

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19155

研究課題名(和文) 老化・加齢に伴う口腔疾患に対するラパマイシンを利用した新たな治療薬・治療法の探索

研究課題名(英文) Establishment of new treatments using Rapamycin for Age-Related Oral Disorders

研究代表者

酒井 学 (Sakai, Manabu)

天理大学・医療学部・講師

研究者番号：50643376

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)：これまで抗老化作用があるラパマイシンの唾液腺に与える影響についての検討は行われていない。そこで本研究ではラパマイシンを利用した老化に伴う様々な口腔疾患に対する新たな治療薬・治療法を確立することを目的とし、唾液腺の器官培養とC57BL/6J-Aged老化マウスを使用して検討を行った。その結果、mTORシグナル経路が唾液腺の発達に重要な役割を果たすことを明らかにし、ラパマイシンがmTORC1シグナル経路を介して唾液腺の発達を調節することを明らかにした。更にはC57BL/6J-Aged老化マウスが年齢を重ねるにつれて唾液腺の炎症と飲水量を増加させ、反対にアミラーゼ活性を減少させることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液腺の生育のためにmTORシグナル経路の上流ではPI3K/AKT経路、下流ではS6Kや4eBP1を介して重要な役割を果たしていた。C57BL/6J-Aged老化マウスは年齢を重ねるにつれて唾液腺の炎症と飲水量を増加させ、反対に機能マーカーであるアクアポリン5、唾液アミラーゼ、ムスカインレセプターの発現を減少させていた。の結果から、抗老化作用があるラパマイシンがmTOR経路を介してマウスの老化に伴う変化を制御できる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：There have been no studies on the effects of rapamycin, which has anti-aging effects, on salivary glands. Therefore, in this study, we aimed to establish a new therapeutic agent and treatment for various oral diseases associated with aging using rapamycin, and examined it using salivary gland organ culture and C57BL/6J-Aged aged mice. The results revealed that the mTOR signaling pathway plays an important role in salivary gland development and that rapamycin regulates salivary gland development via the mTORC1 signaling pathway. Furthermore, we found that C57BL/6J-Aged aging mice increase salivary gland inflammation and water consumption with age, and conversely decrease amylase activity.

研究分野：分子生物学

キーワード：老化 唾液腺 ラパマイシン

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界的に社会の高齢化が問題となりつつある現在、日本にとっても高齢者が精神的にも肉体的にも健康を維持し、より良い社会生活を送っていくことは重要であり、そのためには確固とした科学的基盤に基づいた老化・寿命研究が必要である。世界中でこれまでに約 20 年という歳月が老化・寿命研究に費やされ、老化・寿命制御のメカニズムを理解するうえで大きな進歩がみられている。日本においてもこの分野における注目が高まっており、2017 年は老化・寿命研究に関する基礎研究にはじめて研究費が下りるなど、今後も益々発展する研究分野である。口腔領域においては、老化・加齢は口腔粘膜疾患や口腔癌の増加、細菌に対する免疫力低下による歯周病感染など様々な疾患の引き金となっている。それらの疾患の中でも口腔乾燥症状(ドライマウス)は、唾液分泌機能を有する唾液腺の老化によって唾液分泌量が減少することが大きな原因と考えられている。重い唾液分泌障害は高齢者において誤嚥性肺炎を誘発することが多く、我が国では肺炎は悪性新生物、心疾患に次いで死因の 3 番目であり、超高齢化社会の到来により今後増えることが予想される(平成 27 年度厚生労働省報告)。このような状況を踏まえ、唾液分泌障害は世界で最も早く超長寿・超高齢化社会を迎えつつある我が国が諸外国に先駆けて取り組むべき疾病であり、老化・加齢による唾液腺の機能低下を抑えることは高齢者の生活の質を向上させることから、唾液腺老化のメカニズムに対する研究の進展が強く望まれている。

2. 研究の目的

本研究は、老化に伴う口腔乾燥症状(ドライマウス)を含めた多くの口腔疾患に対する新たな治療薬や治療法の研究開発を目的とする。口腔乾燥症状は有効な治療は確立されておらず、対症療法に留まっているのが現状である。そこで本研究では、近年注目が高まっており今後活発な研究がなされるであろう老化・加齢分野に着目し、以下の 2 点を検証する。

唾液腺の器官培養を利用し、ラパマイシンが与える唾液腺への影響とメカニズムの解析

老化促進 klotho マウスを利用し、ラパマイシンを使用した新規治療薬や治療法の開発
これらの検証により、これまでの老化・加齢に伴う多くの口腔疾患に対する対症療法とは異なり、根治治療へと繋がる新たな治療薬の開発や治療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

in vitro による唾液腺の器官培養を利用してラパマイシンの唾液腺への影響とそのメカニズムを解析する。解析方法は、器官培養後の唾液腺の形態学的観察(HE・免疫染色)やラパマイシンが阻害する mTOR pathway に関連するタンパク(S6kinase、4eBP1、CyclinD1 など)の発現変化を Western blot や RT-PCR を利用して明らかにする。

で明らかにされた唾液腺に対するラパマイシンの効果を参考にし、老化研究のモデル マウス(klotho マウス：多彩な老化徴候を示し、生後約 100 日で老化により死亡する)を利用してラパマイシンの導入効果 in vivo で判定する。効果判定は寿命の変化と老化により引き起こされる口腔疾患症状の様態変化の観察、ピロカルピン投与による唾液量測定、採取した唾液腺の組織像の HE 染色と免疫染色による形態学的観察、mTOR pathway に関連するタンパクの発現変化の解析、SASP(細胞老化関連分泌現象)に関与するサイトカインと酵素の発現変化の解析で明らかにする。そして、ラパマイシンが老化に伴う唾液腺関連症状の変化に対して有用な効果を示し、口腔領域における新たな治療薬や治療方法となるかどうかを検証する。

4. 研究成果

ラパマイシンの唾液腺への影響とそのメカニズムを明らかにした。

3. 研究の方法 にある in vitro による唾液腺の器官培養を利用してラパマイシンの唾液腺への影響とそのメカニズムを解析した結果、ラパマイシンが濃度依存的に唾液腺の生育に負の影響を与えていることを明らかにした(図 1, 2)。また、ラパマイシンが関与する mTOR pathway 上流では PI3K/AKT pathway を介して、下流では S6K、4eBP1、CyclinD などを通して様々な細胞機能(細胞骨格リモデリング、細胞移動、細胞成長、細胞死、細胞代謝)を発現させていることを器官培養した唾液腺と生体マウスの唾液腺でも明らかにした(図 3, 4)。

図 1

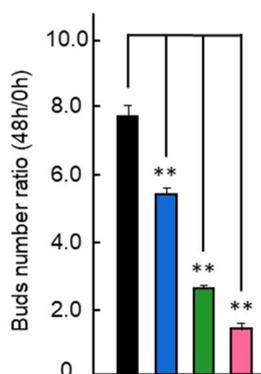


図 2

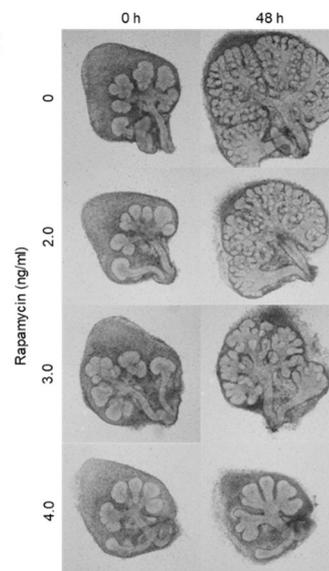


図3

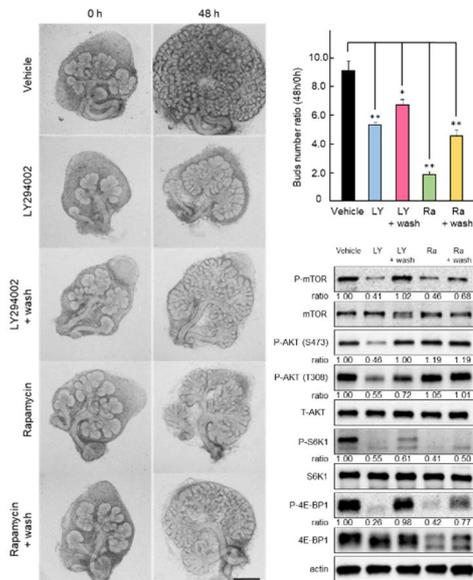
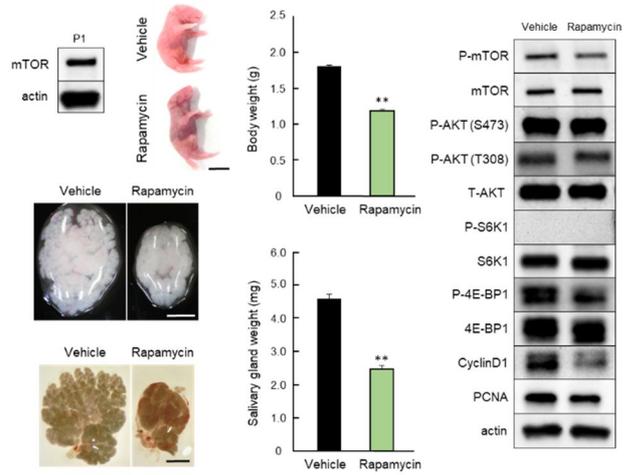


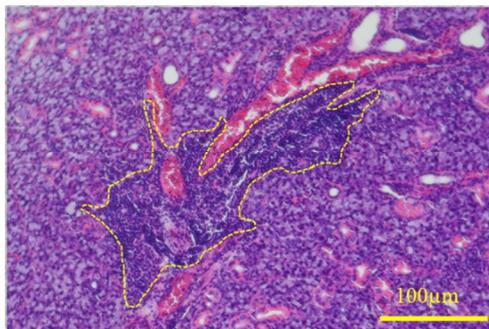
図4



老化促進 klotho マウスを利用し、ラパマイシンを使用した新規治療薬や治療法の開発を目指した。当初老化促進 klotho マウスを使用する予定であったが、凍結受精卵で維持されており、検討を始めるまでに長期間かかることから、より短時間で効率よく検討を進めることができるマウス (B6J Aged. 正式系統名: C57BL/6J-Aged マウス) に変更した。まず、年齢を3群 (若年: 13 週齢、中年: 49 週齢、老年: 97 週齢) に分類し、老化に伴う飲水量や食餌、唾液腺の組織形態を観察した。その結果、加齢に伴い飲水量は増加し (図 5 右) 食餌量は減少した。また唾液腺の組織像は、加齢に伴い炎症細胞が増加していた (図 5 左)。更に、唾液腺の機能マーカーであるアクアポリン 5、唾液アミラーゼ (図 6)、ムスカインレセプターの発現を免疫染色で確認したところ、加齢に伴いすべての機能マーカーの発現が減少していた。次に老化の影響を更に検討するため、SASP (細胞老化関連分泌現象) に関するサイトカインと酵素の発現変化を解析したところ、老齢 97 週齢マウスにおいて老化に関する p16ink4a の発現上昇が観察された。引き続きの検討中であったが、2022 年度に研究機関を変更したためそれ以降の検討の進捗は遅延した。

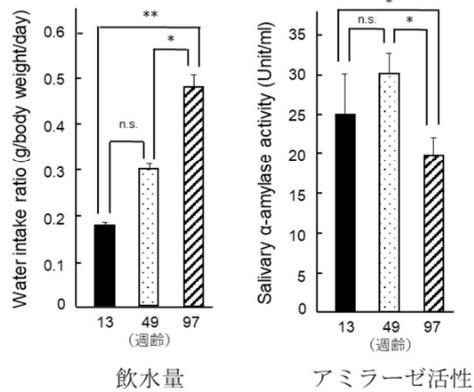
図5

炎症細胞の浸潤 (点線囲い部分)



97週齢の老齢マウス

図6



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sakai M, Sakai T	4. 巻 9
2. 論文標題 Establishment of a Mouse Submandibular Salivary Gland Organ Culture	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Protocols in Toxicology	6. 最初と最後の頁 e543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cpz1.543	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura T, Sakai M, Gojo N, Watanabe M, Uzawa N, Sakai T	4. 巻 12
2. 論文標題 The HIF-1 pathway plays a critical role in salivary gland development in ex vivo organ cultures	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 460-469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13351	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Tomomasa, Sakai Manabu, Gojo Nao, Watanabe Mikio, Uzawa Narikazu, Sakai Takayoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 The HIF 1 pathway plays a critical role in salivary gland development in ex vivo organ cultures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 460 ~ 469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13351	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ikai Kazuki, Sakai Manabu, Minagi Hitomi Ono, Gojo Nao, Sakai Takayoshi	4. 巻 594
2. 論文標題 Np63 is upregulated during salivary gland regeneration following duct ligation and irradiation in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 3216 ~ 3226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13896	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Araie Takafumi, Ono Minagi Hitomi, Usami Yu, Ikai Kazuki, Sakai Manabu, Gojo Nao, Nohara Kanji, Sakai Takayoshi	4. 巻 17
2. 論文標題 Effect of xanthan gum thickened liquid aspiration on the lungs in a mouse model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Science International	6. 最初と最後の頁 78 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/osi2.1047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakai Manabu, Fukumoto Moe, Ikai Kazuki, Ono Minagi Hitomi, Inagaki Shinobu, Kogo Mikihiro, Sakai Takayoshi	4. 巻 286
2. 論文標題 Role of the mTOR signalling pathway in salivary gland development	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 3701 ~ 3717
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.14937	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakai Manabu, Ikai Kazuki, Minagi Hitomi Ono, Araie Takafumi, Sakai Takayoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Investigation of putative role of miRNA146a 5p and miRNA146b 5p in pathogenesis of Sjogren's syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Science International	6. 最初と最後の頁 181 ~ 184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/osi2.1019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Yuko, Oya Kaori, Sakai Manabu, Fujiwara Chisato, Tojo Fumiaki, Usami Yu, Fukuda Yasuo, Kogo Mikihiro, Kishino Mitsunobu	4. 巻 17
2. 論文標題 Accuracy of liquid based cytology (LBC) in the oral mucosa according to novel diagnostic guidelines in Japan: Classification of cytology for oral mucosal disease (JSCC, 2015)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Science International	6. 最初と最後の頁 22 ~ 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/osi2.1035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Tomomasa, Sakai Manabu, Gojo Nao, Watanabe Mikio, Uzawa Narikazu, Sakai Takayoshi	4. 巻 631
2. 論文標題 HIF-1 regulates mTOR signaling pathway during salivary gland development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 130 ~ 137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.09.078	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ono Minagi Hitomi, Usami Yu, Sakai Manabu, Sakai Takayoshi	4. 巻 229
2. 論文標題 Morphological differences between regenerating salivary glands after salivary gland duct ligation and embryonic salivary glands	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger	6. 最初と最後の頁 151482 ~ 151482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aanat.2020.151482	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 木村 友昌, 酒井 学, 阪井 丘芳
2. 発表標題 低酸素誘導因子HIF1 の顎下腺形成機構の解析
3. 学会等名 日本口腔組織培養学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村友昌, 酒井学, 阪井丘芳
2. 発表標題 唾液腺の発達におけるHypoxia inducible factor 1 の役割
3. 学会等名 第65回日本唾液腺学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村友昌, 酒井学, 鶴澤成一, 阪井丘芳
2. 発表標題 顎下腺の発育における低酸素誘導因子HIFの役割
3. 学会等名 第66回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村友昌, 酒井学, 五條菜央, 鶴澤成一, 阪井丘芳
2. 発表標題 胎児期において低酸素誘導因子HIF (Hypoxia inducible factor) が顎下腺の発育に及ぼす影響
3. 学会等名 第75回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 五條菜央, 井階一樹, 皆木瞳, 酒井学, 阪井丘芳
2. 発表標題 唾液腺の分枝形態形成におけるCDK4/CyclinD1の働き
3. 学会等名 第74回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 五條菜央, 井階一樹, 皆木瞳, 酒井学, 阪井丘芳
2. 発表標題 CDK4/CyclinD1 control submandibular branching morphogenesis
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 酒井学、井階一樹、皆木瞳、阪井丘芳
2. 発表標題 唾液腺発達におけるmTORシグナル経路の役割
3. 学会等名 第64回日本唾液腺学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuki Ikai, Hitomi Minagi, Manabu Sakai, Takafumi Araie, Takayoshi Sakai
2. 発表標題 Analysis of transcriptional factor p63 expression in salivary glands regeneration
3. 学会等名 GordonResearch Conference -Salivary glands & Exocrine Biology
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------