

## ■アップデートシンポジウム 5 (US5)

日時：9月6日(土) 9:00～10:30

会場：B会場(会議場1階 11会議室)

座長：佐藤 慶太郎(朝日大 歯 薬理)

近藤 祐介(九歯大 口腔再建補綴)

## 「唾液腺、涙腺、膵臓研究者が織りなす外分泌腺研究の新シナジー」

9:00～9:02

オーバービュー 座長

9:02～9:24

## US5-1 「唾液腺研究で得た知見と未来への展望」

宗政 翔<sup>1</sup>、野代 知孝<sup>1</sup>、向坊 太郎<sup>1</sup>、近藤 祐介<sup>1</sup>、正木 千尋<sup>1</sup><sup>1</sup>九歯大 口腔再建補綴

さまざまな原因で発症する口腔乾燥症は、高齢社会の進展により患者数が増加しており、カリエスリスクの増大や歯周病の増悪、義歯の維持困難など歯科治療のリスクとなるため治療法の確立が急がれている。当分野唾液腺研究グループでは、血流量や中枢神経作用の影響を排除して腺レベルでの解析を直接検証できる ex vivo 唾液腺灌流実験を基軸として研究を進めており、老化促進モデルマウス(SAM)や2型糖尿病モデル(KK-Ay)マウスなどのモデル動物を用いて口腔乾燥症が歯科治療に与える影響や発症メカニズムの解明を目指すとともに、治療法を模索している。

SAMを用いた研究では、加齢により顎下腺からの唾液分泌量が減少し、細胞老化や慢性炎症、水チャネルAquaporin 5の遺伝子発現が低下した。さらに、老齡

マウスでは、舌下腺唾液の曳糸性が減少した。一方、漢方薬人参養栄湯をSAMに慢性投与することで顎下腺からの唾液分泌量が増加し、唾液腺の免疫賦活化が示唆された。

KK-Ayマウスを用いた研究では、ムスカリン性刺激による唾液分泌量が糖尿病の増悪に伴い減少し、その一因が腺房細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇の抑制であることが示された。これに対し、抗vascular endothelial growth factor (VEGF)抗体を腹腔内投与することで糖尿病により減少した唾液分泌量が約40%増加することが明らかとなった。現在は、その効果を高めるため、漢方薬丹参との併用療法を検討している。

今後は、基礎研究を推進していくと同時に、得られた知見を臨床研究に応用したいと考えている。

09:24～09:46

## US5-2 「耳下腺分泌顆粒の成熟機構を探る」

加藤 治<sup>1</sup>、横山 愛<sup>1</sup>、吉垣 純子<sup>1</sup><sup>1</sup>日大松戸歯 生理

三大唾液腺の一つである耳下腺の腺房細胞には消化酵素であるアミラーゼを含んだ分泌顆粒が充満している。分泌顆粒はゴルジ体で生成され分泌開口放出するまでの間に大きく変化する。このため成熟度の異なる分泌顆粒を比重で分離することが可能となっている。しかしながら成熟度の低い顆粒はごくわずかしかな分離できないため、成熟機構の詳細は不明なことが多い。我々はラットにβ刺激薬を投与し、開口放出の後、新規に生成される分泌顆粒を分離するというアプローチで成熟機構の検討を行った。精製された顆粒は時間経過とともに大きさを増し、顆粒膜にはVAMP2が濃縮した。VAMP2は開口放出に関与するため成熟度と分泌能について検討したが、新規生成顆粒はすでに分泌能を

獲得しており、成熟顆粒よりも応答性が高い可能性があった。つぎに成熟顆粒にはVAMP2が、新規生成顆粒にはシンタキシン6が豊富という膜組成の違いに再注目し、そのメカニズムを検討するため精製顆粒から膜ドメインの分離を行った。すると新規生成顆粒の膜上では1つの膜ドメインに局在していたシンタキシン6とVAMP2が、成熟に伴い別々の膜ドメイン画分に分離された。これらの結果は成熟過程に伴う膜タンパク質の変化は顆粒膜の膜ドメインにより制御され、それは分泌能の獲得のためではない他の役割を示唆している。本講演ではこれまでの研究成果を総括し、耳下腺分泌顆粒が成熟することの意義について考えたい。

09:46 ~ 10:08

US5-3 「*Ex vivo* オルガンバスシステムを用いた膵臓の内外分泌関連における単糖類の影響」大内 基司<sup>1,2</sup>、森田 亜須可<sup>2</sup>、小林 俊介<sup>3</sup>、佐藤 慶太郎<sup>4</sup>、藤田 朋恵<sup>2</sup>(<sup>1</sup>千葉大 院看 健康増進、<sup>2</sup>獨医大 医 薬理、<sup>3</sup>日医大 医 内分泌糖尿病代謝、<sup>4</sup>朝日大 歯 薬理)

膵臓は、唾液腺と同様に消化酵素を合成・分泌する腺房細胞を有している。膵臓においては、ホルモン分泌を行う内分泌腺と、アミラーゼ (Amy) をはじめとした消化酵素を分泌する外分泌腺が存在する。我々はインスリン (Ins) 分泌の関連因子を検索するため、マグヌス管を用いて齧歯類の膵臓から分泌されるInsを定量する*Ex vivo*オルガンバス実験系 (本実験系) を構築し報告した。具体的には、周知のグルコースおよびGlucagon like peptide-1等を分泌刺激剤として用い、Ins分泌増加を確認した。

当初、Ins分泌量は、無刺激時において時間経過と共に減少を認めた。そのため、プロテアーゼによる分解を防ぐ目的でトリプシンインヒビター (TI) を栄養液

中に添加し、Ins及びAmy等の分泌量を評価した。適量のTI添加によりIns分泌量の経時的減少は弱まり、Amy分泌量に変化は認めなかったことから、TI添加がIns分泌量の維持に有効であることが示唆された。立ち上げ当初、本実験系は内分泌系での発展を考えていたが、外分泌系の測定にも有用であることが見出された。

現在は、外分泌・内分泌の連関に着目し、特に外分泌系の刺激反応を見るための基盤データの獲得と、Ins分泌実験から波及した単糖類による外分泌反応のデータの収集を行っている。発表では、本実験系を用いた分泌刺激によるIns及びAmy分泌の同時測定データを基に、膵内外分泌の関連、単糖類による分泌変化について報告する。

10:08 ~ 10:30

## US5-4 「NMIIC がタイトジャンクションを介して涙液分泌を制御する」

大野 雄太<sup>1,2</sup>、Gaizun Hu<sup>2</sup>、Dominik Robak<sup>2</sup>、W. Sharon Zheng<sup>2</sup>、Seham Ebrahim<sup>2</sup>(朝日大 歯 薬理、<sup>2</sup>バージニア大 医 分子生理)

涙腺における水分泌 (涙液分泌) 機構には、AQP5などの水チャンネルを介する経細胞水輸送と、ZO-1などのタイトジャンクションを介する傍細胞水輸送の二つの経路が想定される。前者はある程度解明されているのに対し、後者はその存在自体が議論的となっている。

近年、非筋細胞ミオシンがタイトジャンクション形成に重要であることが報告された。その非筋細胞ミオシンの一つであるNMIICが涙腺導管細胞の頂端接合部に局在したことから、我々は涙腺導管において傍細胞水輸送が存在し、NMIICがタイトジャンクションを介して涙液分泌に関与するという仮説を立てた。

NMIICが欠損したマウス (NMIIC-KOマウス) を用いてカルバコール (CCh) を投与すると、涙液量は野生

型マウス (WTマウス) に比べて増加した。NMIIC-KOマウスとWTマウスの涙腺におけるAQP5とZO-1の局在をそれぞれ比較したが、違いは認められなかった。一方、NMIIC-KOマウスのZO-1の発現量はWTマウスに比べ減少した。低分子蛍光物質を添加したCChを投与すると、NMIIC-KOマウスの涙液の蛍光強度は増強した。NMIIC活性化剤をWTマウスに投与すると、涙液量は減少した。

以上より、涙腺における傍細胞水輸送の存在が明らかとなった。また、NMIICが導管細胞のタイトジャンクションを介して、涙液分泌を調節することが示唆された。NMIICが涙液分泌低下いわゆるドライアイの新たな分子標的になる可能性が浮上した。