

論文の内容の要旨

氏名：森 山 聖 子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Enhancement of Src family kinase activity is essential for p38 MAP kinase-mediated dedifferentiation signal of parotid acinar cells

(p38 MAP キナーゼを介した耳下腺腺房細胞の脱分化シグナルへの Src ファミリーキナーゼの活性上昇の関与)

唾液腺の分泌機能が低下すると、唾液による洗浄作用が失われるために重度の齲蝕や歯周疾患が引き起こされる。そればかりではなく、咀嚼や嚥下などの摂食機能も障害されるため、全身の健康維持にも悪影響を及ぼす。特に誤嚥性肺炎は高齢者や要介護者にとって大きな問題となっているが、唾液分泌の低下による口腔内衛生の悪化が肺炎のリスクを上昇させる。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れば、唾液を産生する腺房細胞が減少、または萎縮するために唾液分泌機能が低下すると考えられている。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目指した。

唾液腺の機能低下機構を解析するモデルとして、耳下腺腺房細胞の初代培養系が利用できる。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い機能低下していくことがわかっている。腺房細胞を単離する過程で行う酵素処理により、組織傷害が起こればと考えられ、機能低下は組織傷害に対する応答の結果であると考えられる。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る。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一方で、本来導管細胞に特異的に発現しているはずの claudin-4 の発現がみられるようになる。しかし、導管細胞の機能として重要な NaCl 再吸収に必要な ENac の発現はみられず、未分化な導管細胞に近づいていると考えられる。

腺房細胞の機能低下は、Src ファミリーキナーゼ (SFK) や p38 MAP キナーゼ (MAPK) に対する阻害薬によって抑制される。また、腺房細胞の単離過程により p38 MAPK の活性上昇が観察され、その活性上昇も SFK 阻害剤により抑制されることもわかっている。したがって、SFK-p38 MAPK を介するシグナル伝達経路が細胞の脱分化を引き起こすと考えられた。SFK が活性化する際には、SFK で共通に存在するキナーゼドメインのチロシンリン酸化および C 末端のチロシンの脱リン酸化が起こればと言われている。しかし、イムノブロット解析ではリン酸化チロシンの量の変化は検出されなかったため、p38 MAPK の活性化には組織障害が起これる前の SFK 活性で十分であり、活性上昇は必要がない可能性も考えられた。

そこで本研究では、耳下腺腺房細胞の機能低下を誘導するシグナル伝達経路を同定するために、SFK 活性の制御機構を解析した。SFK に特異的な基質ペプチドへのリン酸化を検出することによって、直接 SFK 活性の変化を測定することにした。さらに、SFK 活性を誘導する因子として活性酸素の役割について解析を行った。その結果、

1. 耳下腺から腺房細胞を単離する過程により SFK の活性上昇がみとめられ、培養 2 時間後まで活性が維持されていた。
2. NADPH オキシダーゼ阻害剤である Diphenyleneiodonium (DPI)により活性酸素の発生を阻害すると SFK 活性の上昇が抑えられた。
3. SFK メンバーの Src および Yes は細胞単離前から活性がみられたが、単離過程によって活性の上昇がみられた。一方、Frk は細胞単離前にはほとんど活性がみられず、単離直後も活性は変わらなかった。しかし、培養 1 日目に活性の上昇がみられ、Frk タンパク質の発現量の変化と対応していた。
4. 細胞単離過程によって引き起こされる p38 MAP キナーゼの活性上昇は DPI の添加によって抑制され

た。

5. 耳下腺腺房細胞の脱分化の指標である claudin-4 の発現も DPI の添加によって抑制された。

以上のことから、組織傷害時に発生する活性酸素が、SFK の活性化を誘導し、SFK の活性上昇が p38 MAPK を介した脱分化シグナルに必須であると考えられた。唾液腺腺房細胞の機能を低下させる脱分化シグナル伝達経路を抑制することによって、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。