

唾液腺機能に対するアディポネクチンと加齢との関連性 (30-39)

主任研究者 黒澤 実愛 国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部 (流動研究員)

研究要旨

ドライアイやドライマウスの患者は加齢とともに増加し、患者の QOL を著しく低下させる。長寿ホルモンとして知られている adiponectin (AP) の受容体は、唾液腺及び涙腺上皮細胞に発現していることから、それらの外分泌機能に何らかの影響を及ぼす可能性がある。そこで本研究では、唾液腺と涙腺における AP 及びその受容体発現について老齢マウスを用いて解析した。老齢マウスの唾液腺では AP とその受容体発現に変化はないが、涙腺では加齢に伴い AP のシグナルに関連した因子の発現上昇と、内臓脂肪における AP 発現上昇が見られた。しかし、AP は分子量によって作用が異なることから、今後は血中等における AP の多量体別に解析する必要がある。

主任研究者

黒澤 実愛 国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部 (流動研究員)

A. 研究目的

ドライマウス患者は加齢とともに増加し、その原因として薬の副作用や全身疾患などが考えられる。AP は善玉アディポネクチンとして知られ、主に脂肪細胞で生産される。唾液腺及び涙腺には AP の受容体が発現していることから、加齢による脂肪組織の機能変化が唾液腺及び涙腺機能に何らかの影響を及ぼす可能性が考えられる。マウスにおいて加齢に伴い内臓脂肪が蓄積するが、高脂肪食を負荷したマウス (HFD マウス) と比較することで脂肪組織の変化が唾液腺及び涙腺に与える影響を検討することを目的とした。

B. 研究方法

老齢マウスとして生後 21~24 ヶ月、若齢マウスとして生後 6~9 週のマウスを使用した。HFD マウスは生後 4 週から 8 週間高脂肪食を負荷した。

1) 唾液量及び涙液量の測定

刺激時唾液量及び涙液量の測定のため、麻酔後に副交感神経作動薬としてピロカルピンを腹腔から投与した。唾液は末梢血採取用のリングキャップスで採取、測定し、涙液測定用のゾーンクイックで涙液量を測定した。

2) 唾液腺及び涙腺における AP 関連因子の解析

唾液腺及び涙腺における AP に関連した因子を解析するために、老齢マウスや HFD マウスの唾液腺と涙腺を摘出し、total RNA を抽出、リアルタイム PCR にて各因子の発現を比較した。また、唾液腺と涙腺の上皮細胞における各因子の発現を検討するために、各マウスから摘出した涙腺をコラゲナーゼやヒアルロニダーゼ等を用いて分散し、Miltenyi の mouse CD326 (EpCAM) マイクロビーズで EpCAM 陽性の上皮細胞を回収、解析した。

3) 涙腺に浸潤する免疫細胞の解析

涙腺の HE 染色から、涙腺には多くの免疫細胞が浸潤していることが分かった。涙腺に浸潤する免疫細胞を解析するために、老齢マウスや HFD マウスなどから涙腺を摘出し、コラゲナーゼで分散し、FACS にて免疫細胞の各細胞分画を解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、長寿医療研究センターにおける動物実験取扱規程、動物の愛護及び管理に関する法律、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準、動物の殺処分方法に関する指針、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針に係る関係法規を十分に遵守する研究を実施する。

C. 研究結果

1) 唾液量及び涙液量の測定

老齢マウスではオスメスともに体重や涙腺組織の重さが増加し、刺激時唾液量は若齢マウスと比較して老齢マウスで減少したが、涙液量は増加した。一方、HFD マウスではコントロールマウスと比較してオスでは体重が増加したが、メスでは変化せず、唾液量はオスメスともに減少したが涙液量はメスのみで減少した。

2) 唾液腺及び涙腺における AP 関連因子の解析

若齢マウスと比較して老齢マウスの唾液腺では AP 及び AP 受容体発現に変化はなかった。刺激時涙液量は老齢マウス及び HFD マウスで変化したが、ピロカルピンの受容体である M3R 発現は各マウスで変化なかった。一方で、若齢マウスと比較して老齢マウスでは AP 受容体の一つである AdipoR2 発現が増加しており、AP 発現に関与する PPAR γ 発現も上昇した。また、涙腺の上皮細胞においても PPAR γ 発現も増加した。加えて、老齢マウスにおいて若齢マウスと比較して内臓脂肪の AP 発現は上昇した。

3) 涙腺に浸潤している免疫細胞の解析

免疫機能は胸腺の萎縮などにより加齢とともに変化し、免疫老化は炎症性サイトカイン産生亢進や慢性炎症を誘発する。特に CD4 陽性 T 細胞では effector memory T 細胞が増加し、その中でも慢性炎症などに関与すると言われていた老化関連 T (SA-T) 細胞が増加する。老齢マウスの涙腺では effector memory T 細胞数がオス、メスともに増加した。また、SA-T 細胞に関してもメスで増加した。一方、HFD マウスではオス、メスともに SA-T 細胞は増

加しなかった。

D. 考察

老齢マウスと HFD マウスともに内臓脂肪が増加するが、老齢マウスでは涙液量の増加、涙腺における PPAR γ 、AP 受容体の増加する一方で、HFD マウスではこれらの変化は見られないことから、AP 関連因子が涙腺で増加することは加齢特異的な変化である可能性がある。しかし、老齢マウスでは内臓脂肪が増加しているにも関わらず、内臓脂肪における AP 発現量が増加していた。AP は全長 AP として産生され、血中では 18 又は 12 量体（高分子多量体 AP）や、6 量体、3 量体として存在する。特に高分子多量体がインスリン感受性などに関与するといわれている。しかし、本研究では AP を分子量ごとには検討していないため、今後は AP の分子量ごとに解析する必要がある。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Ishimaru N, Kurosawa M, Arakaki R, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y and Jonathan Sprent. NF- κ B2 Controls Migratory Activity of Memory T Cells by Regulating

Expression of CXCR4 in A Mouse Model of Sjögren's Syndrome. 14th International Sjögren's Syndrome Symposium, Washington, USA, April 18-21 2018

- 2) 四釜洋介、黒澤実愛、山田（古川）匡恵、松下健二

口腔粘膜における IL-29 の抗真菌および抗ウイルス作用：臨床応用の可能性。

第 61 回秋季日本歯周病学会学術大会, 2018 年 10 月 26 日, 大阪

- 3) 四釜洋介、黒澤実愛、松下健二

IL-29 は口腔粘膜上皮細胞において RIG-I 発現誘導を介し抗ウイルス活性を増強する。

第 24 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会, 2018 年 12 月 1 日, 横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし