

平成 22 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19390540  
 研究課題名 (和文) 老化に伴う水チャネルの分子基盤構築の破綻と咀嚼・嚥下能の低下及びその予防と改善法  
 研究課題名 (英文) Impaired scaffold formation of AQP5 during aging: in the relation with mastication and swallowing  
 研究代表者  
 石川 康子 (ISHIKAWA YASUKO)  
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授  
 研究者番号：40144958

研究成果の概要 (和文)：老いても QOL の高い健全な社会生活を営むため、加齢に伴う口腔乾燥症の発症機序を水チャネル・アクアポリン(AQP) 5 やその足場蛋白質との関連で追究するとともに、唾液中の AQP5 を用いた口腔乾燥症の診断キットを開発し、そのキットで得た値が咀嚼・嚥下能の老性低下と連動しているか検討した。次に、AQP5 の刺激に伴う細胞内移動は老性低下し、加齢に伴い AQP5 の移動の方向性も変化していたので、これらの老性変化の予防と改善を植物セラミドを投与して検討した。

研究成果の概要 (英文)：In order to spend a sane social life with the high quality even if we grow old, we investigate mechanism of pathogenesis of xerostomia caused by aging in relation with AQP5 and scaffold proteins. We developed a diagnostic kit of xerostomia using AQP5 in saliva. We examined whether the impaired mastication / swallowing ability linked decreasing the value that we obtained with the kit. The decreasing of AQP5 trafficking and the enhancement of AQP5 mistrafficking to basal plasma membrane were improved by administration of plant ceramide.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2007 年度 | 7,000,000  | 2,100,000 | 9,100,000  |
| 2008 年度 | 4,200,000  | 1,260,000 | 5,460,000  |
| 2009 年度 | 3,100,000  | 930,000   | 4,030,000  |
| 年度      |            |           |            |
| 年度      |            |           |            |
| 総計      | 14,300,000 | 4,290,000 | 18,590,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：社会歯科学、水チャネル、アクアポリン、老化

## 1. 研究開始当初の背景

口腔は運動系機能と感覚系機能とが相互に影響を及ぼしあって統合され、咀嚼、嚥下、発声のみならず味覚や温覚の受容など高度

で複雑な機能を営む器官である。この二つの機能の統合に中心的役割を果たしているのが唾液である。唾液の構成成分の 99% は水であることから、唾液腺からの水分分泌は口腔機

能に極めて重要である。一方、我が国をはじめ先進諸国は急速な勢いで超高齢化社会を迎えているが、老いても QOL の高い健全な社会生活を営むには、高齢者も健全な咀嚼・嚥下機能を保持していることが、極めて重要である。

水を選択的に通す水輸送蛋白質である水チャネル・アクアポリン(AQPs)が広く動植物界で発見され、盛んな研究が行われている。ヒトの AQP の遺伝子は AQP0~AQP12 の 13 個が知られており、唾液腺には AQP1, 3, 5, 8 の存在が報告されている。私共は、唾液腺に局在する AQPs の機能発現・制御の神経性調節機構や口腔乾燥症の発症機序および唾液分泌促進薬について研究している。

## 2. 研究の目的

水を選択的に通す水輸送蛋白質である水チャネル・アクアポリン(AQP) 5 との関連で、高齢による咀嚼・嚥下機能の低下機序と予防および改善法を開発することを目的としている。

## 3. 研究の方法

(1) 口腔乾燥症の検査法確立-遺伝子組み換えヒト型 AQP5 抗体を作成し、ヒト唾液中の AQP5 量を測定する ELISA 法を確立した。20~79 歳の男女の唾液を採取し、この ELISA キットを用いて唾液中の AQP5 量を測定して数値化した。

(2) 唾液中 AQP5 量と咀嚼・嚥下能との関連性の追求-SD 系雌雄ラット 12, 24, 52, 104 週齢の唾液量と唾液中 AQP5 量を測定するとともに、嚥下筋細胞のシグナルトランスダクション系酵素を測定した。

(3) AQP5 の細胞内移動に関する研究-SD 系雄ラット 12, 24, 52, 104 週齢へムスカリン性アセチルコリン受容体作用薬・セビメリンを尾静脈より投与し経時的に唾液腺を摘出し、抗 AQP5、抗 GM1、抗 flotillin-2 等の各種抗

体で免疫染色し、共焦点顕微鏡で観察した。

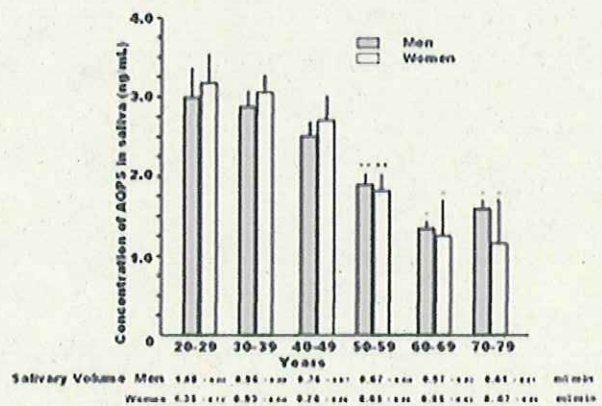
(4) AQP5 の細胞内移動改善に関する研究-SD 系雄ラット 10, 40, 92 週齢へ各種のサプリメントを 12 週間投与し、(3)と同様の実験に供した。

## 4. 研究成果

### (1) 口腔乾燥症の検査法確立

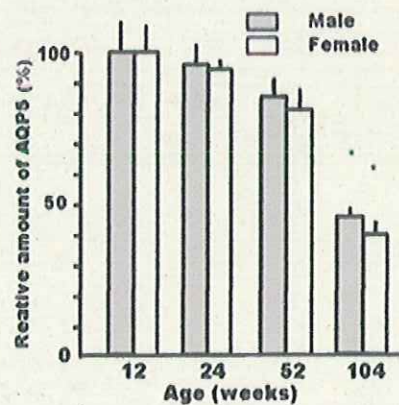
作成した測定するキットを用いて 20~79 歳のヒトの唾液中の AQP5 濃度を測定すると、60 歳以上になるとその濃度が 20 歳代のヒトの半分以下にまで低下した(図 1)。唾液量も 60 歳以上になると 20 歳代のヒトの半分以下となり、この両者には正の相関が認められた。即ち、唾液中の AQP5 濃度の老性低下を口腔乾燥症の診断マーカーに使用することが可能である。

図 1



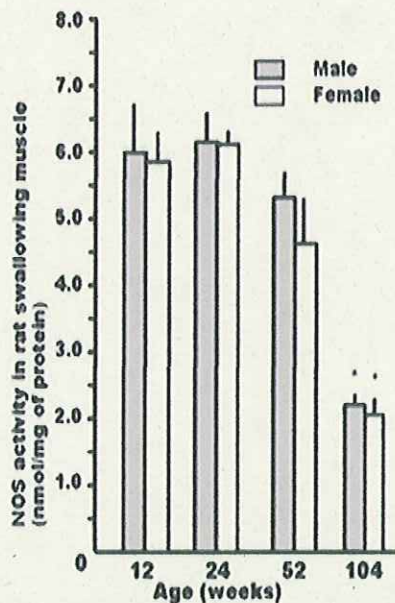
(2) 唾液中 AQP5 量と咀嚼・嚥下能との関連性  
ラットの唾液中の AQP5 濃度(図 2)と嚥下筋

図 2



のシグナルトランスダクションとの関連をみると、嚥下筋の NO 合成酵素の老性低下(図 3)とよい相関が認められた。

図 3



(3) AQP5 の細胞内移動の老性低下と移動の方向性の変化

①成熟及び老齢ラット耳下腺・顎下腺・舌の小唾液腺における AQP5 や複合体分子の細胞内局在と刺激に伴う局在変化と老性変化の組織学的解析では、セビメリン刺激による唾液腺における AQP5 の細胞内移動は、加齢に伴い管腔膜への移動が減り、基底膜への移動が増えた。

②AQP5 のグリコシル化が加齢に伴い減少し、N-グリコシル化酵素に老性低下を認めた。

③成熟および老齢ラット耳下腺・顎下腺・舌の小唾液腺における AQP5 や複合体分子の管腔膜、基底側膜、細胞内膜、ラフトにおける局在と神経刺激による変動と老性変化の生化学的解析では、無刺激時にラフト画分への蓄積を認めた。

④ スフィンゴ脂質を含む脂質・ラフトの管腔膜へのコンパートメンタリゼーションが老齢ラットでは低下していた。①にて AQP5 が加齢に伴い管腔膜への移動が減っていた

が、本結果からスフィンゴ脂質を含む脂質・ラフトの管腔膜へのコンパートメンタリゼーションの低下が AQP5 の管腔膜へのソーティングを低下させている原因であると考えられる。

(4) 老化に伴う AQP5 の分子基盤構築破綻の予防と改善法

AQP5 の細胞内移動の老性低下や移動の方向性変化、ラフト画分へのコンパートメンタリゼーション、N-グリコシル化酵素の活性を種々のサプリメントを投与して検討したところ、植物セラミドの投与により改善される傾向を認めた。

#### 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 4 件)

- ① Yan Pan, Fusako Iwata, Di Wang, Masahiro Munaguchi, Keiko Ooga, Yasukazu Oomoto, Masaaki Takai, Gota Cho, Jinsen Kang, Masayuki Shono, Xue-jun Li, Ko Okamura, Toyoki Mori, Yasuko Ishikawa Identification of aquaporin-5 and lipid rafts in human resting saliva and their release into cevimeline-stimulated saliva, *Biochimica Et Biophysica Acta*, 査読有、Vol.1790、2009、pp.49-56
- ② Di Wang, Fusako Iwata, Masahiro Muraguchi, Keiko Ooga, Yasukazu Ohmoto, Masaaki Takai, Toyoki Mori, Yasuko Ishikawa. Correlation between salivary secretion and salivary AQP5 levels in health and disease. *The Journal of Medical Investigation*, 査読有、Vol.56、2009、pp.350-353
- ③ Hideki Ohnishi, Satoshi Iwanaga, Kazuyoshi Kawazoe, Keisuke Ishizawa, Sakiko Orino, Shuhei Tomita, Koichiro Tsuchiya, Yasuhisa Kanematsu, Nagakatsu Harada, Kazuhiro Mori, Tomoko Tsuchihashi, Yasuko Ishikawa Toshiaki Tamaki. Effect of iron-querccetin complex on reduction of nitrite in in vitro and in vivo systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 査読有、Vol.56、2008、10092-10098
- ④ 張剛太, 岡村航, 石川康子. 水チャネ

ル・アクアポリン, 日本薬理学雑誌, 査読有、129巻, 2007, 136-137

[学会発表] (計 15 件)

- ① Di Wang, Gota Cho, Ko Okamura, Yasuko Ishikawa Activation of M3 muscarinic receptors in rat parotid acinar cells induced AQP5 trafficking to nuclei and apical plasma membrane. 第 83 回日本薬理学会年会. 2010 年 03 月 17 日、大阪
- ② 王 頌、岩田房子、村口正宏、大賀恵子、大本安一、高井正明、森豊樹、石川康子. 唾液中の水チャネル・アクアポリン 5 のバイオマーカーとしての評価. 第 83 回日本薬理学会年会. 2010 年 3 月 16 日、大阪
- ③ Di Wang, Gota Cho, Ko Okamura, Yasuko Ishikawa Activation of  $\alpha$ 1-adrenoceptors in rat parotid acinar cells induced AQP5 and GM1 trafficking to apical plasma membrane and nuclei. 第 83 回日本薬理学会年会. 2010 年 3 月 16 日、大阪
- ④ 王 頌、石川康子. 耳下腺腺房細胞における水チャネル・AQP5 の核と管腔膜への移動. 第 51 回歯科基礎医学会学術大会・総会. 2009 年 09 月 11 日、新潟
- ⑤ 石川康子、王 頌、岡村航. ムスカリン受容体刺激による水チャネル・アクアポリンの動態. 第 51 回歯科基礎医学会学術大会・総会サテライトシンポジウム. 2009 年 9 月 9 日 10 日、新潟
- ⑥ Di Wang, Fusako Iwata, Masahiro Muraguchi, Keiko Ooga, Yasukazu Ohmoto, Masaaki Takai, Toyoki Mori, Yasuko Ishikawa Correlation between salivary secretion and salivary AQP5 levels in health and disease. The 11<sup>th</sup> International Symposium on Exocrine Secretion (ISES), Tokushima 09. July 24, 2009, Tokushima
- ⑦ Di Wang, Ko Okamura, Yasuko Ishikawa. Association of salivary AQP5 and lipid rafts with salivary volume in men and women. 第 82 回日本薬理学会年会. 2009 年 03 月 16 日、横浜
- ⑧ 石川康子、王 頌、高嶋まゆ子、岡村航. ヒト分泌唾液中の水チャネル・アクアポリンと脂質・ラフトの検査指標としての価値. 第 53 回日本唾液腺学会、2008 年 12 月 6 日東京
- ⑨ Di Wang, Fusako Iwata Masahiro Munaguchi Keiko Ooga, Yasukazu Oomoto, Masaki Takai, Toyoki Mori, Yasuko Ishikawa. Identification of aquaporin-5 and lipid rafts in human resting saliva and their

release into cevimele-stimulated saliva. The International Symposium on Oral Sciences to Improve the Quality of Life. September 6, 2008, Tokushima

- ⑩ 王 頌、石川康子、ヒト分泌唾液中の水チャネル・AQP5 と脂質・ラフトの検査パラメーターとしての検討. 第 50 回歯科基礎医学会、2008 年 9 月 23 日、東京
- ⑪ 康金森、張剛太、王 頌、石川康子. 唾液中 AQP5 と脂質・ラフトの動態. 第 81 回日本薬理学会年会. 2008 年 3 月 19 日
- ⑫ 張剛太、王 頌、康金森、岡村航、中條信義、石川康子、M3 ムスカリン受容体刺激による AQP5 と脂質・ラフトの管腔膜と核への細胞内移動. 第 81 回日本薬理学会年会. 2008 年 3 月 18 日
- ⑬ 張剛太、康金森、王 頌、中條信義、石川康子. 耳下腺腺房細胞における水チャネル・AQP5 と脂質・ラフトの刺激による細胞内移動と唾液への遊離. 第 52 回日本唾液腺学会 2007 年 12 月 8 日、東京
- ⑭ 康金森、張剛太、岡村航、中江良子、石川康子. ヒト分泌唾液中の水チャネル・AQP5 と脂質ラフトの動態. 第 49 回歯科基礎医学会、2007 年 8 月 30 日、北海道
- ⑮ 張剛太、康金森、岡村航、中江良子、石川康子. 耳下腺腺房細胞における水チャネル・AQP5 と脂質ラフトの細胞内移動. 第 49 回歯科基礎医学会、2007 年 8 月 30 日、北海道

[図書] (計 1 件)

石川康子、大本安一、高井正明、森豊樹 朝倉書店、口腔と唾液腺 「からだの水の事典」 佐々木成、石橋賢一編 2008, 155-162 頁.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 唾液中の脂質・ラフトおよび AQP5 を用

いた唾液腺機能検査と全身疾患検査法

発明者: 石川康子、大本安一、高井正明、森豊樹

権利者: 国立大学法人徳島大学、大塚製薬株式会社

種類: 特許権

番号: 1942007JP

出願年月日: 平成 19 年 3 月 29 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 康子 (ISHIKAWA YASUKO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス

研究部・准教授  
研究者番号：40144958

(2)研究分担者

岡村 航 (OKAMURA KO)  
大阪大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：50437381

庄野 正行 (SHONO MASAYUKI)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・技術職員  
研究者番号：60380101