

論文審査の結果の要旨

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)

審査委員：(主査) 日本大学教授 歯学博士 小方 頼昌

(副査) 日本大学教授 歯学博士 松島 潔

日本大学教授 博士（理学） 吉垣 純子

唾液は口腔内衛生を維持するために重要な役割を果たしている。頭頸部癌治療としての放射線照射やシェーグレン症候群を代表とする自己免疫疾患が唾液腺の組織障害を引き起こし、分泌機能の低下につながると考えられている。唾液分泌量の低下は、口腔内衛生の悪化をもたらし、齲蝕や歯周疾患、口腔粘膜感染症の原因となる。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。特に嚥下機能低下による食物残渣の増加や唾液の洗浄作用の低下による口腔内衛生の悪化は、高齢者や要介護者の誤嚥性肺炎のリスクを上昇させる。したがって、唾液分泌機能の維持・再生は、歯科領域に止まらず、全身の健康維持の為に重要な課題であると考えられる。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用いられている。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、組織傷害としてのストレスシグナルが誘導されていると考えられ、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、導管細胞の機能に必要な ENac の発現はみられず、未分化な状態の導管細胞に近づいていると予想される。

先行研究の結果から、SFK 活性は唾液腺腺房細胞の脱分化シグナルの誘導に必要であることは明らかである。しかし、SFK 活性の変化について、活性に影響を与えるチロシンのリン酸化量をイムノブロット解析で測定したが、変化がみられなかったことから、活性上昇は脱分化シグナルに必ずしも必要ではない可能性も考えられた。この点は、組織障害がどのような経路で脱分化シグナルを誘導するかを決定する上で重要であると考えられる。

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。

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 27 年 11 月 26 日