

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：27102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890215

研究課題名(和文)ハイパーサーミアを基軸とした口腔乾燥症の治療戦略イノベーション

研究課題名(英文)Inovation of treatment strategy for xerostomia based on hyperthermia

研究代表者

向坊 太郎 (MUKAIBO, TARO)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：50635117

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では環境温度が唾液分泌に与える影響について調査した。実験で頻用されるムスカリン性刺激薬のカルバコール(CCh)刺激では25 から37 への温度上昇に伴い唾液分泌量の上昇を認めた。催唾剤として臨床応用されるセビメリンでは37 から42 への温度上昇でも唾液分泌量の増加が認められた。しかし、Ca²⁺イオノフォアのA23187では25 と37 とで唾液分泌量に差は認められなかった。CCh刺激時の細胞内カルシウム濃度の測定では、25 から37 への温度上昇に伴い細胞内カルシウム濃度の上昇を認めた。以上から、温度上昇に伴う唾液分泌量の増加が唾液腺細胞内Ca²⁺濃度の上昇に起因することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The physiological and pharmacological responses of an ex vivo mouse submandibular gland were used to study fluid secretion and cell signaling in response to muscarinic stimulation at increasing temperatures. Experimental agonist carbachol (CCh) induced saliva production at 37 degrees Celsius was increased compared with that at 25 degrees Celsius. Whereas, saliva secretion induced by clinically used muscarinic agonist cevimeline at 42 degrees Celsius increased compared with that at 37 degrees Celsius. However, The calcium ionophore A23187 failed to have a significant effect on saliva production. The CCh-induced increase in intracellular Ca²⁺ also upregulated the initial increase and sustained the plateau phase of saliva flow. Thus, muscarinic receptor stimulation of saliva production is temperature sensitive due to an increase in intracellular Ca²⁺.

研究分野：医歯学

科研費の分科・細目：歯学 補綴・理工系歯学

キーワード：ハイパーサーミア 口腔乾燥症

1. 研究開始当初の背景

口腔乾燥症の罹患者数は日本国内で推定800万人以上とされており、超高齢社会の到来により今後も患者数の増加が予想されている。一方歯科治療において口腔乾燥は義歯の維持不良や根面カリエスの増加など、多くの問題の原因となることが知られている。しかし現在のところ口腔乾燥症の治療は人工唾液や含嗽剤の使用など対症療法が主に行われており、ムスカリン性刺激薬を用いた原因療法としての薬物療法も比較的高率に現れる副作用（嘔気、腹痛、下痢）が高齢者では問題となり、歯科領域では普及が遅れているのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では唾液腺に対するハイパーサーミアを応用することにより口腔乾燥症に対する治療法の新規開発と臨床応用へ展開するための基盤研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究の実験には8週齢のc57Bl6/Jマウスを用い、Ex vivo 顎下腺灌流実験と細胞内カルシウムイメージング法を用いて環境温度が唾液分泌に与える影響について検討した。

(1) Ex vivo 顎下腺灌流実験

抱水クラロール全身麻酔下でマウス顎下腺支配動脈の分岐を結紮、切断し、顎下腺に支配動脈と導管をつけた状態で体外に摘出する。その後蠕動ポンプを用いて灌流液を支配動脈から一定の速度で灌流し、灌流液中にムスカリン性刺激薬を添加することで顎下腺の唾液分泌を促し、キャピラリーを用いて唾液を回収した。摘出した顎下腺を設置する灌流ステージ中に任意に設定した温度の水を灌流させることにより環境温度を制御した。

(2) カルシウムイメージング法

摘出した顎下腺のミンシング、コラゲナーゼ処理を行った後、Ca²⁺ 蛍光指示薬であるFura-2AMを細胞内に導入し、蛍光顕微鏡を用いて温度上昇と細胞内Ca²⁺濃度を検出した。

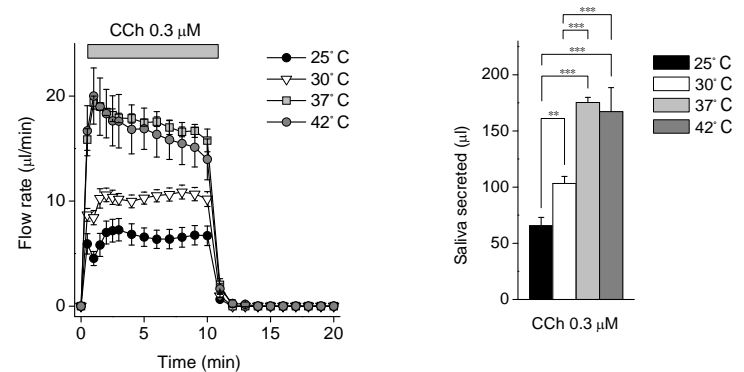
4. 研究成果

(1) Ex vivo 顎下腺灌流実験

環境温度を25、30、37、42に変化させ、カルバコール(CCh)0.3 μM 刺激時の顎下腺からの唾液分泌量を計測した結果、25から37までの温度上昇に伴い唾液分泌量の増加が認められた。催唾剤として臨床応用されているセビメリン(CVL) 30 μMでは37

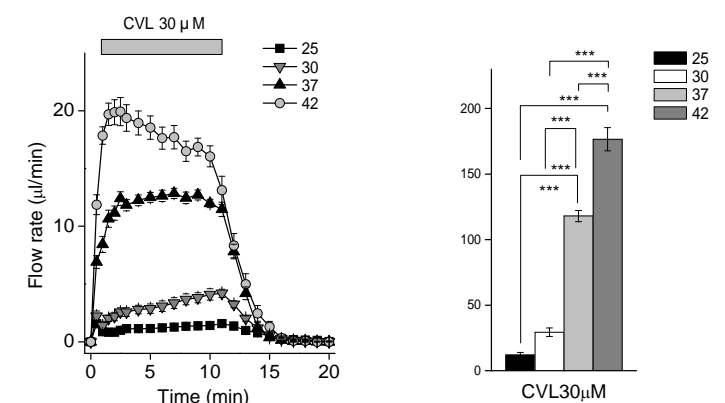
から42までの温度上昇に伴う唾液分泌量の増加を認めた。一方でカルシウムイオンフォアであるA23187 1 μMによる刺激では25と37とで唾液分泌量に有意差を認めなかった。

Ex vivo 顎下腺灌流実験におけるカルバコール(CCh)0.3 μM 刺激時の唾液分泌量と温度の関係



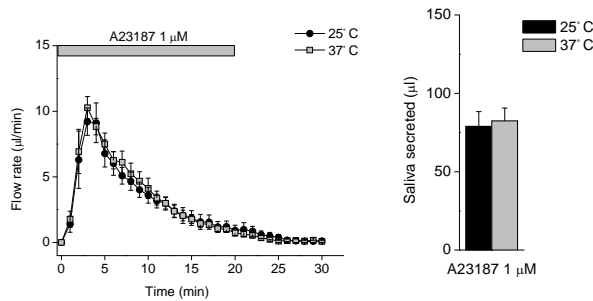
25 から 37 までの温度上昇に伴う唾液分泌量の増加が認められた。

Ex vivo 顎下腺灌流実験におけるセビメリン(CVL)30 μM 刺激時の唾液分泌量と温度の関係



25 から 42 までの温度上昇に伴う唾液分泌量の増加が認められた。

Ex vivo 顎下腺灌流実験におけるカルシウムイオンフォアである A23187 による唾液分泌量と温度との関係

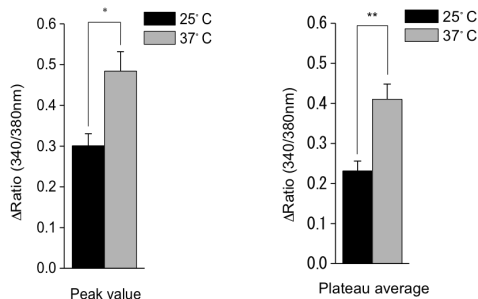
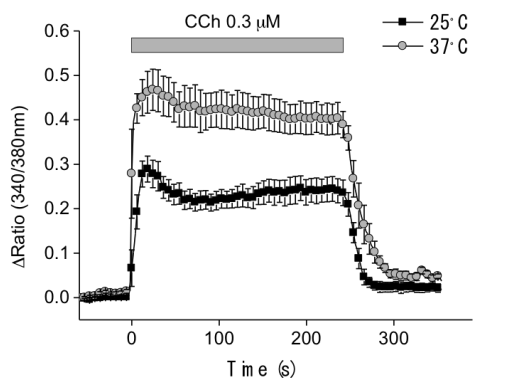


温度上昇に伴う唾液分泌量の増加は認められなかった。

以上の結果より、催唾剤として臨床応用されているセビメリンでは 37 から 42 への温度上昇に伴う唾液分泌量の増加が認められたことから、ハイパーサーミアと薬物療法との併用により口腔乾燥症の改善が期待できることが示唆された。また、カルシウムイオノフォアである A23187 による唾液分泌量に温度の影響が認められなかったから、温度に上昇に伴う唾液分泌量の増加はムスカリン受容体を介した唾液腺腺房細胞の刺激が必要であることが確認された。

(2)カルシウムイメージング法

温度上昇と細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を調査した結果、25 から 37 への温度上昇に伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を認めた。



細胞内カルシウム濃度は 25 から 37 への温度上昇に伴い、Peak 値、Plateau 値のいずれにおいても上昇していた。

(1)(2)の結果より、唾液腺組織自体に温度感受性の唾液分泌の増加が認められること、(1)- および(2)の結果から、ムスカリン性受容体を介した唾液腺腺房細胞内カルシウム濃度の上昇が温度上昇に伴う唾液分泌量増加の原因であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

T Mukaibo, T Nakamoto, Y Kondo, M Kidokoro, A Imamura, C Masaki and R Hosokawa

Thermal influence of saliva secretion ex vivo in the mouse submandibular gland

Open Journal of Stomatology

Volume3, Issue 1, March2013, p83-88

Doi: 10.4236/ojst.2013.31015 査読あり

Kidokoro M, Nakamoto T, Mukaibo T, Kondo Y, Munemasa T, Imamura A, Masaki C, Hosokawa R. Na^{+} - K^{+} -2Cl⁻ co-transporter-mediated fluid secretion increases under hypotonic osmolarity in the mouse submandibular salivary gland. *Am J PhysiolRenal Physiol*. 2014 May 15;306(10):F1155-60.doi:10.1152/ajprenal.00709.2012. 査読あり

〔学会発表〕(計 1 件)

The 90th General Session & Exhibition of the IADR 平成 24 年 6 月 20 日-23 日 Iguaz, Brazil A Physiological Comparison of the Three Major Mammalian Salivary Glands T. Nakamoto, J. Melvin, Y. Kondo, T. Mukaibo, M. Kidokoro, A. Imamura, C. Masaki and R. Hosokawa

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

向坊 太郎 (MUKAIBO TARO)
九州歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：50635117

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：