

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17172

研究課題名（和文）唾液腺の発生期に副交感神経が筋上皮細胞の分化に及ぼす作用の検討

研究課題名（英文）The examination of the influence of parasympathetic nerves on myoepithelial cell differentiation during salivary gland development.

研究代表者

真藤 裕基 (Shindo, Yuki)

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・医員

研究者番号：40911269

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では副交感神経から分泌されるアセチルコリンのアナログであるカルバコールを用いて、発生期マウス唾液腺における副交感神経の作用を検討した。その結果カルバコールはムスカリンM1受容体を介して唾液腺上皮細胞から筋上皮細胞へ分化誘導を促していることが示された。本研究の成果は新規口腔乾燥症治療法の開発の一助となりえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は発生期マウス唾液腺において器官形成後の支配神経である副交感神経が効果期である筋上皮細胞の分化誘導を促していることを示した。これは発生学に新たな視点をもたらし、臨床的には口腔乾燥症の新たな治療法の開発につながるアプローチであると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we used carbachol, an analogue of acetylcholine secreted by parasympathetic nerves, to examine the effects of parasympathetic nerves on the salivary glands of developing mice. The results showed that carbachol promotes the induction of differentiation of salivary gland epithelial cells into myoepithelial cells via the muscarinic M1 receptor. The results of this study may help develop new treatments for xerostomia.

研究分野：分子生物学

キーワード：唾液腺 筋上皮細胞 発生

1. 研究開始当初の背景

唾液腺は耳下腺、顎下腺、舌下腺の3つの大唾液腺ならびに数百個の小唾液腺から構成されている。げっ歯類の場合、最も大きな顎下腺が唾液分泌の中心的役割を演じている。マウス顎下腺の発生は、胎生10日に肥厚した口腔上皮が間葉組織内に陥入し、胎生13日から単房状唾液腺上皮が腺房上皮の枝分かれを繰り返し進行していく(図1)。腺基部に存在している副交感神経節を破壊すると発生唾液腺上皮の枝分かれが起こらないことが報告されている。Knox, Vol. 329, Issue 5999, Science 2010)が、神経がどのように唾液腺上皮組織に作用し、神経効果器ユニットを組織内に形成しているかは不明な点が多い。完成した唾液腺上皮組織には、腺房、導管、介在部、筋上皮細胞がそれぞれの役割に適したかたちで組織内に配置され、神経組織と近接し存在している筋上皮細胞が収縮することで唾液分泌を促進する。効果器である筋上皮細胞とその収縮を促す支配神経にあたる副交感神経が発生中にどのように影響を及ぼし合いながら分化誘導が進み、また完成した組織内に筋上皮細胞と副交感神経終末部がどのように隣接して配置されるのかを解明することは、神経組織と唾液腺上皮組織の相互作用の謎を紐解く鍵となると考える。本研究では、筋上皮細胞と副交感神経の関係に着目し、唾液腺発生を既存の視点とは異なる角度から観察する。また、さらには筋上皮細胞の分化誘導機構を解明し、応用することで、将来的には放射線療法後のような組織損傷を伴う口腔乾燥症に対して、十分な筋収縮力による唾液分泌可能な唾液腺の再生を含めた口腔乾燥症に対する新たな治療的アプローチの開発につなげたいと考えていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は発生期唾液腺における副交感神経の作用と唾液腺上皮細胞から筋上皮細胞への分化誘導、筋上皮細胞の組織内局在機構について検討することである。発生期の唾液腺は上皮組織、間葉組織、神経組織からなり、その相互作用や増殖因子、成長因子の分化・増殖作用の検討は進んでいる。本研究の学術的独自性と創造性は、唾液分泌の中心的役割を演じる筋上皮細胞と唾液分泌を制御する支配神経の副交感神経が、完成した唾液腺では効果的に作用する近接した位置に存在している点に注目していることである。すなわち、副交感神経終末から分泌されるアセチルコリンが、発生期には上皮細胞から筋上皮細胞の分化誘導を行い、機能期には同じ副交感神経終末から分泌されるアセチルコリンが、筋上皮細胞の収縮を制御しているとの仮説を立てた。

3. 研究の方法

マウス胎仔胚から唾液腺を摘出し、ムスカリン型アセチルコリン受容体遺伝子発現の経時的変化をqPCRで検討した。またマウス胎仔胚から唾液腺を摘出し蛍光免疫組織染色を行い、ムスカリンM1受容体の発現を検討した。副交感神経から分泌されるアセチルコリンはコリンエステラーゼで容易に分解されてしまうため、本研究ではアナログであるカルバコールを用いた。マウス唾液腺器官培養系を用いてカルバコールによる遺伝子発現の変化をqPCRで、タンパク質発現の変化を蛍光免疫組織染色で検討した。また、その責任受容体についてはムスカリンM1受容体のアンタゴニストであるピレンゼピンを併用することで同定した。その後ラット顎下腺上皮細胞株のRSMG-1を用いて、唾液腺上皮細胞におけるカルバコールによる遺伝子発現の変化をqPCRで検討した。またRSMG-1においてカルバコールによる細胞内シグナルの変化をウエスタンブロットで検討した。

4. 研究成果

発生期マウス唾液腺ではqPCRの結果から、唾液腺発生の初期にムスカリンM1受容体の遺伝子発現が増加していた。発生期マウス唾液腺の蛍光免疫染色では腺房を取り囲むようにムスカリンM1受容体が発現していた。また、マウス顎下腺器官培養系においてカルバコールを投与しqPCRで遺伝子発現の変化を検討すると、筋上皮細胞のマーカーであるACTA2の発現が増加した。さらに蛍光免疫組織染色でタンパク質発現の変化を検討すると、筋上皮細胞のマーカーであるSMAの発現が増加した。またムスカリンM1受容体のアンタゴニストであるピレンゼピンを併用するとqPCRでACTA2の遺伝子発現の増加が打ち消された。このことからカルバコールはムスカリンM1受容体を介して筋上皮細胞の分化誘導を促進していることが示された。また、RSMG-1においてカルバコールを用いると、qPCRでACTA2の遺伝子発現が増加した。さらにウエスタンブロットではカルバコールの投与によりERKとAktのリン酸化の亢進を認めた。さらにERKのアンタゴニストであるPD98059を併用すると、qPCRではカルバコールによるACTA2の遺伝子発現の増加が抑制された。本研究では発生期マウス唾液腺においてカルバコールがムスカリンM1受容体

を介して唾液腺上皮細胞から筋上皮細胞への分化誘導を促進することが示された。本知見は口腔乾燥症の新規治療法の開発の一助となると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shindo Yuki, Nakamura Hannah M., Nakai Junichi, Wakamori Minoru, Nakamura Takashi	4. 巻 416
2. 論文標題 A parasympathetic neurotransmitter induces myoepithelial cell differentiation during salivary gland development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Experimental Cell Research	6. 最初と最後の頁 113137 ~ 113137
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.yexcr.2022.113137	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 真藤 裕基, 若森 実, 中井 淳一, 中村 卓史
2. 発表標題 副交感神経から分泌されるアセチルコリン(ACh)が、唾液腺の発生過程で筋上皮細胞の分化誘導と機能的器官配置を決定している
3. 学会等名 歯科基礎医学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------