

Intracellular Signaling Pathways Involved in the Regulation of Gene Expression by Pilocarpine

坂詰博仁

論文内容の要旨

ピロカルピン (Pilo) はムスカリンアゴニストで、唾液分泌促進薬として用いられており、長期服用により唾液分泌亢進作用が知られているが、このメカニズムは明らかではない。ムスカリン受容体などの GPCR 刺激により MAPK を介した遺伝子発現が亢進することが報告されていることから、Pilo は唾液腺の遺伝子発現を変化させることにより、唾液分泌を亢進する可能性が考えられた。本研究では Pilo が唾液腺の遺伝子発現を変化させる可能性を検討するとともに、遺伝子発現における細胞内シグナル経路の検討を行った。動物実験では 9 週齢の雄の Wistar/ST ラットを用いて、ケタミンとキシラジンの混合麻酔下で、1 mg/kg の Pilo を腹腔内投与した。投与から一週間後、同条件下で再び Pilo を投与し、30 分後に顎下腺を摘出した。組織から total RNA を抽出し、定量的逆転写 PCR 法 (RT-qPCR) により遺伝子発現の解析を行い、無刺激 (control) と比較した。ヒト唾液腺細胞 (HSY 細胞) を用いた実験では、10 μ M の Pilo を無血清培地に加えて 24 時間暴露させた。細胞から total RNA を抽出し、RT-qPCR により遺伝子発現の解析を行い、control と比較した。また、MEK 阻害剤である Trametinib と Src 阻害剤である PP2 を Pilo 刺激の 1 時間前に培地に加え、遺伝子発現における MAPK および Src の関与を検討した。結果を以下に示す。

1. Pilo 投与によりラット顎下腺において control と比較し *Sgk1* と *Ctgf* の有意な発現亢進を認めた。
2. HSY 細胞では control と比較し Pilo 刺激により *Ctgf* の有意な発現亢進を認めた。
3. Trametinib は Pilo 刺激による *Ctgf* 遺伝子発現効果の抑制傾向を認めた。
4. PP2 は Pilo 刺激による *Ctgf* 遺伝子発現の効果を有意に抑制した。

以上の結果より、Pilo は Src を介して MAPK を活性化することで、*Sgk1* および *Ctgf* の発現を亢進させることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究により、ピロカルピンの作用によって *Sgk1* と *Ctgf* の遺伝子発現が亢進することが示唆された。これらの遺伝子発現の変化は唾液分泌の改善に重要な役割を果たしている可能性がある。本研究の結果は、シェーグレン症候群をはじめとする口腔乾燥症患者の新たな治療法開発の一助となると考えられ、歯学に寄与するところが多く、博士 (歯学) の学位に値するものと審査する。

主査 佐藤 義英
副査 三上 正人
副査 水橋 史

最終試験の結果の要旨

坂詰博仁に対する最終試験は、主査 佐藤 義英教授、副査 三上 正人教授、副査 水橋 史教授によって、主論文に関する事項を中心として口頭試問が行われ、優秀な成績をもって合格した。