

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
宮脇 卓也 印	研究の総括・総合的指導
印	
印	

## 学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野 歯科麻酔・特別支援歯学	身分 大学院生	氏名 田尻 絢子
論 文 題 名 マウス唾液腺における高濃度酸素障害の検討		
論文内容の要旨（2000字程度）		
<p>【緒言】</p> <p>酸素は生命活動において不可欠である一方、高濃度になると肺、脳の組織障害を引き起こすことが報告されている。臨床的にこのような高濃度酸素に暴露される可能性がある状況に周術期が考えられる。周術期には各臓器の酸素供給を保つために酸素療法が行われるため、高濃度酸素に暴露される機会が極めて多い。周術期には口腔のケアをはじめとした口腔機能管理が積極的に行われている。唾液はこの良好な口腔機能の維持において多くの重要な役割を担っている。周術期等で使用される高濃度酸素は唾液腺機能に対しても悪影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで本研究は、高濃度酸素が唾液機能に及ぼす影響を動物実験により検討した。</p> <p>【材料と方法】</p> <p>1. 30週令C57BL/6J雄系マウスを使用し、75%の酸素濃度で5日飼育する群を高濃度酸素群、21%の酸素濃度で5日飼育する群を対照群とした。</p> <p>2. 定量リアルタイム-PCR</p> <p>大脳皮質、肺、顎下腺、舌、肝臓、腎臓を摘出し通法に従ってcDNAを合成し定量リアルタイム-PCRを行い、HO-1 (Heme oxygenase-1)、SOD-1 (Superoxide dismutase-1)、SOD-2 (Superoxide dismutase-2)、IL-6 (Interleukin-6)、TNF-<math>\alpha</math> (Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math>) の遺伝子発現量を定量した。</p> <p>3. 組織学的観察</p> <p>顎下腺を摘出後、通法に従いHE染色、Alcian Blue染色を行った。さらにTdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色を行い1000<math>\mu\text{m}^2</math>あたりのTUNEL陽性細胞の数を比較した。</p> <p>4. 唾液量測定</p> <p>ペントバルビタール腹腔内投与により全身麻酔を行った後、塩酸ピロカルピンを皮下注射し、投与後30分間の唾液分泌量を測定した。</p> <p>5. 唾液成分分析</p> <p>唾液量の測定と同様に塩酸ピロカルピンを皮下注射し、採取した唾液中のタンパク質量およびアミラーゼ量を測定した。</p>		

## 論文内容の要旨（2000字程度）

### 6. 免疫染色およびウエスタンブロットティング

摘出した顎下腺を凍結・包埋し、7 $\mu$ mの凍結切片を作成した。Aquaporin-5（AQP5）、E-cadherinについて免疫染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡 LSM780で観察した。

顎下腺を摘出しタンパクを抽出、濃度を一定量に調整しウエスタンブロット解析試料とした。AQP5、 $\beta$ -actinについてタンパク質の検出を行い、定量した。

### 7. 統計解析

統計解析には対応のないt検定および二元配置分散分析を用い、Post-hocテストにはBonferroniを用いた。

#### 【結果】

定量リアルタイム-PCR法を用いて脳、舌、顎下腺、肺、肝臓、腎臓のHO-1遺伝子の発現を定量したところ、高濃度酸素群では肺、顎下腺、腎臓において、HO-1発現量が有意に増加していた。

顎下腺における遺伝子発現量は高濃度酸素群においてSOD-1、SOD-2の発現量が有意に増加していた。IL-6、TNF- $\alpha$ の発現量に有意差はなかった。

組織学的観察において高濃度酸素群ではH-E染色では腺房の拡大が観察され、Alcian Blue染色では青色に好染する酸性粘多糖類の増加を認めた。

TUNEL染色では高濃度酸素群においてTUNEL陽性細胞の出現増加を認め、TUNEL陽性細胞の数を定量比較すると有意に増加を認めた。

刺激唾液の量を高濃度酸素群と対照群で比較したところ、唾液採取開始5分、10分において高濃度酸素群の唾液分泌量は有意に減少していた。30分間の唾液総量についても高濃度酸素群では唾液分泌量が有意に減少した。

高濃度酸素環境による唾液成分への影響については30分間の総唾液中のタンパク濃度に有意な変化は認められなかったが、塩酸ピロカルピン皮下注射後15分間の唾液においては有意な増加を認めた。アミラーゼの濃度については塩酸ピロカルピン皮下注射後15分間および30分間共に唾液中のアミラーゼ濃度が有意に増加していた。

AQP5の発現について免疫組織、ウエスタンブロット法を用いて比較したが高濃度酸素飼育によって発現部位の変化や発現量の有意な変化は認めなかった。

#### 【考察】

高濃度酸素への暴露によりマウス顎下腺にはHO-1、SOD-1、SOD-2といった酸化ストレスマーカーの遺伝子発現の増加が有意に認められ、顎下腺が酸化ストレスを受けていることが示唆された。またその他の臓器とのHO-1発現量の比較により顎下腺は比較的酸化ストレスを受けやすい臓器であることが示唆された。

また高濃度酸素への暴露により唾液腺腺房の拡大、腺房への酸性粘液多糖類の貯留、TUNEL陽性細胞の出現といった組織学的変化が観察された。さらに高濃度酸素暴露により塩酸ピロカルピン誘発による唾液分泌量が減少した。加齢変化、シェーグレン症候群、放射線障害等の唾液分泌減少を示す病態に共通した組織変化や炎症所見は認めず、これらとは異なった病態により唾液量が減少していることが考えられた。

#### 【結論】

本研究からマウスを高濃度酸素環境下で飼育することにより顎下腺に酸化ストレスが誘発され、唾液腺機能を低下させる可能性が示唆された。このことから周術期などで高濃度酸素に暴露されている患者の唾液分泌は減少している可能性があり、口腔のケアを行う際には、その病態を考慮することで、さらに口腔環境の改善をはかることが期待できる。