

## 論文審査の結果の要旨

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)

審査委員：(主査) 教授 吉垣 純子

(副査) 教授 松島 潔

教授 山口 秀紀

唾液は口腔の恒常性維持において重要な役割を果たす体液である。唾液分泌機能が低下すると、唾液による洗浄作用が失われ、重度の齲蝕や歯周疾患の原因になる。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、低栄養など全身の健康維持にも悪影響を及ぼす。特に近年、誤嚥性肺炎が増加し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は肺炎のリスクを上昇させる。加齢に伴い安静時唾液の分泌が低下することが知られているが、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。

転写因子 Differentiated embryo-chondrocyte expressed gene 1 (Dec1) は、概日リズム調節に関わる時計遺伝子の1つとして報告された。時計遺伝子群は概日リズムの形成だけでなく、細胞老化やメタボリックシンドローム、癌の発症など、様々な生命現象に関わると考えられている。Dec1 も *in vivo* での細胞老化のマーカーとして使用されており、Dec1 によって *in vitro* における細胞老化が誘発されることが報告されている。したがって、Dec1 の様々な細胞における恒常的日内発現の維持は、生理的リズムの維持と健康的な老化において重要な役割を果たすと予想される。しかし、時計遺伝子の加齢に及ぼす影響は、臓器毎に異なると予想されているが、解析は十分に行われていない。老化に影響を与える要因を特定し分子機序を明らかにすることが、老化による機能低下を予防するために必要である。本研究は、Dec1 の唾液腺の加齢における役割を明らかにするために、Dec1 欠損が顎下腺に与える影響を解析したものである。

3 か月齢および24 か月齢の野生型 (WT) と Dec1 KO マウスを用いて、ヘマトキシリン・エオジン染色、マッソントリクローム染色、免疫組織化学染色、免疫蛍光抗体法、および定量的リアルタイム PCR を行い、顎下腺の老化における遺伝子・タンパク質の発現変化を解析した。マイクロ RNA (miRNA) は mRNA を制御することで様々な生命現象に関わるが、老化においても多くの miRNA が関与していることが明らかになっている。そこで、顎下腺の老化および Dec1 の欠損による miRNA の発現プロファイル解析を Mouse 8×60K アレイ (Agilent) を用いて行った。また、その標的遺伝子を TargetScan, miRDB 等のデータベースを利用して抽出した。

免疫組織化学的解析により、老化に伴い、DNA 酸化損傷マーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine の増加、線維化のマーカーである結合線維・I 型コラーゲンの増加、C-C Motif Chemokine Ligand-22 陽性細胞の増加、線維症関連遺伝子である Matrix metalloproteinase-2 の発現増強が示された。一方、AQP5 は3 か月齢の顎下腺腺房の腺腔膜にみられたが、老化顎下腺では発現が低下した。筋上皮細胞マーカーである p63 および  $\alpha$ -smooth muscle actin も老化顎下腺で減少した。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。Dec1 KO マウスでは加齢によるこれらの発現変化が抑制されていた。3 か月齢における WT マウスと Dec1KO マウス間に明らかな違いはみられなかった。miRNA 発現解析により、加齢により WT および Dec1 KO マウスで発現変動した miRNA および 24 か月齢の WT マウスと Dec1 KO マウス間で発現量が異なる miRNA を抽出した。そのうち、WT マウスで加齢により増加した miR-181c-5p および miR-141-3p は、Dec1 が標的遺伝子候補として抽出された。したがって、加齢における Dec1 の発現低下に関わる可能性がある。

これらの結果から、Dec1 欠損は顎下腺の加齢による機能低下を軽減する可能性があることが示された。また、顎下腺の老化に関与する miRNA 群を解析し、Dec1 の発現抑制に関わる可能性のある miRNA を同定した。本研究は、顎下腺の老化における Dec1 の役割を明らかにしたものであり、口腔および全身の加齢による機能低下に対する予防戦略において、新たな分子機序および展開を示している。

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

令和 4年 1月 27日