

ふりがな 氏名	いん すぐる 殷 傑
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	乙 第1658号
学位授与の日付	令和5年6月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項に該当
学位論文題目	The expression of amelogenin in oral cystic lesions （口腔領域の嚢胞性疾患におけるアメロジェニンの発現）
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第57巻 第1号 令和5年4月
論文調査委員	主査 富永 和也 教授 副査 井関 富雄 教授 副査 上村 守 教授

#### 論文内容要旨

エナメルマトリックステリバティブをラット背部に皮下注射すると好酸性円形小体（ERB）が形成される。そして、多量の ERB が形成されると軟骨を誘導する。先行研究では、ERB はアメロジェニン・エクソン5の一部であった。そこで、ERB と同じ配列をもつペプチド（SP）を人工的に作製してラット背部に皮下注射したところ、骨組織と軟骨内骨化とを誘導した。アメロジェニンは非常に多くの重要な役割を生体内で演じているので、アメロジェニンの一部である ERB も重要な役割を演じていると仮定した。そこで、ERB の機能を観察する目的で SP に対するマウスモノクローナル抗体（A-ERB）を作製した。A-ERB が歯原性上皮と反応することを期待して、口腔の嚢胞性疾患に対して A-ERB を用いた免疫組織化学的染色を本研究で行った。選択したのは7疾患で、歯根嚢胞、含歯性嚢胞、類皮嚢胞、類表皮嚢胞、正角化性歯原性嚢胞、歯原性角化嚢胞および単嚢胞性エナメル上皮腫である。線毛上皮化生の影響を避けるため、下顎あるいはその周囲の各3症例を観察対象とした。同じ症例に対して、anti-cytokeratin (CK) 14、19、anti- $\beta$  catenin ( $\beta$  cate) および anti-Ki-67 antigen (Ki-67) の各抗体を用いて染色を行った。

CK 14 は、7つの疾患の全例の上皮に発現していた。健常な口腔粘膜に対する CK 19 の発現には、研究者間で差がある。認識するエピトープの違いによって CK 19 の染色性が大きく異なるので、本研究では2種類の抗 CK 19 抗体を使用したところ、一方の抗 CK 19 抗体は、もう一方のものより多くの症例で陽性を示した。 $\beta$  cate は、7つの疾患の全例の上皮で発現しており、通常は上皮の細胞膜に発現しているが、より侵襲的な歯原性角化嚢胞や単嚢胞性エナメル上皮腫では上皮の細胞質に発現していた。Ki-67 陽性率は正角化性歯原性嚢胞において、他の疾患よりも高かった。A-ERB を用いてラット歯周組織に免疫組織化学的染色を行うと、エナメル芽細胞、歯肉上皮の基底細胞および Malassez の残存上皮が陽性を示した。ERB 陽性を示したのは、含歯性嚢胞の1例、類皮嚢胞の3例、正角化性歯原性嚢胞の1例および単嚢胞性エナメル上皮腫の2例のみであった。ERB は類皮嚢胞の裏装上皮の基

底細胞に発現していたが、類表皮嚢胞の裏層上皮には発現していなかった。換言すると、皮膚付属器を持つ表皮に ERB は発現したが、皮膚付属器を持たない表皮に ERB は発現しなかった。類皮嚢胞と類表皮嚢胞とは、同種の病変として、現在は分類されているが、両嚢胞の裏装上皮の性格が異なっていたので、両嚢胞は異なるカテゴリーである可能性が示唆された。

### 論文審査結果要旨

アメロジェニン、エナメル芽細胞が歯の形成期に分泌し、歯冠エナメル質のみならず、歯根セメント質の形成にも関与する。これを利用した歯周病の先進医療法として、エナメルマトリックスデリバティブ (EMD) が用いられている。EMD を用いた講座の先行研究において、アメロジェニン・エクソン 5 の一部を抗原にしたマウスモノクローナル抗体を作製している。歯原性上皮がアメロジェニンを発現するので、A-ERB が、歯原性上皮の新しいマーカーになることを期待して、口腔領域に発生する嚢胞性疾患、すなわち、歯根嚢胞、含菌性嚢胞、類皮嚢胞、類表皮嚢胞、正角化性歯原性嚢胞、歯原性角化嚢胞および単嚢胞性エナメル上皮腫の 7 疾患に対して、A-ERB を一次抗体とした免疫組織学染色 (免疫染色) を実施し、同時に歯原性上皮のマーカーとされている既存の抗体の反応も観察している。

その結果、コントロールとしてのラット下顎では、エナメル芽細胞、歯肉上皮の基底細胞および Malassez の残存上皮が A-ERB 陽性を示したこと、嚢胞性疾患で A-ERB 陽性を示したのは、含菌性嚢胞の 1 例、類皮嚢胞の 3 例、正角化性歯原性嚢胞の 1 例および単嚢胞性エナメル上皮腫の 2 例のみであったこと、7 つの疾患の全例の上皮に CK 14 が発現していたこと、2 種類の抗 CK 19 抗体を使用したところ、一方の抗 CK 19 抗体は、もう一方のものより多くの症例で陽性を示したこと、7 つの疾患の全例の上皮で  $\beta$  catenine が発現しており、通常は上皮の細胞膜に発現しているが、より侵襲的な歯原性角化嚢胞や単嚢胞性エナメル上皮腫では上皮の細胞質に発現していたこと、Ki-67 陽性率は正角化性歯原性嚢胞において、他の疾患よりも高かったことを明らかにした。

以上、作製した新規マウスモノクローナル抗体 A-ERB を用いて 7 種類の嚢胞性疾患に免疫組織学的染色を施し、それらの上皮におけるアメロジェニン発現の有無を証明した点において、本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。

なお、外国語 1 か国語 (英語) について試問を行った結果、合格と認定した。