芽腫において有意に高かった。歯根肉芽腫における標的遺伝子発現量の相関性を検索したところ、S100A4 遺伝子発現量と S100A8, IL-1 β および TNF- α 遺伝子発現量に有意な正の相関性を認めた。また、S100A8 遺伝子発現量も同様に IL-1 β および TNF- α 遺伝子発現量に有意な正の相関性を認めた。

以上の結果から、S100A4 と S100A8 は歯根肉芽腫における炎症性細胞に発現しており、S100A4 と S100A8 が相互に作用している可能性が示唆された。また、S100A4 と S100A8 は共に歯根肉芽腫の発症に重要な役割を有する IL-1 β および TNF- α と相互に作用し、歯根肉芽腫の病理発生に深く関与して

いる可能性が示唆された。