

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861774

研究課題名(和文)咀嚼刺激による唾液腺水分分泌機能の維持・再生メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of mechanisms maintaining and regenerating secretory function of water in salivary glands that occurs mastication

研究代表者

水町 真理子(Mizumachi, Mariko)

東京医科歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：00706955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：咀嚼機能の変化および回復によって引き起こされる唾液腺の水分分泌機能の変化について明らかにすることを目的に検討を行った。本研究において、咀嚼機能低下群でAQP5は顎下線の腺房細胞頂端側、細胞間分泌細管での免疫反応の低下が認められ、発現分布が変化した。咀嚼機能回復により、AQP5の発現が再び認められるようになることが明らかとなった。これらのことより、咀嚼環境は唾液腺の水分分泌機能へ影響を及ぼすこと、また咀嚼環境の改善によって水分分泌機能は回復することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated alteration of water secretory function in salivary glands that occurs change and recovery of mastication. In this study, we elucidated that AQP5 was detected on the apical membrane of acinar cells, inter cellular secretory canaliculi of acinar cell in submandibular salivary gland in the masticatory hypofunction group, but the staining appeared to be less prominent than that in the control group. In the masticatory recovery group, expression of AQP5 was observed on that area again. These result.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：唾液腺 AQP5 咀嚼

## 1. 研究開始当初の背景

唾液は水、電解質、タンパク質などから構成され、食塊形成作用や消化作用、粘膜保護作用、抗菌作用など様々な役割を有している。中でも水は唾液の99%を占めており、唾液腺において水輸送は極めて重要である。

唾液腺の水分泌機能の低下は口腔乾燥症として知られており、著しいQOLの低下を引き起こす。口腔乾燥症は多くの潜在患者がいる可能性が指摘されており、今後の高齢化社会に伴いますます増加が予想されるため、予防法の解明および治療法の確立は急務である。

歯科領域との関連が深い咀嚼が、唾液分泌に及ぼす影響については過去より様々な研究が行われており、歯の喪失や咬合力の低下に伴い唾液分泌量が減少すること、液状飼料飼育や粉末飼料飼育などの咀嚼環境の変化によって唾液腺の重量減少、腺房細胞の萎縮などが報告されていることから、咀嚼は唾液分泌を促進するだけでなく、唾液腺の腺組織としての機能維持のためにも必要不可欠であると考えられている。

われわれは過去に、アクアポリン(AQPs)という水チャネルである膜タンパクに注目し、ラットを用いた研究から、臼歯抜去による咀嚼環境の変化が顎下腺のAQP5の発現分布に影響を与え、水分泌機能の低下を招くことを明らかにした。

## 2. 研究の目的

これまでの背景をもとに、本研究では咀嚼と唾液腺の水分泌機能の関連性についてさらなる追及を行い、唾液腺の機能回復メカニズムの一端を解明することを目的とした。具体的には以下の点を明らかにすることとした。

咀嚼環境の変化によって引き起こされるAQPsの発現および分布の変化についてさ

らなる検討を行う

咀嚼環境の改善による唾液腺水分泌機能の回復メカニズムの探求

## 3. 研究の方法

(1) 実験モデルの作成および唾液腺形態の評価

Wistar系雄性ラットも用いて、咀嚼機能低下および回復を行うことのできるモデルを作製し、唾液分泌や唾液腺の形態変化の評価を行う。

(2) 唾液腺におけるAQP5の発現分布の評価

ラットより摘出した唾液腺におけるAQP5の発現分布について生化学的手法および免疫組織化学的手法を用いて明らかにする。

(3) 唾液腺における他のAQPsの発現分布の評価

唾液腺に存在することが明らかになっているものの、未だ役割が不明なAQP1、AQP3、AQP8の発現について検討を行い、AQP5の発現分布変化との関連について検討を行う。

## 4. 研究成果

(1) 実験モデルの作成および唾液腺形態変化の評価

研究当初は咀嚼機能低下モデルとして、液状飼料飼育ラットを用い、実験終了時まで液状飼料を与えたものを機能低下群、実験の途中から固形飼料に変えたものを、回復群、固形飼料のみを与えたものを対照群として用いる予定であったが、試料の含水量が唾液腺のAQP5に影響を及ぼす可能性が示唆されたため、別のモデルを用いることとした。

Wistar系雄性ラットの上顎前歯部にバイトプレート、下顎前歯部にメタルキャップを装着したものを機能低下群、実験開始後2週間で装置を除去したものを回復群、何も装着しないものを対照群として用いた。

実験開始 1 週間後、2 週間後、4 週間後それぞれ屠殺を行い、顎下線、耳下腺、舌下線を摘出した。

湿重量を測定したところ、顎下線において対照群では実験期間中を通して、ほとんど変化がなかったが、機能低下群では対照群と比較して湿重量の増加が認められた。機能低下群の湿重量は実験開始 1 週間後、2 週間後で増加傾向を認めるものの、4 週間後では減少傾向を示した。また、回復群は実験開始 2 週間後までは湿重量が増加し、4 週間後で著しく低下したが、対照群と同じレベルまでは回復しなかった。耳下腺、舌下線も同様の傾向を示したが、顎下線ほど明らかではなかった。

摘出した顎下線をパラフィン包埋した後、切片を作製し、HE 染色を行った。実験群の顎下線では腺房細胞の肥大化が認められた。回復群では実験開始 2 週間後までは肥大化が認められるものの、4 週間後には腺房細胞の縮小傾向が認められた。耳下腺も同様の傾向が認められたが、顎下線に比べて変化は小さいものであった。舌下線では対照群、実験群、回復群で明らかな形態変化は認められなかった。

## (2) 唾液腺における AQP5 の発現分布の評価

ラットの顎下線における AQP5 の発現について免疫組織学的手法を用いて、評価を行った。対照群では、過去の報告と同様に腺房細胞頂端側、細胞間分泌細管および介在部導管の管腔側細胞質に AQP5 の集積が認められた。一方で、機能低下群では腺房細胞頂端側、細胞間分泌細管で若干の AQP5 の集積が認められるものの、免疫反応は著しく低下し、発現分布の変化が認められた。回復群では対照群に比べて染色性の低下が認められるものの、腺房細胞頂端側、細胞間分泌細管、介在部導管の管腔側細胞質い

ずれも発現が認められた。現在 AQP5 の発現について定量評価を行うため、リアルタイム PCR やウエスタンブロッティング法などの生化学的手法を用いて解析中である。

## (3) 唾液腺における他の AQP5 の発現分布の評価

唾液腺には AQP5 の他にも AQP1、AQP3、AQP8 が存在することが知られているが、その役割については不明な点が多い。今後、AQP1、AQP3、AQP8 の発現量、分布の変化について免疫組織学的手法および生化学的手法を用いて解析し、AQP5 の発現分布変化による唾液腺の水分泌機能の低下および回復に対する他の AQP5 が関与する代償的な働きの有無について検討を行う予定である。

## 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)

(1)Privatananupunt J, Watari I, Kataryzna A, Kubono M, Ono T.

Expression of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and its receptor in the rat major salivary glands. *Acta Histochemica*, 査読有, 2014 年, 116 巻 545 - 550

(2) Hsu JC, Watari I, Ono R, Privatananupunt J, Mizumachi-Kubono M, Honda K, Ishida Y, Ono T.

Degeneration of fungiform and circumvallate papillae following molar extraction in rats.

*Acta Odontologica Scandinavica*, 査読有, 2014 年, 72 巻 880-886

[学会発表](計 2 件)

(1) Ershu Ren, Ippei Watari, Jui-Chin Hsu, Rieko Ono, Emi Ina Wakasugi-Aoyama, Mariko Mizumachi-Kubono, Katarzyna Anna Podyma-Inoue, Tetsuro Watabe, Takashi Ono  
Unilateral nasal obstruction effects taste cell in circumvallate papillae in rats.

International Symposium on Olfaction and Taste, ISOT, 2016-6-5 ~ 6-9, at PACIFICO YOKOHAMA, Yokohama, Kanagawa

(2) Beauboeuf Roody, Ippei Watari, Jui-Chin Hsu, Mariko Mizumachi-Kubono, Katarzyna Anna Podyma-Inoue, Tetsuro Watabe, Takashi Ono

Expression of GLP-1 and GLP-1 receptor in rat circumvallate papillae during growth period.

International Symposium on Olfaction and Taste, ISOT,2016-6-5 ~ 6-9, at PACIFIKO YOKOHAMA, Yokohama, Kanagawa

〔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

水町 真理子(MIZUMACHI MARIKO)  
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・非常  
勤講師  
研究者番号：00706955

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )