

日時：9月7日（日）9:00-9:50

会場：E会場（会議場2階 22会議室）

座長：吉田 竜介（岡大 院医歯薬 口腔生理）

一般演題（口演）唾液腺（03-AM-E1～5）

03-AM-E1 「顎下腺・舌下腺摘出後のラット耳下腺筋上皮細胞突起の伸長」

小野澤 豪^{1,2}、長坂 新¹、坂東 康彦¹、藤井 みゆき¹、鈴木 海登^{1,2}、天野 修¹
 （¹明海大 歯 組織、²明海大 歯 口腔顎顔面外科）

唾液腺の筋上皮細胞は、腺房型と導管型に分けられ腺房細胞による原唾液の分泌と導管部での唾液輸送を補助すると考えられている。唾液腺切除により、残存唾液腺組織では腺房型筋上皮細胞の突起の身長や肥大化、分岐の増大などの形態的变化が生じ唾液分泌の代償的亢進に関わることがわかってきた。ラット耳下腺には腺房型筋上皮細胞は存在せず、介在部導管に導管型のみが存在する。本研究では、導管型筋上皮細胞の代償性変化を調べる目的で顎下腺・舌下腺を全摘出後の耳下腺における変化を免疫組織化学的に調べた。8週齢Wistar系雄ラットを用い、両側顎下腺・舌下腺を摘出、2、4、8週後に灌流固定を行い両側耳下腺を摘出した。その後20μmの凍結切片を作成し筋上皮細胞

マーカーαSMA抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った。さらに共焦点レーザー走査型顕微鏡で断層撮影し、三次元的解析を行った。摘出後2週でαSMA陽性の介在部導管型筋上皮細胞の突起がわずかに腺房周囲にまで伸びており、4週では介在部導管と腺房の表面をさらに長く取り囲む様に認められ、8週ではさらに顕著に認められた。腺房には筋上皮細胞の細胞体は認められなかったため、介在部の導管型筋上皮細胞の突起が伸びたものと考えられた。以上の結果から、唾液腺組織の減少による耳下腺からの唾液分泌を亢進するため、介在部導管型筋上皮細胞の突起が腺房まで伸び、腺房部での唾液分泌の増大にも寄与すると考えられた。

03-AM-E2 「唾液腺線維芽細胞のヘパラン硫酸鎖は唾液腺の発生と再生に関与する」

宇佐美 悠^{1,2}、寺本 朱里^{1,3,4}、Li-Jie Li^{1,5}、廣瀬 勝俊^{1,2}、豊澤 悟¹
 （¹阪大 院歯 口腔病理、²阪大 感染症総合教育研究拠点、³済生会吹田病院 口外、⁴阪大 院歯 口外2、⁵台湾台北医学大学 歯学研究科）

唾液腺の発生には、腺房細胞や導管細胞に分化する上皮細胞と、周囲の間質細胞とが発現する成長因子とその受容体を介した相互作用が重要である。これらの成長因子に共通する特徴の一つとして、ヘパラン硫酸プロテオグリカンのヘパラン硫酸鎖（Heparan sulphate chain: HS鎖）への結合能が挙げられる。これらの成長因子は細胞表面のHS鎖に結合した状態で、細胞周囲に局在することにより受容体に結合し、機能する。本研究では、タモキシフェン依存性かつ線維芽細胞特異的にHS鎖を欠損するCol1a2CreER; Ext1K0マウス（Ext1K0マウス）を用いて、線維芽細胞の有するHS鎖の欠失が唾液腺の発生と再生に及ぼす影響を解析した。まず、顎下腺の発生過程を解析したところ、野

生型マウスと比較してEXT1K0マウスの胎生期顎下腺では、クレフトにより形成されたend budの腺管形成が遅延していた。細胞増殖活性を検討したところ、野生型マウスと比較してEXT1K0マウスのend budで細胞増殖活性が低下していた。次に、顎下腺導管結紮開放モデルを用いて顎下腺の再生過程を解析した。導管結紮解除後に再生した野生型マウスおよびEXT1K0マウスの顎下腺を解析したところ、EXT1K0マウスの再生顎下腺では、野生型マウスの顎下腺と比べて、腺房が小型で、唾液量の減少が認められた。以上のことから、線維芽細胞のHSCは唾液腺の発生と再生における腺房形成に重要であることが明らかとなった。

03-AM-E3 「Cdc42 は、アクチン -FoxO1-VAMP2 シグナル伝達経路を介して唾液腺の腺腔側膜形成を調節する」

設楽 彰子¹、長瀬 春奈²、大野 雄太²、片岡 嗣雄¹、佐藤 慶太郎²、柏俣 正典³
(¹朝日大 歯 生物、²朝日大 歯 薬理、³朝日大 歯 基礎教育)

外分泌を担う唾液腺腺房細胞では、多数の膜タンパク質が腺腔側膜に局在し、その極性分布は厳密に制御された小胞輸送により維持されている。低分子量GTPaseであるCdc42は小胞輸送や極性形成に関与するが、その生理的役割は完全には解明されていない。本研究は、マウス唾液腺をモデルとして、Cdc42による膜輸送と極性形成の分子機構を解明することを目的とした。

唾液腺腺房細胞特異的Cdc42コンディショナルノックアウトマウスでは腺腔形成不全が観察され、腺腔側膜タンパク質AQP5と輸送関連タンパク質Rab11Aが細胞質内に異所的に蓄積した。一方、基底側膜タンパク質NKCC1の局在には影響がなかった。これは、Cdc42が腺腔側方向への輸送を選択的に制御することを示してい

る。

分子レベルでの解析により、Cdc42欠損は小胞の膜融合に関わるVAMP2の発現減少をもたらした。*in silico*解析により、VAMP2プロモーターには転写因子FoxO1の典型的な結合モチーフが同定され、Cdc42欠損はFoxO1の核排除を引き起こすことが明らかになった。さらに、定量解析ではF-アクチンレベルが著しく低下し、Cdc42がアクチン細胞骨格を通じてFoxO1の核局在を調節することが示唆された。一方、PI3K-Aktシグナル伝達経路は影響を受けなかった。

本研究から、小胞輸送と遺伝子発現を統合し、極性を維持する新規シグナル伝達経路、Cdc42-アクチン-FoxO1-VAMP2調節経路が明らかになった。

03-AM-E4 「加齢および自己免疫疾患に起因する唾液腺の線維化・リンパ球集積に対する上皮間葉転換 (EMT)・partial EMT の関与」

四釜 洋介¹、吉田 佳世¹、大塚 邦紘²、石丸 直澄³
(¹長寿セ 口腔疾患研究、²徳大 院医歯薬 口腔病理、³科学大 院医歯 口腔病理)

【背景・目的】EMTは臓器形成、組織修復時にみられる他、組織の線維化、がんの浸潤や転移に関与している。近年細胞老化により誘導されるEMTが様々な疾患の病態形成に関与していることが報告されている。本研究の目的は、我々が樹立したマウス唾液腺上皮初代培養細胞、および老齢マウスやシェーグレン症候群(SS)モデルマウスを用い、EMTと唾液腺病態の関連性を明らかにすることである。

【材料と方法】3週齢C57BL/6Nマウスから唾液腺を摘出し、gentle MACS Dissociatorにより分散した。その後抗EpCAM抗体結合磁気ビーズを用い上皮細胞を単離し、培養した。この細胞はヘテロな細胞集団(腺房・導管上皮細胞)であることを確認している。老齢マウ

ス・SSモデル(NFS/sld)マウス唾液腺は免疫組織化学染色法を用い解析した。

【結果】唾液腺上皮細胞を複製老化させたところ、老化マーカーの発現増加とともにpartial EMTマーカー(TWIST1)およびEMTマーカー(Vimentin)発現が増加した。分泌形質の変化をPCRアレイで解析した結果、SPARC(オステオネクチン)が顕著に発現変化していることを見出した。組織学的解析からも、加齢・SSモデルでのTWIST1およびSPARC発現増加を確認した。

【結論】加齢やSSに起因する線維化・リンパ球集積に細胞老化やEMTを介した分泌形質の変化が関与する可能性が示唆された。

03-AM-E5 「TGF β 2-Driven Iron Dysregulation and Ferroptosis in Salivary Glands Trigger Hyposalivation Under Postmenopausal Conditions」

Hyung-Sik Kim

(Department of Oral Biochemistry; Dental and Life Science Institute, School of Dentistry, Pusan National University)

Xerostomia, also known as dry mouth, is a salivary gland (SG) dysfunction characterized by reduced saliva secretion. Despite the high incidence of dry mouth in postmenopausal women, the underlying mechanisms and potential therapeutic interventions are less understood. In this study, using ovariectomized (OVX) mouse models, we identify ferroptosis as a central mechanism driving postmenopausal SG dysfunction. In OVX-SGs, the TGF β signaling pathway is enhanced due to aberrant TGF β 2 expression in SG mesenchymal cells. Interestingly, treatment with TGF β 2 reduces iron-storing ferritin

levels, leading to lipid peroxidation and ferroptotic death in SG epithelial organoids (SGOs). TGF β 2 promotes autophagy-mediated ferritin degradation, known as ferritinophagy. A significant overexpression of the type III TGF β receptor (TGF β RIII) is observed in OVX-SGs and TGF β 2-treated SGOs. Finally, the administration of the ferroptosis inhibitor, Liproxistatin-1 (Lip-1), improves saliva secretion in OVX mice. These findings suggest a critical link between TGF β signaling, ferroptosis, and SG injury, offering new therapeutic avenues for treating postmenopausal xerostomia.