

令和元年5月15日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17184

研究課題名(和文) 補綴治療患者のオーラルフレイル予防を目指した口腔乾燥症治療イノベーション

研究課題名(英文) Innovation for dry mouth treatment that aims prevention of oral frailty in patients with prosthodontic treatment.

研究代表者

近藤 祐介 (KONDO, YUSUKE)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：00611287

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：老化は組織や細胞に著しい影響を及ぼすが、加齢が唾液腺機能に与える影響には未だ不明な点が多い。そこで本研究は、老化促進モデルマウスである Senescence-accelerated mouse prone 1 (SAMP1) を用いて、加齢が顎下腺 (SMG) および耳下腺 (PG) 機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

その結果、老化はPGとSMGへ異なる影響を与えること、SMGにおいてのみ細胞老化とそれに伴う慢性炎症が生じ、さらに水チャネルの発現量が低下することにより、唾液分泌量が減少することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔乾燥症はカリエスリスクの上昇、歯周病の増悪、嚥下障害や構音障害、義歯の装着困難など口腔環境に影響を及ぼし補綴歯科治療のリスク因子となる。義歯やクラウン、ブリッジ、インプラントなどが適切に機能していても口腔乾燥症の発症によりその機能は大きく失われる。既に超高齢社会の到来している本邦において、加齢による口腔乾燥症は超高齢社会において今後さらに患者数が増加するにもかかわらずその原因は不明であった。本研究で得られた結果は、そのメカニズム解明にとって重要なブレイクスルーとなり、今後の治療方法開発に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Aging affect a lot of tissues and cells, however, the aging effect on salivary gland function still remains controversial and unclear. This study aimed to evaluate the effects of aging on mouse parotid and submandibular gland function to gain insight into the association between aging and salivary gland function using Senescence accelerated mouse. Results of this study demonstrate that aged SMG function was diminished, and cell senescent, chronic inflammation and decreased gene expression of AQP5 could be proposed as the cause of hyposalivation in aged mouse SMG.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：口腔乾燥症 唾液腺 老化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

フレイルとは高齢者の筋力や活動が低下している状態であり、歯科口腔領域においては食環境の悪化から始まる筋肉減少を経て生活機能障害に至るものをオーラルフレイルと呼ぶ。オーラルフレイルを引き起こす要因は様々であるが、加齢に伴う唾液腺の機能低下も一因となる。唾液腺の機能低下は口腔乾燥症を引き起こし、口腔乾燥症はカリエスリスクの上昇、歯周病の増悪、嚥下障害や構音障害、義歯の装着困難など口腔環境に影響を及ぼし補綴歯科治療のリスク因子となる。義歯やクラウン、ブリッジ、インプラントなどが適切に機能していても口腔乾燥症の発症によりその機能は大きく失われる。

既に超高齢社会に突入した本邦では、加齢に伴う唾液腺機能低下に陥る高齢者が増加するため、唾液腺機能低下、口腔乾燥症、オーラルフレイル、フレイルへとつながる負の連鎖を断ち切る方法の開発が急務である。しかしながら、加齢と唾液腺機能の関連には不明な点が多く、その詳細な解明が必要とされている。

2. 研究の目的

老化促進モデルマウスである Senescence-accelerated mouse prone 1 (SAMP1)を用い、加齢が顎下腺 (SMG) および耳下腺 (PG) 機能に及ぼす影響を明らかにすることにより、高齢者における唾液腺機能低下のメカニズムを解明し治療法を開発し、オーラルフレイルを予防することを目的とした。

3. 研究の方法

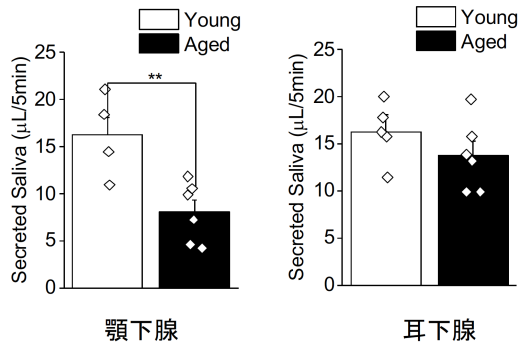
実験動物には雄性 SAMP1 を使用し、16 週齢を young 群、48 週齢を aged 群とした。In vivo 下において PG および SMG の唾液分泌を評価するため、ムスカリン性刺激薬(ピロカルピン)を腹腔内投与し、それぞれ唾液腺導管から分泌された唾液を回収し、分泌量を記録した。組織レベルにおける SMG の機能的評価には、生体から摘出した SMG を灌流した Ex vivo モデルを用い、ムスカリン性刺激(カルバコール)もしくはカルシウムイオノフォア(A23187)刺激を行い、唾液を回収した。また、SMG 腺房細胞内カルシウム濃度の測定にはカルシウム指示薬である Fura-2 AM を用い、ムスカリン性刺激薬(カルバコール)による刺激による細胞内カルシウム上昇をイオンイメージング法にて解析した。組織学的解析にはヘマトキシリン・エオジン染色と免疫組織化学(Transmembrane member 16 (TMEM16A); Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 (NKCC1); Aquaporine 5 (AQP5), CD4)を用い、生化学的解析にはリアルタイム RT-PCR(TMEM16A, NKCC1, AQP5, IL-6, p16 Ink 4a)を用いた。なお、統計学的解析には unpaired t test を用い、P<0.05 を有意とした。

4. 研究成果

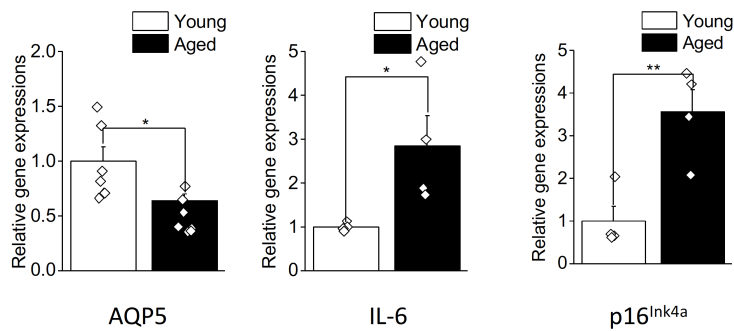
In vivo 解析において、SMG からの唾液分泌量は young 群と比較して aged 群において有意に低値を示したが、PG からの唾液分泌量は young 群と aged 群で同等であった。SMG 灌流 Ex vivo 解析では、ムスカリン性アゴニスト、カルシウムイオノフォアいずれの刺激においても、aged 群 SMG からの唾液分泌量は young 群 SMG より有意に減少した。その一方で、カルバコール刺激による細胞内カルシウム濃度上昇量は、young 群 SMG と aged 群 SMG において同等であった。ヘマトキシリン・エオジン染色を行ったところ aged 群 SMG に多くのリンパ球浸潤を認め、免疫組織化学の結果より aged 群 SMG に存在する多くのリンパ球細胞は CD4 陽性であることが明らかとなった。次いで、リアルタイム RT-PCR にて唾液分泌に関わる膜タンパク質 (Transmembrane member 16 (TMEM16A); Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 (NKCC1); Aquaporine 5 (AQP5)) の mRNA 発現量を評価したところ、TMEM16A と NKCC1 の発現量は、young 群 SMG と aged 群 SMG で同等であったが、AQP5 の発現量は、aged 群 SMG において young 群 SMG と比較して有意に低値であった。また、aged 群 PG における AQP5, TMEM16A, および NKCC1 の発現量は、young 群 PG と同等であった。さらに、炎症性サイトカインである Interleukin-6 (IL-6) と Tumor Necrosis Factor (TNF- α), 細胞周期調節に関与する p16Ink4a に関して mRNA 発現量を評価したところ、aged 群 SMG の IL-6 発現量は、young 群 SMG より有意に増加したが、aged 群 PG と young 群 PG 間に有意な差はなかった。一方で、TNF- α の発現量は PG と SMG それぞれにおいて young 群と aged 群で同等であった。また aged 群 SMG の p16 Ink4a の発現量は young 群 SMG より有意に増加を示したが、aged 群 PG の p16 Ink 4a 発現量は young 群 PG と同等であった。

以上の結果より、老化は PG と SMG へ異なる影響を与えることが明らかとなった。また、SMG において加齢による細胞老化とそれに伴う慢性炎症が生じ、さらに AQP5 の発現量が低下することにより、唾液分泌量が減少することが示唆された。

In vivo 唾液分泌



リアルタイムRT PCR (顎下腺)



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Miyagi Y, Kondo Y, Kusuda Y, Hori Y, Yamazaki S, Munemasa T, Mukaibo T, Masaki C, Hosokawa R. Submandibular gland-specific inflammaging-induced hyposalivation in the male senescence-accelerated mouse prone 1. *Biogerontology*. In press. 2019.

〔学会発表〕(計 2 件)

Miyagi Y, Kondo Y, Kusuda Y, Hori Y, Tsuka S, Mukaibo T, Masaki C, Hosokawa R. Aging affects muscarinic agonist-induced fluid secretion from submandibular gland. The 96th General Session & Exhibition of International Association for Dental Research. 2018/7/25-28. London, UK.

宮城 勇大, 近藤 祐介, 堀 裕亮, 宗政 翔, 向坊 太郎, 正木 千尋, 細川 隆司. 老化が唾液腺機能へ及ぼす影響について. 第 60 回 一般社団法人歯科基礎医学会学術大会. 平成 30 年 9 月 5-7 日 福岡.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年：
 国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。