

論文の内容の要旨

氏名：井上大輔

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Tissue Injury-induced Reactive Oxygen Species Cause Dysfunction of Parotid Acinar Cells via Erk-novel PKC Activation

（組織傷害で発生する活性酸素による Erk-novel PKC 経路を介した耳下腺腺房細胞の機能低下）

頭頸部の放射線照射や自己免疫疾患などの慢性炎症により唾液腺に組織傷害が起こると、唾液分泌が低下し、口腔乾燥症が引き起こされる。口腔乾燥症が起こると口腔内の衛生状態が悪化し、重度の齲蝕や歯周疾患が起こるばかりでなく、嚥下や咀嚼などの摂食障害が引き起こされ、患者のQOLは著しく低下する。したがって、唾液分泌機能の維持および再生は、歯科領域において重要な課題と考えられる。本研究では、口腔乾燥症の予防および治療開発を目指し、唾液腺の機能低下過程についての分子機構の解析を行った。

唾液腺から腺房細胞を単離し初代培養を行うと、時間とともに腺房細胞としての性質を失っていくことがわかっている。腺房細胞単離の際に行う酵素処理により、組織傷害が起こっていると考えられ、機能低下は組織傷害に対する応答であると予想される。機能を失っていく過程で、腺房細胞はその遺伝子発現パターンを変化させ、唾液タンパク質であるアミラーゼの合成量が低下し分泌顆粒を失うなど、未分化な状態に近づいていく。ラット頭頸部への放射線照射により唾液分泌低下が起こるが、その際、初代培養細胞と類似した遺伝子発現変化がみられることから、組織傷害時に共通の反応であることが予測される。初代培養における唾液腺細胞の機能低下は、Srcやp38 MAPキナーゼに対する阻害薬によって抑制されるため、これらのキナーゼによるシグナル伝達が細胞の脱分化を引き起こすと考えられる。つまり、組織傷害によって誘導される脱分化シグナルは、未分化に近い状態に戻ることによって生き延びるための、本来細胞が持っているサバイバルプログラムと予想される。

本研究では、これまでに報告された Src-p38 MAPキナーゼ経路以外にも脱分化を誘導するシグナル伝達経路があることが予想されたため、唾液腺細胞の機能低下の抑制を指標に検討を行うことにした。細胞内シグナル伝達に関わるキナーゼに対する阻害剤存在下で初代培養を行い、細胞内アミラーゼ量および分泌顆粒の数の変化を調べた。さらに、脱分化シグナル経路に関わる分子の候補として、PKCおよびErkのリン酸化量の変化をウエスタンブロット解析により調べた。

その結果、耳下腺腺房細胞の初代培養細胞において、

1. ErkおよびPKCの活性を阻害することにより、アミラーゼ量の減少が抑制された。
2. PKC阻害剤の添加により、分泌顆粒の減少が抑制された。
3. 時間依存的にリン酸化された novel PKCが増加していたが、総タンパク質量に変化は無かったことから、novel PKCの活性化が亢進していると考えられた。
4. Erkに対する阻害薬により novel PKCの活性化が抑えられたが、novel PKCに対する阻害剤では Erkの活性化は抑制されなかった。したがって、Erkの活性化が novel PKCの活性化に必要なと考えられた。
5. 活性酸素の産生に係わる NADPH オキシダーゼに対する阻害薬である Diphenyleneiodonium の添加により Erkの活性化が抑制された。

以上のことから、組織傷害時に発生する活性酸素が、Erk-novel PKCシグナル伝達経路を介して、耳下腺腺房細胞の機能低下を引き起こしていると考えられる。今回新たに見いだされた脱分化シグナル伝達経路を抑制することによって、組織傷害によって誘導される唾液分泌機能の低下を抑制出来る可能性があり、口腔乾燥症の予防や治療法の開発に貢献するものと期待される。