

ホスホジエステラーゼ (PDE) は、アデニレートシクラーゼによって産生されるサイクリック AMP (cAMP) を分解する酵素で、PDE 阻害薬は細胞内の cAMP シグナルを増強させる作用を有する。PDE 阻害薬の毒性の一つである唾液腺肥大については詳細な研究がされていないことから、本研究では代表的な PDE 阻害薬であるテオフィリン (1,3-dimethylxanthine) を用いて、唾液腺肥大のメカニズムを明らかにした。いずれの実験も動物は 7 週齢のオス F344 ラットを用い、テオフィリンは 50 mg/kg の用量で腹腔内投与した。唾液腺は、耳下腺と顎下腺を検査対象とした。

まず、テオフィリンを単回および反復 4 日間 (1 日 2 回) 投与し、臨床症状、両唾液腺の臓器重量および病理組織学的変化を経時的に検査した。単回投与では、投与後 4 時間まで流涎がみられた。それに一致して、両唾液腺の重量が一過性に減少し、病理組織学的には腺房の細胞内分泌顆粒が減少した。反復投与でも、毎投与後 4 時間まで流涎がみられた。最終投与の投与直前の両唾液腺の重量は対照群の約 1.3 倍に増加した。重量は、投与後 4 時間まで減少し、8 時間には投与直前値に戻った。細胞内分泌顆粒の変動は、唾液腺の重量の変化とよく一致していた。また、両唾液腺ともに投与後に腺房上皮細胞では、タンパク合成の亢進を示唆する所見 (核小体の明瞭化、基底膜側の好塩基性領域の拡大) がみられた。

唾液の分泌には、腺房のみならず、筋上皮細胞、導管および細胞膜の水透過チャンネル (アクアポリン, AQP) が関与していることが知られている。そこで、テオフィリンを反復投与して両唾液腺を採取し、 α -Smooth Muscle Actin (筋上皮細胞のマーカー) および AQP5 (唾液腺に特異的な AQP) に関する免疫組織化学的検査をおこなった。筋上皮細胞は、両唾液腺ともに介在部導管の周囲に多く分布していた。耳下腺の腺房周囲はごくわずかであった。テオフィリン投与による流涎時においても、筋上皮細胞の組織学的変化はあきらかではなかった。対照群の AQP5 シグナルは、耳下腺では腺房の内腔で、顎下腺では腺房内腔と介在部導管の内腔で強かった。顎下腺の介在部導管では、テオフィリン投与によりシグナルが増強した。顎下腺の介在部導管上皮細胞では、テオフィリン投与後 1 時間に顕微鏡的に空胞が多くみられ、電顕的には細胞間の開大であった。

テオフィリンによる流涎は、その薬理作用である cAMP シグナルが関与している可能性が考えられた。そこでテオフィリンを単回投与し、両唾液腺の組織内 cAMP 濃度と PDE 酵素活性をそれぞれ Enzyme Immunoassay 法と酵素組織化学により調べた。両唾液腺の cAMP 濃度はテオフィリン投与により増加した。PDE 酵素活性は、耳下腺では変化がみられなかったものの、顎下腺では酵素活性の低下がみられた。

生理的な唾液分泌の調節は、主に アドレナリン受容体を介する経路が知られている。そこで、プロプラノロール (アドレナリン受容体拮抗薬) とテオフィリンを併用投与し、投与後 4 時間の両唾液腺の重量を測定した。プロプラノロール併用群は、テオフィリン単独群に比べ、両唾液腺とも重量の減少が部分的に抑制された。つまり、テオフィリンによるラット唾液腺の変化には、PDE 活性の抑制に伴う cAMP シグナルに加え、受容体も関与していることが示された。

cAMP は遺伝子の転写因子のひとつであること、および、テオフィリン投与によりタンパク合成の亢進を示唆する組織所見がみられたことから、cAMP によって転写が制御される唾液腺の主要な遺伝子である、アミラーゼ (AMY1, 分泌タンパクの消化酵素)、および Cystatin S (CysS, 口腔内の殺菌作用を有する分泌タンパク)、PDE3A、PDE4D、AQP5 について、テオフィリンを単回および反復投与して両唾液腺を採取し、Real-time RT-PCR 法を用いて遺伝子発現量を調べた。単回投与では、分泌タンパクの AMY1 と CysS の遺

伝子発現量が一過性に増加した。反復投与では、CysS 発現量の著しい持続的増加がみられ、投与によりさらに増加した。単回投与では、PDE3A 遺伝子の発現量は一過性に増加した。反復投与では、顎下腺では発現量の持続的増加がみられ、テオフィリン投与により更に発現量が増加した。一方、PDE4D および AQP5 の遺伝子発現量に変化はみられなかった。

以上の結果から、テオフィリンをラットに投与すると、唾液腺の PDE 活性が阻害されて cAMP 濃度が増加し、腺房から分泌顆粒が放出されるとともに遺伝子の発現の増加およびタンパク合成が亢進する、という一連のサイクルの存在が示された。また、反復投与すると、このサイクルが繰り返されることにより、一部の遺伝子の発現量が持続的に増加して腺房内に分泌顆粒が過剰に蓄積し、腺房が肥大することが示された。このように、テオフィリンによる唾液腺の肥大は、唾液分泌の機能亢進を示す変化と考えられた。本研究の成果は、唾液腺疾患の病態発現機序を考える上での基礎的知見として極めて重要である。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認めた。