

論文審査の結果の要旨

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）

審査委員：（主査）教授 小方 頼昌
（副査）教授 松島 潔
（副査）教授 吉垣 純子

唾液は口腔内の健康を維持するために重要な体液であり、唾液分泌が低下すると口腔内衛生の悪化により、重篤なう蝕や歯周疾患、口腔粘膜の感染症が引き起こされる。さらに、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。シェーグレン症候群の様な慢性炎症や頭頸部癌に対する放射線治療により唾液腺組織に傷害が生じると、唾液分泌能が低下し口腔乾燥症が引き起こされる。唾液腺の機能低下過程における分子機構を調べることは、口腔乾燥症の予防および治療法の開発に有用であると考えられる。

唾液腺腺房細胞の初代培養を行うと、時間とともに腺房細胞としての形態や性質を失っていくことが以前報告されている。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。キナーゼ阻害剤存在下で初代培養を行い、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、唾液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 の活性化に必要であると考えられた。
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活性化して、唾液腺腺房細胞の脱分化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腺の機能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。

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

平成26年7月17日