

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592711

研究課題名(和文)唾液腺の加齢変化に伴うPACAP、PACAPレセプターの局在と分泌制御機構の解明

研究課題名(英文)Ontogenic analysis of the PACAP receptor, PAC1R, in mouse major salivary glands

研究代表者

野中 直子 (NONAKA, Naoko)

昭和大学・歯学部・准教授

研究者番号：20307052

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの我々の研究では、8週齢と8か月齢のC57BL/6マウス( )から三大唾液腺(耳下腺・顎下腺・舌下腺)を採取し、PACAPレセプター(PAC1R)について免疫組織学的検討を行い局在について検討してきた。今回の研究では出生時・1・3・5・7日齢、2・3・4・8週齢の三大唾液腺を採取し、発生学的にPAC1Rの免疫反応の局在について検討を行った。耳下腺の発育は、顎下腺・舌下腺の発育より極端に遅く、腺房や導管の形成は生後3日目から確認できた。顎下腺では、PAC1Rは線条部導管と顆粒性導管にある柱状の細胞に免疫反応が認められた。舌下腺では、PAC1Rの免疫反応は線条部導管に認められた。

研究成果の概要(英文)：We examined the ontogenic expression of PAC1R in mouse salivary glands. Salivary glands at 0, 3, 5, 7, 14 and 21 days postnatal male C57BL/6 mice were used for the immunohistochemical detection of PAC1R. In parotid gland, the acinus was not clearly formed and PAC1R was not detected until 14 days after birth. At 14 days, PAC1R was detected in the striated duct. In sublingual gland, acinus and duct were formed at 0 days after birth. PAC1R was constantly expressed in the striated duct from 0 day postnatal stage. In the case of submandibular gland, granular duct was not clearly identified and PAC1R was localized in striated first detected in striated duct until 21 days after birth. After 21 days, PAC1R was clearly detected at pillar cells in granular duct. Some of cells in the duct showed intense immunoreactions of PAC1R.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・口腔解剖学(含組織学・発生学)

キーワード：PACAP PACAPレセプター 唾液腺 免疫組織学 発生学 マウス

### 1. 研究開始当初の背景

唾液分泌制御は主として自律神経支配により行われている。脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド、略して 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。PACAP は外分泌腺の分泌亢進作用があり、これまでに涙腺における分泌亢進が報告されていることから唾液腺に注目し、PACAP を用いた唾液腺分泌制御についての研究を開始した。

### 2. 研究の目的

免疫組織学的解析から PACAP レセプターは耳下腺、舌下腺では唾液腺の線条部導管に、顎下腺ではげっ歯類特有の顆粒性導管に存在する柱状の細胞であるピラー細胞に局在していることが 8 週齢・8 か月齢のマウスで明らかとなり、加齢に伴う局在の変化は認められなかった。そこで本研究では、耳下腺、顎下腺、舌下腺の発生過程における PACAP レセプターの局在を経時的に解析した。

### 3. 研究の方法

生後 0, 1, 3, 5, 7 日齢、並びに生後 2, 3, 4, 8 週齢の雄性 C57BL/6 マウスを使用し、耳下腺、顎下腺、舌下腺を摘出後、4%パラフォルムアルデヒドで固定し、凍結包埋した。凍結切片作成し、抗 PACAP レセプター抗体を用いて免疫組織学的に解析を行った。

### 4. 研究成果

耳下腺は、生後 7 日目までは明瞭な腺房の形成は認められず、PACAP レセプターの発現

もほとんど認められなかった。生後 2 週以降では、腺房、介在部導管、線条部導管が発達し、PACAP レセプターは線条部導管に強くその免疫反応が認められた。

舌下腺では、生後 1 日目から腺房の形成は認められるが、小葉内に PACAP レセプター陽性細胞は認められなかった。7 日齢以降では PACAP レセプターは線条部導管に局在し、その局在は 8 週まで変わらなかった。

顎下腺には、げっ歯類特有の顆粒性導管が介在部と線条部の間に存在するが、生後 2 週目までは明瞭な顆粒性導管の発達は認められず、PACAP レセプターは線条部導管に局在していた。生後 3 週目以降、顆粒性導管が発達してくると PACAP レセプターは線条部導管から顆粒性導管に存在する柱状の細胞であるピラー細胞にその局在が変化することが明らかとなった。

以上の結果をまとめると、

1. 耳下腺では生後 7 日目頃から腺房形成がはじまり、2 週目頃より線条部導管に免疫反応が認められはじめ、その後の局在には変化は認められなかった。

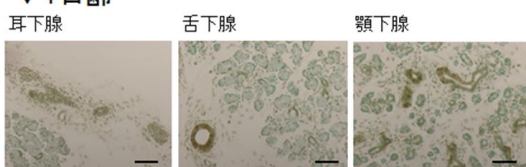
2. 舌下腺では生後 7 日目頃から線条部導管に免疫反応が認められはじめ、その後の局在には大きな変化は認められなかった。

3. 顎下腺は生後 1 日目から 2 週目までは、線条部導管に免疫反応が認められたが、典型的な顆粒性導管は認められなかった。それ以降、顎下腺には顆粒性導管が出現し、顆粒性導管内に存在するピラー細胞に強い免疫反応が認められるようになった。

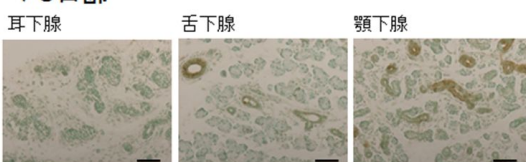
今回の結果とこれまでの報告を踏まえると、顎下腺での顆粒性導管は、線条部導管から発

生ずると考えられる。また，PACAP レセプターが腺房ではなく導管に局在することから，PACAP による唾液分泌効果は腺房からの唾液分泌促進ではなく，導管での再吸収の調節によるものであろうと現在のところ考える。顆粒性導管の主細胞である顆粒細胞には多くの成長因子が含まれており，この成長因子の分泌にピラー細胞が深く関与しているであろうことが示唆される。

▼1日齢



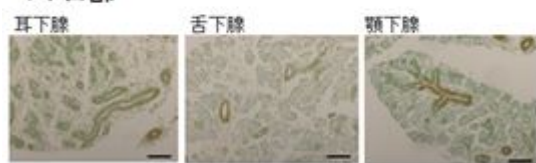
▼3日齢



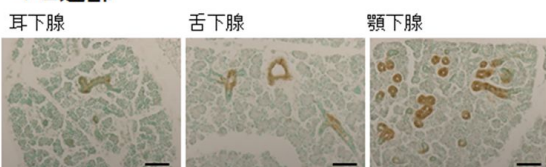
▼5日齢



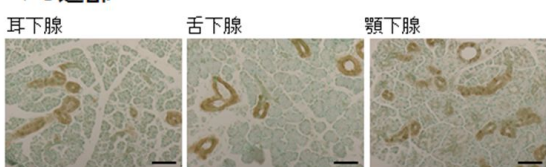
▼7日齢



▼2週齢



▼3週齢



▼4週齢



▼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 6 件)

1)Iwasaki Y, Otsuka H, Yanagisawa N, Hisamitsu H, Manabe A, Nonaka N, Nakamura M:

In situ proliferation and differentiation of macrophages in dental pulp.

Cell Tissue Res, 346:99-109, 2011

2)Otsuka H, Yagi H, Endo Y, Nonaka N, Nakamura M:

Kupffer cells support extramedullary erythropoiesis induced by nitrogen-containing bisphosphonate in splenectomized mice. Cell Immunol, 271:197-204, 2011

3)Ikeda-Isogai M, Ohtsuka T, Baba K, Nonaka N, Nakamura M:

Calcified tissue formation of subcutaneously transplanted mouse dental pulp.

Acta Histochem, 114:55-61, 2012

4)Shibata M, Goto N, Goto J, Nonaka N:  
Nuclei of the human rphe. Okajimas Folia  
Anat Jpn. 89:15-22, 2012

5)Shibata M, Goto N, Goto J, Nonaka N:  
Evaluation of the spinal cord white matter.  
Okajimas Folia Anat Jpn. 89:23-25, 2012

6)Nonaka N, Farr SA, Nakamachi T, Morley  
JE, Nakamura M, Shioda S, Banks WA:  
Intranasal administration of PACAP:Uptake  
by brain and regional brain targeting with  
cyclodextrins.  
Peptides. 2012 Aug;36(2):168-75.

〔学会発表〕(計 7件)

1)Nonaka N, Nakamachi T, Shioda S,  
Nakamura M:  
Immunohistochemical localizations of  
pituitary adenylate cyclase-activating  
polypeptide (PACAP) and its receptor  
(PAC1R) in mouse major salivary glands.  
The 10th China-Japan Joint Seminar on  
Histochemistry and Cytochemistry (CJJSHC),  
Beijing, October 2011

2)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 および VIP レセ  
プターの免疫組織化学的局在と PACAP および  
VIP の経鼻投与による唾液分泌への効果.  
第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会  
山梨, 2012 年 3 月

3)野中直子, 中村雅典:  
加齢に伴うマウス唾液腺における PACAP レセ

プター局在の解析.

第 54 回歯科基礎医学会学術大会・総会 郡  
山, 2012 年 9 月

4) Nonaka N, Nakamachi T, Nakamura M, Shioda S, Banks WA:  
Intranasal Delivery of PACAP: Targeting to  
Brain Regions Beyond the Olfactory Bulb.  
The 3rd Meeting of the Japan Branch of the  
International Neuropeptide Society (INPS),  
Kitakyushu, September 2012

5)野中直子, 中村雅典:  
マウス唾液腺の発生過程における PACAP レセ  
プター局在の解析  
第 55 回歯科基礎医学会学術大会・総会, 岡  
山, 2013 年 9 月

6)Nonaka N, Nakamura M:  
Histological and immunohistochemical  
comparison of mouse salivary glands in  
aging.  
91th International Association for Dental  
Research (IADR) 2013, Seattle, March 2013

7)野中直子, 中町智哉, 塩田清二, 中村雅典:  
マウス唾液腺の発生過程における PACAP レセ  
プター局在の免疫組織学的解析  
第 119 回日本解剖学会総会全国学術集会・宇  
都宮, 2014 年 3 月

〔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

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

野中直子 (NONAKA, Naoko)  
昭和大学・歯学部・准教授  
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

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

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

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：