

令和元年6月27日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20573

研究課題名(和文) 唾液腺再生を制御する幹細胞の解明と薬剤の応用

研究課題名(英文) The elucidation of stem cell in salivary gland reproduction by using drug

研究代表者

皆木 瞳 (Minagi, Hitomi)

大阪大学・歯学研究科・特任研究員

研究者番号：70754810

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：唾液分泌障害に対し、唾液腺を修復する再生医療の確立が期待されている。臓器再生を図る上で、シグナル伝達機構の解析は必須であるが、唾液腺では損傷-再生過程の調節機構についての包括的な報告はこれまでにない。本研究は唾液腺が分枝形態形成を行うという視点から唾液腺損傷-再生過程を解析し、臓器再生に応用し治療に生かすための研究基盤を確立することが目的とした。国内外の学会で成果発表を行い、研究成果に関して国内外の研究者から広く意見を求めた。また本研究の研究成果を権威ある学術雑誌に投稿し掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液腺の損傷-再生過程を解析し、臓器再生に応用し治療に生かすための研究基盤を確立することが目的とし研究を遂行した。内容の一部は「Benefits of long-term pilocarpine due to increased muscarinic acetylcholine receptor 3 in salivary glands」と「Runx1 mediates the development of the granular convoluted tubules in the submandibular glands」として権威ある雑誌に報告した。

研究成果の概要(英文)：I analyzed a salivary gland damage - reproduction process for regeneration salivary gland. I reported articles in an authoritative magazine, "Benefits of long-term pilocarpine due to increased muscarinic acetylcholine receptor 3 in salivary glands" and "Runx1 mediates the development of the granular convoluted tubules in the submandibular glands".

研究分野：唾液腺

キーワード：唾液腺 再生医療 顎下腺 ピロカルピン塩酸塩

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

### 1. 研究開始当初の背景

唾液は唾液腺から分泌され、消化作用など多くの生理作用を有している。放射線治療やシェーグレン症候群に伴う重篤な唾液分泌障害は、嚥下障害を始めとした口腔機能障害を引き起こし、QOLの低下をもたらす。唾液分泌障害に対して現在のところ腺機能を回復させる根本的な治療法はなく、唾液腺組織そのものを修復する再生医療の確立が期待されている。このような背景のもと、我々の研究室では様々なアプローチによる唾液腺再生研究に取り組んできた。2014年にはホルモンであるメラトニンがオートクライン的に分枝形態形成を調節することを明らかにし、臓器形成を制御する因子として応用できる可能性を示した(Obana and Ono et al. PLoS ONE 2015)。また、iPS細胞から分泌する因子が唾液腺細胞の発達・分化に影響を与えており、唾液腺細胞を共培養することで分化した形態と機能を有する再生唾液腺を形成することを明らかにした(Ono et al. Biomed Res Int. 2015)。

唾液腺再生の分野で近年注目されているのが、唾液腺の前駆細胞の存在である。前駆細胞に関しては多数報告があるが、ほとんどの報告は胎仔モデルを利用した発生期における前駆細胞の検討にすぎず、またそれらの詳細な調整機構については未解明な部分が多く残されている。そこで我々は前駆細胞の網羅的解析を行い、前駆細胞を活性化する物質を発見し応用することで、より臨床応用に近い唾液腺再生が図られると着想した。また前駆細胞を活性化させる物質としては生体安全性が確認された物質が適当と考え、唾液分泌障害に対する内服治療薬であるピロカルピンに注目した。ピロカルピンは、唾液腺の腺房細胞のムスカリン受容体を刺激することにより、唾液分泌を促進する薬剤である。2007年に臨床使用が可能となり、その治療効果について多くの報告がみられる。しかしながら、ピロカルピンが唾液腺そのものに与える影響や分子機能メカニズムについてもほとんど解析されていないのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究は唾液腺組織再生における前駆細胞を特定し、前駆細胞を活性化させる因子を明らかにし、治療へ応用するための研究基盤を確立することが目的である。我々は予備実験として口腔乾燥症治療薬である塩酸ピロカルピン(以下、ピロカルピン)が幹細胞マーカーの遺伝子発現を上昇させることを明らかにした。前駆細胞の役割を明確にし、ピロカルピンの唾液腺に対する作用機序を詳細に解明することで、唾液腺再生を行う上での指標となり、再生医療の可能性を拡大させるだけでなく、重篤な唾液分泌障害の新たな治療法になると考えられる。

### 3. 研究の方法

まずは唾液腺障害/再生モデルにおける唾液腺前駆細胞の機能解析を行う。方法としては導管結紮と放射線照射による唾液腺障害/再生モデルマウスを作製する。そしてモデルマウス唾液腺を経時的に摘出し、前駆細胞の組織学的、機能学的評価を行う。次にピロカルピンの唾液腺再生効果の検討を行う。コントロール群と投与群の唾液分泌促進能と、唾液腺の組織学的解析にて比較を行う。その後、胎仔唾液腺の器官培養法を用いて、唾液腺再生におけるピロカルピンの分子機能解析を行う。さらにピロカルピンの術前投与を行った後、放射線照射を行う唾液分泌能、組織再生能を検討する。

### 4. 研究成果

国内学会に参加し、成果発表を行った。さらには国内外の研究者からの意見を収集するために国際学会で発表を行った。また、研究結果を世界に発表を行うために英語論文雑誌に投稿を行った。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計7件)

Ono-Minagi H, Okuno K, Nohara K, Sakai T, Predictors of side effects with long-term oral appliance therapy for obstructive sleep apnea syndrome, J Clin Sleep Med, 2017, 14(1):119-125, 2018 (査読有)

Ono-Minagi H, Sarper ES, Kurosaka H, Kuremoto K, Taniuchi I, Sakai T, Yamashiro T, Runx1 mediates the development of the granular convoluted tubules in the submandibular glands, PLoS ONE, 12(9):e0184395.Sep 2017 (査読有)

Ono H §, Obana A §, Usami Y, Sakai M, Nohara K, Egusa H, and, Sakai T, Regenerating salivary glands in the microenvironment of induced pluripotent stem cells, BioMed Research International: 293570, 2015 (§ These authors contributed equally to this work.) (査読有)

Obana-Koshino A §, Ono H §, Uchida H, Miura J, Nakamura W, Nohara K, Maruyama Y, Hattori A and Sakai T, Melatonin inhibits embryonic salivary gland branching morphogenesis by regulating both epithelial cell adhesion and morphology, PLoS ONE, pone.0119960, 2015 (§ These authors contributed equally to this work.) (査読有)

Araie T, Okuno K, Ono-Minagi H, Sakai T, Dental and skeletal changes associated with long-term oral appliance use for obstructive sleep apnea: A systematic review and meta-analysis. Sleep Medicine Reviews. in press, 2018 (査読有)

Sakai M, Matsushita T, Hoshino R, Ono H, Ikai K, Sakai T, Identification of the protective mechanisms of Lactoferrin in the irradiated salivary gland. Sci Rep. 7(1): 9753, 2017 (査読有)

Uchida H, Nakamura TJ, Takasu NN, Koshino AO, Ono H, Todo T, Sakai T, Nakamura W, The central clock controls the daily rhythm of Aqp5 expression in salivary glands, J Physiol Sci, 2017 (査読有)

〔学会発表〕(計4件)

Hitomi Ono, Kazuki Ikai, Takumi Matsushita, Manabu Sakai and Takayoshi Sakai, Pilocarpine benefit in stem cell therapy ; regeneration for human and mouse salivary glands, Gordon research congerence, Texas, 2017

小野 瞳、Sarper Safiye Esra、山城 隆、阪井丘芳、唾液腺の形態形成における性差とRunx1の制御機構について、北海道、2016

小野 瞳、井階一樹、阪井丘芳、口腔乾燥治療薬の継続服用による有効性の検討、北海道、2016

阪井丘芳、皆木 瞳、Sarper Safiye Esra、黒坂 寛、井階一樹、山城 隆、唾液腺組織におけるRunx1の役割と性ホルモンとの関係、口腔機能維持回復のための研究発表、東京、2018

〔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：  
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：  
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。