

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 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：2011 ～ 2012

課題番号：23890195

研究課題名（和文） メカノバイオロジーによる口腔乾燥症治療法の新開発

研究課題名（英文） Development of a new therapy for xerostomia using mechanobiology

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

研究成果の概要（和文）：

申請者はムスカリン性刺激薬に温度刺激や浸透圧刺激といった物理刺激を組み合わせた、メカノバイオロジーを応用した口腔乾燥症に対する新規治療法の開発を目指し、本研究を立案した。その結果、唾液腺機能には温度感受性があり、それは細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇のメカニズムと関連していることが明らかになった。また、低浸透圧環境下において唾液分泌が亢進することが明らかになり、その要因として $Na^+K^+2Cl^-$ cotransporter の関与が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

I planned this study to develop a new therapy for xerostomia using mechanobiology combined with muscarinic agonists. As a result, it was revealed that salivary gland function is temperature-sensitive, which is associated with intracellular Ca^{2+} concentration increase. In addition, it is also clarified that the saliva secretion is updated in hypotonic environment, and the involvement of $Na^+K^+2Cl^-$ cotransporter activity has been suggested as the cause.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	1,200,000	390,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	780,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：唾液腺 顎下腺 口腔乾燥症 メカノバイオロジー

1. 研究開始当初の背景

口腔乾燥症はカリエスリスクの上昇、歯周病の増悪、義歯の装着困難等、口腔環境に大きな影響を及ぼし、歯科治療を行う上で非常に重要な疾患である。その原因は頭頸部悪性腫瘍に対する放射線治療やシェーグレン症候群だけでなく、さまざまな薬剤の副作用と

しても発症する。本邦では急速な高齢社会の到来により、慢性疾患を有しそれに関連した、もしくはその内服薬による口腔乾燥症患者が増加している。近年ではその治療薬としてムスカリン性刺激薬が応用されることもある。しかし十分に奏効しない症例も存在し、新規治療法の開発が必要とされている。

2. 研究の目的

温度や浸透圧といった物理刺激が上皮系細胞に及ぼす影響については過去に研究されており、細胞容積や細胞内 Ca^{2+} 濃度、細胞内 pH が変化するということが報告されている。しかし、腺レベルで唾液分泌が変化するかどうかを直接的に検討した報告はない。そこで申請者らは、物理刺激が唾液腺にどのような影響を与えるかを明らかにし、さらにメカノバイオロジーを用いた新規治療法の開発を目的とし本研究を立案した。

3. 研究の方法

実験には 8 週齢の c57Bl6/J マウスを用いた。なお、九州歯科大学動物実験委員会の承認を得て行っている。

(1) 腺レベルでの唾液分泌量の評価には、マウスから摘出した顎下腺を生体外で灌流する ex vivo マウス顎下腺灌流モデルを用いた。この方法を用いることにより、顎下腺に対する物理環境(温度・浸透圧)を正確にコントロールすることが可能になった。なお、唾液分泌にはムスカリン性刺激薬であるカルバコール(以下 CCh)を用いた。

(2) 細胞内シグナルとしてのイオン濃度評価には分散細胞に蛍光指示薬(Fura2-AM・BCECF-AM)を導入して行う細胞内イメージング法を用いた。また、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-\text{cotransporter1}$ (以下 NKCC1)の活性の評価には BCECF-AM 負荷細胞にて行うアンモニウムショック法を用いた。なお、NKCC1 の阻害薬としては Bumetanide を用いた。

4. 研究成果

(1) 唾液分泌量

まず温度変化による唾液分泌量の変化を検討した。その結果、 25°C から 37°C までは温度上昇に伴い唾液分泌量も増加するが、 42°C への上昇では唾液分泌量に有意な変化はみられないことが明らかになった(図 1)。また、灌流液の浸透圧を変化させたところ、10%低浸透圧では唾液分泌に変化はみられなかったが、30%低浸透圧にすることにより唾液分泌量が有意に増加することが明らかになった(図 2)。

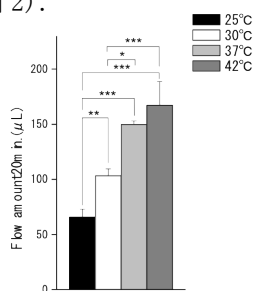


図 1 温度変化の唾液分泌への影響

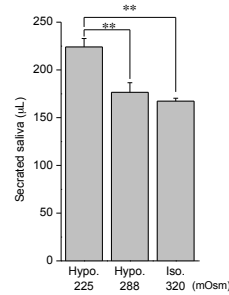


図 2 浸透圧変化の唾液分泌への影響

(2) 細胞内シグナリングの評価

温度変化による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇の変化を評価したところ、 25°C と比べ 37°C では大きな Ca^{2+} 上昇を示すことが明らかになった(図 3)。また、低浸透圧環境下において NKCC1 の活性が上昇し、それは Bumetanide により抑制されることが明らかになった(図 4)。

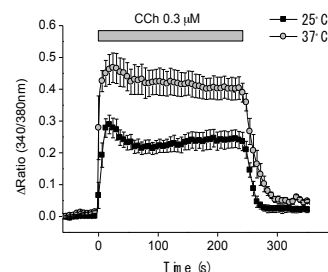


図 3 温度の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇への影響 (縦軸に細胞内 Ca^{2+} 濃度を示す)

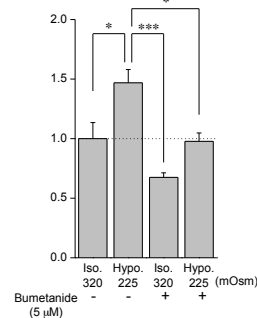


図 4 浸透圧変化の NKCC1 活性への影響 (縦軸に NKCC1 の活性を示す)

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 1 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*, 3:83-88, 2013. Doi: 10.4236 査読あり

〔学会発表〕（計 1 件）

M Kidokoro, A Imamura, Y Kondo, T Mukaibo, C Masaki, R Hosokawa and T Nakamoto, Hyper- and hypo- osmolarity on submandibular gland function, *The 59th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research*, 2011/10/8-9, Hiroshima city

〔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

とくになし

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：