

## 論 文 要 旨

氏 名	城所 愛美
<p data-bbox="156 360 316 394"><b>論文の要旨</b></p> <p data-bbox="124 416 1252 748">唾液分泌機能の低下は舌苔の増加やカリエスリスクの上昇, 舌痛症, 義歯の吸着力低下などの原因となり患者 QOL の著しい低下を引き起こす. 唾液腺をはじめとした上皮組織は浸透圧変化に敏感な組織であるものの, 周囲の浸透圧変化が唾液分泌におよぼす直接的な影響については明らかにされていない. そこで本研究ではマウス顎下腺を用いてムスカリン性レセプター刺激薬である carbachol による分泌反応が浸透圧変化によりどのような影響を受けるかを明らかにし, さらにその詳細な細胞レベルでのメカニズム解明を目的とした.</p> <p data-bbox="124 770 1252 1055">実験では 8-10 週齢の c57BL/6J のマウスを使用した. 抱水クロラル(400mg/kg body weigh) にて腹腔内麻酔したマウスから顎下腺を摘出し, 灌流モデルを用いて carbachol(0.3 <math>\mu</math>M)刺激時の唾液分泌速度およびイオン濃度測定を行った. また, 細胞内シグナル伝達の評価には蛍光指示薬を導入した分散細胞を用いて細胞内 <math>Ca^{2+}</math>および pH を測定した. 統計学的解析には Student's t-test または一元配置分散分析および Tukey post hoc test を用い <math>p &lt; 0.05</math> を有意とした.</p> <p data-bbox="124 1077 1252 1760">灌流モデルによる唾液分泌量は灌流液に等張液(320 mOsm)を用いた場合と比較し 10%低張液(288 mOsm)では差はなかったものの, 30%低張液(225 mOsm)では 34%上昇した. 分泌唾液中のイオン濃度は等張液での灌流と比較して 30%低張液による灌流では <math>Na^+</math>, <math>K^+</math>, <math>Cl^-</math>いずれも有意に減少した. さらに carbachol 刺激時の細胞内 <math>Ca^{2+}</math>を測定したところ等張液と比較して 10%および 30%低張液のいずれにおいても差はなかった. さらに低浸透圧により活性化される <math>Ca^{2+}</math>流入チャネルの一つである transient receptor potential cation channel subfamily V member 4 活性化の可能性を activator や inhibitor により検討したがいずれも関与は否定された. 一方, <math>Na^+-K^+-2Cl^-</math>共輸送担体(NKCC)の inhibitor である bumetanide(10 <math>\mu</math>M)を添加して灌流実験を行ったところ, 等張液と 30%低張液の分泌速度が同一になり NKCC の低浸透圧下での分泌上昇への関与が示唆された. さらに細胞レベルでの NKCC の活性を確認するためアンモニウムショック法により細胞内 pH を計測したところ, 等張と比較し 30%低張液では 46%の活性上昇が確認されその活性上昇は bumetanide によりほぼ完全に抑制された.</p> <p data-bbox="124 1783 1252 2013">以上の結果より, マウス顎下腺では外部浸透圧を低下させると唾液分泌が上昇し, それは NKCC が機能的に活性化されることに起因していることが証明された. このことから, 従来唾液分泌機能回復の標的とされていた膜タンパクであるムスカリンレセプターや水チャネルに加えて, NKCC も診断や治療の新たな標的となり得ることが示唆された.</p>	