

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 24 年 4 月 9 日現在

機関番号：32622
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008 年度 ～ 2010 年度
 課題番号：20592148
 研究課題名（和文） PACAP による唾液腺形成と分泌制御機構の解明 - その臨床応用を目指して -

研究課題名（英文） Effect of PACAP on saliva secretion.

研究代表者

野中 直子（NONAKA NAOKO）
 昭和大学・歯学部・講師
 研究者番号：20307052

研究成果の概要（和文）：

唾液分泌のコントロールは、おもに自律神経支配のもとでおこなわれている。下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide：PACAP）はヒツジの視床下部から単離、構造決定された神経ペプチドで、現在では多数の機能を持つ神経ペプチドとして種々の組織に認められている。本研究では、C57BL/6 マウスの若齢マウス（8 週齢）と高齢マウス（8 か月齢）の三大唾液腺（耳下腺、顎下腺、舌下腺）を採取し、PACAP とそのレセプターである PAC1R の分布について、比較検討を行った。

研究成果の概要（英文）：

The control of saliva secretion is mainly under the autonomic nervous control. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) is now recognized as the multi-functional neuropeptide in various organs. We compared the distribution of PACAP and its receptor, PAC-1, in major salivary glands; parotid, submandibular and sublingual glands, of young (8 weeks) and old (8 months) C57BL/6 mice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：ドライマウス・唾液腺・PACAP

1. 研究開始当初の背景

口腔乾燥症状を訴えるドライマウス患者が急増しており、唾液分泌の低下、唾液の質的異常により引き起こされるドライマウスと歯科疾患とのかかわりは深い。唾液の働きは、

消化作用、自浄作用、抗菌作用など数多くの作用があり、これらは生活する上で重要な役割を担っている。ドライマウスを引き起こす原因は多岐にわたり、その治療法は人工唾液

や含嗽剤などを利用する対症療法が治療の中心となることが多く、ドライマウスに対する効果的な治療法は未だ確立されていない。これまでの我々の研究で、PACAP が涙腺での分泌亢進作用があり、ドライアイへの臨床応用が期待されている。そこで涙腺同様外分泌腺である唾液腺（耳下腺、顎下腺、舌下腺）で PACAP と PAC1R の唾液腺における局在について検討を行う。

2. 研究の目的

唾液腺における PACAP と PAC1R の局在、ならびに唾液分泌機構を正常（若齢）と高齢および疾患モデルマウスで検討し、PACAP を用いた新しいドライマウス治療薬の開発や治療方法への臨床応用展開を目指した基礎的実験を行うことが目的である。

3. 研究の方法

① 8 週齢（若齢）と 8 か月齢（高齢）の C57BL/6 マウス（♂）を灌流固定後、耳下腺、顎下腺、舌下腺の採取し、4%パラフォルムアルデヒド - PBS にて固定を行う。

② 試料は O. C. T. コンパインドに入れ、凍結包埋する。

③ 凍結切片を作成する。

以下、通法に従い免疫染色を行う。

④ 若齢、高齢マウスともに、PACAP 抗体を用いて、耳下腺、顎下腺、舌下腺における PACAP 陽性神経線維の観察を行う。

⑤ 若齢、高齢マウスともに、PACAP レセプター抗体（PAC1R）を用いて、耳下腺、顎下腺、舌下腺における発現部位、細胞の同定を行う。

4. 研究成果

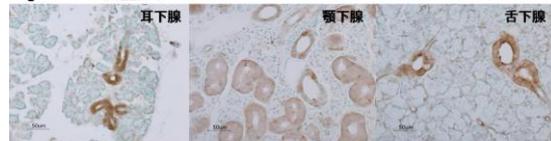
耳下腺において、PACAP は介在部導管の細胞に免疫反応が認められた。PAC1R は、線条部導管に免疫反応が認められた。顎下腺では、

PACAP は腺房と顆粒性導管の周囲の神経線維に陽性反応が認められ、PAC1R は顆粒性導管内にある細胞（pillar cell）に強い免疫反応が認められた。舌下腺では、PACAP は腺房周囲の神経線維に免疫反応が認められ、腺房内には点状の免疫反応も認められた。PAC1R の免疫反応は線条部導管に認められた。また、舌下腺線条部導管には、8 か月齢において顆粒を有する細胞の出現が認められた。一方、8 か月齢の顎下腺においては、実質内に著しいリンパ球浸潤が認められた。8 週齢と 8 か月齢の三大唾液腺で比較した結果、PACAP と PAC1R の免疫局在には加齢に伴う明確な違いは見られなかった。以上の結果から、PACAP と PAC1R のそれぞれの唾液腺における局在は異なり、三大唾液腺で PACAP の異なった作用があると示唆される。また、舌下腺における顆粒を有する細胞の機能の解析は、加齢に伴う唾液腺の機能変化を知る上で有益となることが考えられる。更に、顎下腺におけるリンパ球浸潤は、唾液腺疾患の病態解明の一助となると考える。

Fig.1 PACAP (8週齢♂)



Fig.2 PAC-1 (8週齢♂)



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）

Takenoya F, Yagi M, Kageyama H, Shiba K, Endo K, Nonaka N, Date Y, Nakazato M, Shioda S: Distribution of

neuropeptide W in the rat brain.
Neuropeptides, 44:99-106, 2010

[学会発表] (計 7 件)

1) 野中直子, 中村雅典:

マウスおよびヒト唾液腺における PACAP と PAC1R の免疫組織化学的局在

第 65 回 日本人類学会大会抄録集, P87, 2011

第 65 回 日本人類学会大会 沖縄, 2011 年 11 月

2) Naoko Nonaka, Tomoya Nakamachi, Seiji Shioda, Masanori Nakamura:

Immunohistochemical localizations of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) and its receptor (PAC1R) in mouse major salivary glands

第 10 回日中合同組織細胞化学セミナー, 北京, 2011 年 10 月

3) 野中直子, 中村雅典:

マウス唾液腺における PACAP レセプターの局在と PACAP の唾液分泌への効果

第 53 回 歯科基礎医学会学術大会抄録集, P195

第 53 回 歯科基礎医学会学術大会ならびに総会 岐阜, 2011 年 9 月

4) 野中直子, 中町智哉, 塩田清二, 中村雅典:

マウス唾液腺における PACAP レセプターおよび VIP レセプターの免疫組織化学的局在と唾液分泌への効果

第 52 回 日本組織細胞化学会 総会・学術集 会予稿集, P76, 2011

第 52 回 日本組織細胞化学会 金沢, 2011 年 9 月

5) 野中直子, 中町智哉, 塩田清二, 中村雅典:

マウス唾液腺における PACAP レセプターの局在と PACAP 経鼻投与による唾液分泌量の亢進

第 11 回 日本抗加齢学会総会抄録集, P311, 2011

第 11 回 日本抗加齢医学会総会 京都 2011 年 5 月

6) Naoko Nonaka, Tomoya Nakamachi, Seiji Shioda, Masanori Nakamura:

Immunohistochemical localization of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) and its receptor (PAC-1) in mouse major salivary glands.

AAA Annual Meeting at Experimental Biology 2011

Washington DC, 2011, April

7) Naoko Nonaka, Tomoya Nakamachi, Seiji Shioda, Masanori Nakamura:

Immunohistochemical comparison of the localization of PACAP and its receptor, PAC-1, in major salivary glands between young and old mice.

The Journal of Physiological Sciences Volume61, Supplement 1, 2011 S223, The 116th Annual meeting of the Japanese Association of Anatomists, Yokohama, March 2011

[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（計〇件）

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野中直子 (NONAKA NAOKO)
昭和大学・歯学部・講師
研究者番号：20307052

(2) 研究分担者

中村雅典 (NAKAMURA MASANORI)
昭和大学・歯学部・教授
研究者番号：50180394

研究分担者

塩田清二 (SHIODA SEIJI)
昭和大学・医学部・教授
研究者番号：80102375

研究分担者

中町智哉 (NAKAMACHI TOMOYA)
昭和大学・遺伝子組換え実験室・助教
研究者番号：30433840

(3) 連携研究者

()

研究者番号：