

論文の内容の要旨

氏名：吉田 清美

博士の専攻分野の名称：博士 (歯学)

論文題名：Dec1 DEFICIENCY RESTORES THE AGE-RELATED DYSFUNCTIONS OF SUBMANDIBULAR GLANDS

(Dec1 欠損は顎下腺の加齢に伴う機能障害を回復させる)

唾液は口腔ホメオスタシスの維持に欠かせないものであり、唾液腺は口腔粘膜のバリア特性に関与している。唾液腺の機能低下は、唾液流量の減少に関連する唾液腺の萎縮として特徴づけられる。老化は唾液とその成分の分泌を変化させる。加齢に伴う唾液機能障害は、分泌または総タンパク質合成の低下と組み合わせられることがよくある。老化に影響を与える要因を特定することは、予防戦略を開発するためのより多くの洞察を提供する可能性がある。

唾液腺機能の低下とそれに続く老化を含む多くの生理学的および病理学的変化は、唾液腺機能低下を引き起こし、腺房細胞に損傷を与える。耳下腺は主に漿液性分泌物を産生しますが、顎下腺 (SMG) は漿液性分泌物と粘性分泌物の混合に関与する。高齢者は SMG 分泌の低下を示す。SMG の老化は、腺房の減少と管のわずかな変化を伴う結合組織と脂肪組織の同程度の数の増加を引き起こす。酸化ストレスの発生は老化の隠れた危険因子であり、酸化促進剤の減少と抗酸化物質の増加を緩和することで寿命を延ばすことができる。したがって、高齢者は唾液分泌機能障害につながる酸化的損傷を示す可能性がある。炎症の増加 (CCL-17 および CCL-22) とその結果としての活性酸素種 (ROS) (8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG)) の増加は、多くの慢性疾患を引き起こし、老化プロセスを刺激する可能性がある。

加齢に伴う唾液腺線維症および腺房萎縮は、唾液機能障害の結果としての唾液の流れの減少と関連している。ヒト唾液腺の加齢に伴う組織学的変化は、腺房の萎縮から始まり、線維性および脂肪性の腺実質の置換をもたらす。唾液腺への単核炎症細胞の浸潤の変化を拡散させる焦点は、老化の間に起こる。細胞外マトリックスの中で最も豊富なタンパク質である I 型コラーゲンは、フィブリル構造に広く分散している。マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) インデュースーは、老化中の協調的な細胞外マトリックスのリモデリングを調節する。MMP-2 は、正常な形態形成、創傷治癒、組織工学、および病理学的血管新生に関与している。

加齢による唾液腺機能障害の修復は、高齢者の生活の質を改善するために極めて重要である。コアクロック遺伝子である CLOCK の発現は、腺房細胞の核と唾液管の上皮細胞で検出された。もう 1 つの時計遺伝子は転写因子 Dec1 (分化した胚軟骨細胞発現遺伝子 1、Stra13 / BHLHE40 / Sharp-2 / Bhlhb2 と呼ばれる) であり、これは細胞老化の調節に不可欠である。メタボリックシンドローム、糖尿病などの一連の全身性疾患は、概日リズム障害の誘発に関連している。したがって、Dec1 は、生理的リズムの維持と健康的な老化において基本的な役割を果たす。Dec1 は *in vivo* での細胞老化のマーカーとして広く使用されており、Dec1 によって誘発される細胞老化も *in vitro* で報告されている。加齢に関連する分子概日時計機能障害は、さまざまな臓器で十分に特徴付けられていない。しかし、それは老化プロセスの概念にとって非常に重要である。生理時計は、水チャネルタンパク質であるアクアポリン (AQP) -5、およびサイトカイン/ケモカインの発現も調節する。また、シェーグレン症候群の患者は、AQP-5 の生理学的機能の障害により唾液分泌低下を示す。SMG で発現する Dec1 と AQP-5 のダイナミクスの解明は、口腔生理学的環境における SMG の生物学の変化を結び付け、老化の病因の説明を提供することが期待される。さらに、老化と細胞老化の生理学的変化は、これらのプロセスにおける潜在的な予後および診断バイオマーカーとしてマイクロ RNA (miRNA) を調節する。

本研究で若い (3 か月齢) および高齢者 (24 か月齢) の野生型 (WT) と Dec1KO マウスを用いてヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色、マッソントリクローム染色、免疫組織化学、免疫蛍光抗体法、および定量的リアルタイム PCR で顎下腺 (SMG) における老化制御機構解析の実験をした。MicroRNA (miRNA) の発現プロファイルは、Mouse8x60K アレイを備えた Agilent システムを使用した。免疫組織化学的分析により、酸化ストレス応答 (8-OHdG) の増加、線維芽細胞およびコラーゲン線維を伴う I 型コラーゲンの発現レベルの増加、老化した WT マウスの SMG に浸潤する CCL-22 陽性リンパ球の存在が明らかになった。

また、老化 SMG における線維症関連遺伝子 (MMP-2) の発現の増強を示した。水チャネルタンパク質アポリン-5 (AQP5) は、若い SMG 腺房の基底細胞質領域で発現したが、老化 SMG では発現低下を示した。筋上皮細胞マーカー (p63 および α -SMA) も老化 SMG で減少した。定量的リアルタイム PCR により、高齢の WT マウスにおける AQP5 mRNA 発現レベルの低下と *Dec1* mRNA 発現レベルの上昇が明らかになった。これらの特性はすべて、老化した *Dec1* KO マウスで減弱した。若い WT マウスと *Dec1* KO マウスの間に明らかな違いはなかった。miR-181c-5p、miR-141-3p、miR-374c-5p、および miR-466i-3p は、老齢マウスの SMG 機能障害に関与する *Dec1* および AQP5 遺伝子の調節標的として提案されている。*Dec1* 欠損は、SMG の加齢による機能低下を軽減する可能性があり、SMG の健康を維持するのに関与することが示唆される。

このような多様に発現する miRNA のその後の活性化は、SMG の加齢に伴う変化の性質を明らかにする上で非常に重要である。本研究は、組織学的分析と組み合わせて miRNA マイクロアレイプラットフォームを使用した現在の調査結果は、SMG の老化に関与する新しい調節 miRNA ネットワークを特定した。これらの差次的に発現する miRNA の推定上の役割は、SMG の老化における *Dec1* の重要な役割と、口腔および全身の健康における恒常性の認識にかなりの光を当てるのに役立つ可能性がある。