

長寿医療研究開発費 平成24年度 総括研究報告

唾液腺ホメオスタシス維持機構の破綻による唾液腺機能低下メカニズムの解明  
(24-13)

主任研究者 山越 貴水

国立長寿医療研究センター 老化機構研究部 代謝研究室 (室長)

研究要旨

加齢による口腔乾燥症状の増加原因を解明するアプローチとして、唾液を分泌する顎下腺組織に焦点を当てて研究を進めた。動物モデルを用いた解析から、顎下腺組織に存在する組織幹/前駆細胞や実質細胞の数や質の低下が唾液分泌量の減少を引き起こす一因となることが示された。これらの知見は、将来の口腔乾燥症の治療に寄与することが期待された。

主任研究者

山越 貴水 国立長寿医療研究センター 老化機構研究部 代謝研究室 (室長)

分担研究者

なし

A. 研究目的

高齢者の多くは口腔乾燥症状 (ドライマウス) を示すことが様々な研究により明らかになっている。この原因の一つとして、唾液分泌量の減少が挙げられるが、その実態は不明のままである。そこで、私達は、動物モデルを用いて唾液を産生・分泌する唾液腺の一つで唾液分泌の大部分を占める顎下腺組織において加齢により起こる現象を組織形態学的観点から詳細に解析すると同時に、顎下腺組織の幹/前駆細胞や実質細胞の機能を解析する。

B. 研究方法

(1) 組織形態学的観察及び顎下腺細胞の分離による顎下腺組織の加齢変化

成体の野生型マウス (若齢、老齢) の顎下腺組織を用いてヘマトキシリン&エオジン染色を行い、組織形態を観察した。また採取した顎下腺組織の重量を測定後、酵素処理により顎下腺細胞を分離し細胞数を計測した。

(2) 顎下腺組織幹/前駆/実質細胞の各機能における加齢変化

*In vitro* 顎下腺幹/前駆細胞モデルを用いて、若齢群と老齢群から形成される胚葉体の数、サイズ、増殖能、自己複製能や分化能について比較・検討を行い、顎下腺幹/前駆細胞の機能における加齢の影響を評価した。また、実質細胞の増殖能について BrdU の取り込み率を測定することにより評価した。

(倫理面への配慮)

本研究計画の遂行にあたっては、独立行政法人国立長寿医療研究センターにおける遺伝子組換え実験安全規程に従って行われ、適切な拡散防止措置が取られる。動物実験に際しては独立行政法人国立長寿医療研究センター動物実験規則に従い行う。

C. 研究結果

(1) 組織形態学的観察による顎下腺組織の加齢変化

組織学的解析により、若齢マウスに比べ老齢マウスの顎下腺組織は実質細胞密度が低くなっており、単位面積あたりに占める細胞数が減少していることが示された。また、顎下腺組織の重量は老齢群で若齢群のおよそ 1.5 倍に増加するが、顎下腺細胞数は減少することが示された。これらの結果から、老齢群で観察された唾液分泌量の減少は、唾液を分泌する実質細胞数の減少により引き起こされることが示唆された。

(2) 顎下腺組織幹/前駆/実質細胞の各機能における加齢変化

若齢群に比べ、BrdU を取り込んだ実質細胞の割合は老齢群において著明に低下し、老齢群における実質細胞数の減少は実質細胞の増殖能力の低下によるものであることが示唆された。

また、*in vitro* 顎下腺幹/前駆細胞モデルを用いた実験から、顎下腺組織に存在する幹/前駆細胞の頻度は加齢により減少することが示された。更に、老齢マウス顎下腺から形成された胚葉体は若齢マウス由来のものよりサイズが小さく、BrdU 取り込み実験の結果から、老齢マウス由来の胚葉体は増殖能が低いことが分かった。3D コラーゲン培養法を用いた分化能解析やマトリゲル培養法を用いた自己複製能解析から、顎下腺幹/前駆細胞は加齢によりこれらの能力が低下することも分かった。これらの結果から、顎下腺組織では加齢により、顎下腺幹/前駆細胞の数が減少するだけでなく、自己複製能、増殖能、分化能が低下することや実質細胞の増殖能の低下により実質細胞数が減少することが示唆された。

#### D. 考察と結論

頭頸部領域の悪性腫瘍に対する放射線治療は正常な唾液腺組織を傷害し、結果として唾液分泌障害を引き起こし患者の **quality of life (QOL)** に重大な影響を及ぼす。低線量の照射により損傷が一過的である場合には、機能的な唾液腺組織が再構築され唾液分泌が回復することから唾液腺幹細胞の役割は非常に重要である。一方、様々な組織に存在する組織幹細胞の機能は加齢により低下することが報告されているが、現在までのところ唾液腺についての報告はない。今回の結果から、*in vitro* において、顎下腺幹/前駆細胞は加齢により幹細胞の特徴である自己複製能力や分化能が低下することが示され、放射線治療後の唾液分泌の回復に年齢を考慮したケアが必要となってくるかもしれないことが示唆された。また、今回の研究により、加齢による唾液分泌量の減少は、唾液を産生・分泌する実質細胞の増殖能の低下により実質細胞数が減少することが原因の一つであることも示唆された。実際には、加齢による口腔乾燥症状の増加原因として筋力の低下、糖尿病やストレスなどの病因が複合的に作用しているものと考えられ、今後、ドライマウスの発症原因を解明していく上で、今回明らかになった事実とこれらの病因との関わりを考慮しながら研究を進めていく必要がある。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

###### 1) **Kimi Yamakoshi**

Role of p16<sup>Ink4a</sup> in the age-related functional decline of the submandibular gland.

KEYSTONE SYMPOSIA Aging and Diseases of Aging

2012年10月25日 (東京)

###### 2) Satoshi Katano, Hiromi Kimura, Naoko Ohtani, Eiji Hara, Mitsuo Maruyama,

###### **Kimi Yamakoshi**

p16<sup>Ink4a</sup> contributes to the age-dependent fate of stem/progenitor cells in the submandibular gland.

Gordon Research Conferences Salivary Glands & Exocrine Biology

2013年2月4-5日 (米国テキサス州ガルベ斯顿市)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし