

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659105

研究課題名(和文) 香辛料によるTRPチャネルを介した口腔乾燥改善への挑戦 アクアポリン誘導と機能

研究課題名(英文) Challenge to improve dry mouth through the TRP channel by spice

研究代表者

杉本 直俊 (SUGIMOTO, Naotoshi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：80272954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは毎回の食事のとき、唾液の偉大さを実感している。一方、唾液分泌減少が起因となる口腔乾燥症(ドライマウス)が増加し、近年大きな社会問題となっている。さらに、高齢化が進みにつれて、高齢者の口腔乾燥症も無視できない現状である。

私たちは本研究を通して、温熱刺激と香辛料が口腔乾燥に伴うQOL低下(嚥下障害、誤嚥性肺炎、味覚異常など)を改善できる可能性を提示した。かつ、その分子基盤についても少なからず証明した。本研究の成果は、高齢者のみならず口腔乾燥症で苦しむ人々へ貢献するものと確信する。

研究成果の概要(英文)：We realize the greatness of saliva in the meal time. However, xerostomia which saliva secretion reduction is originating increases, and xerostomia serves as a big social problem in recent years. In addition, the current situation is that elder people are brought to increase, xerostomia of the elder people can not be ignored. We showed a possibility that a warming and spices could improve the QOL of mouth dryness through this research. And I proved not a little also about the molecular mechanism. I am sure that the result of this research contributes not only to elderly people but to people troubled with xerostomia.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学、環境生理学(含体力医学・栄養生理学)

キーワード：香辛料 暑熱順化 TRPチャネル

1. 研究開始当初の背景

今や口腔乾燥症(ドライマウス)は現代社会で大きな社会問題となっている。日本の高齢者は4人に1人の割合である。高齢者は生理的に唾液分泌が抑制され、その結果口腔乾燥に伴うQOL低下(嚥下障害、誤嚥性肺炎、味覚異常など)が発生している。私たちは口腔乾燥症への対策として、温熱刺激がその改善に有効であるという示唆的な成果を得ている。その上で、私たちは、非侵襲的で簡便な装置である「耳下腺周囲を加温することで唾液分泌を促す装置」を開発し、口腔乾燥症患者のQOL改善にむけて努力を積み重ねてきた。

2. 研究の目的

温熱刺激が口腔乾燥症の改善に役立つ、その分子メカニズムについてはほとんど不明であった。さらに、温熱が刺激するであろう受容体(センサー)が、「温熱刺激が口腔乾燥症の改善に役立つ」機序に關与しているのか否かも不明であった。

唾液の主成分(約99%)が水であることから、唾液分泌の改善には水分泌の改善が不可欠である。水分泌には水チャネル、いわゆるアクアポリン分子が重要な役割を担っていると推察される。また、これまで温度センサーとして多くの分子が同定されているが、その多くは香辛料の一種である食品成分の受容体としても機能していることは興味深い。

本研究では、温熱刺激と温度センサーを活性化する香辛料もしくはその成分がどのように作用するのか、それらは同じなのかそれとも異なるのか、さらには唾液分泌改善に不可欠である水チャネル・アクアポリンの動態などから、温熱刺激の代替としての香辛料もしくはその成分がなり得るのか、その可能性を探った。

3. 研究の方法

温度刺激(39.5℃)もしくは香辛料成分(カプサイシン、ジンジャー成分、クルクミンなど)を短期間(10分~2日)もしくは長期間(7日~60日)刺激した。サンプルから回収したRNA、タンパク質を用いて、RT-PCR法やウエスタンブロット法にて様々な分子の発現やシグナル伝達機構について解析した。また、増殖速度を検討した。さらに、細胞骨格タンパク質について免疫組織化学法などにより検討した。

ラット唾液腺からもRNAやタンパク質を回収し、RT-PCR法やウエスタンブロット法で様々な分子の発現、シグナル伝達機構について検討した。免疫組織化学法などにより水チャネル・アクアポリンの発現や局在、および血管新生について検討した。

4. 研究成果

初年度は香辛料成分(カプサイシン)の作用について、暑熱短期刺激をコントロール実

験に置きながら培養細胞を中心に検討を行った。暑熱刺激群では、刺激を数時間からストレス反応性タンパク質の活性化が確認された。かつ、刺激後24時間にはheat shock proteinsの誘導に重要な働きをする転写因子heat shock factor-1の発現誘導が起きるとともに、heat shock protein 70およびheat shock protein 90の発現誘導が確認された。興味あることに、それらの細胞では、通常なら細胞死を引き起こす42℃のheat shockに対して抵抗性(耐熱性)を保持していることが明らかとなった。香辛料の成分でありTRPチャネルを活性化するカプサイシンは、刺激後24時間には転写因子heat shock factor-1の発現を誘導し、かつストレス反応性タンパク質の活性化が確認された。クルクミンではHeme Oxygenase-1(HO-1)の発現が誘導され、細胞保護とくに抗酸化能が亢進していることが示唆された。

暑熱順化したラット唾液腺では水チャネル・アクアポリン1とアクアポリン5の発現が亢進していた。アクアポリン1は血管内皮に発現し、かつ、血管新生が誘導されていることが示唆された。アクアポリン5は唾液腺で発現が亢進しており、特に唾液腺細胞の内腔面でその発現が際立っていた。これらの結果は血液から唾液へ水が効果的に移動するうえで機能していると推察される。

次年度も香辛料成分(カプサイシン、クルクミンなど)の短期・長期作用について、暑熱刺激と対比しながら検討を行った。香辛料成分の刺激後15分には、MAP kinases、Akt/mTOR signalingを調節することを確認した。また、細胞骨格の一つであるアクチン重合へも影響をすることを明らかにした。一方、暑熱刺激でもMAP kinases、Akt/mTOR signalingを調節すること、細胞骨格のアクチン重合に影響することが判明したが、香辛料成分の刺激と暑熱刺激とは若干異なることも明らかとなった。その相違点として、今回の実験条件では、香辛料成分刺激が水チャネル・アクアポリン発現調節に強くは影響しないことが示唆された。しかし、この点については今後さらなる検討が必要と思われる。

興味あることに、長期間の暑熱刺激は熱耐性能の獲得のみならず、低酸素耐性能の獲得にも貢献することを本研究で明らかにした。

以上の結果から、香辛料成分はTRPチャネルを活性化することで、そのシグナルの一部は暑熱刺激を模倣すると思われる。暑熱は私たちの生活にとって良いこともあり悪いこともある。本研究の成果を踏まえ、今後は暑熱の良い面だけを模倣する香辛料成分について研究を発展させていきたい。

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14件)

Sugimoto N, Matsuzaki K, Ishibashi H, Tanaka M, Sawaki T, Fujita Y, Kawanami T, Masaki Y, Okazaki T, Sekine J, Koizumi S, Yachie A, Umehara H, Shido O. Upregulation of aquaporin expression in the salivary glands of heat-acclimated rats. *Sci Rep.*, 2013; 3: 1763. DOI: 10.1038/srep01763. <査読有>

Sugimoto N, Miwa S, Tsuchiya H, Hitomi Y, Nakamura H, Yachie A, Koizumi S. Targeted activation of PKA and Epac promotes glioblastoma regression in vitro. *Mol Clin Oncol.*, 2013; 1: 281-285. DOI: 10.3892/mco.2013.65. <査読有>

Ishikawa S, Shimizu M, Ueno K, Sugimoto N, Yachie A. Soluble ST2 as a marker of disease activity in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Cytokine*, 2013; 62: 272-277. Doi:10.1016/j.cyto.2013.03.007. <査読有>

Tome Y, Sugimoto N, Yano S, Momiyama M, Mii S, Maehara H, Bouvet M, Tsuchiya H, Kanaya F, Hoffman RM. Real-time Imaging of α 5 Integrin Molecular Dynamics in Osteosarcoma Cells In Vitro and In Vivo. *Anticancer Res.* 2013; 33: 3021-3025. <査読有>

Tome Y, Kimura H, Maehara H, Sugimoto N, Bouvet M, Tsuchiya H, Kanaya F, Hoffman RM. High Lung-metastatic Variant of Human Osteosarcoma Cells, Selected by Passage of Lung Metastasis in Nude Mice, Is Associated with Increased Expression of α 3 Integrin. *Anticancer Res.* 2013; 33: 3623-3628. <査読有>

Miwa S, Yano S, Tome Y, Sugimoto N, Hiroshima Y, Uehara F, Mii S, Kimura H, Hayashi K, Efimova EV, Fujiwara T, Tsuchiya H, Hoffman RM. Dynamic color-coded fluorescence imaging of the cell-cycle phase, mitosis, and apoptosis demonstrates how caffeine modulates cisplatin efficacy. *J Cell Biochem.* 2013; 114(11):2454-2460. doi: 10.1002/jcb.24593. <査読有>

Sugimoto N, Ohta K, Saito T, Nakayama Y, Nakamura T, Maeda A, Yachie A. Lactobacillus casei cell wall extract directly stimulates the expression of COX2 independent of Toll-like receptor 2 in rat glial cells. *J Microbiol Immun Infect.*, 2013; 46: 389-392. doi: 10.1016/j.jmii.2012.03.004. <査読有>

Sugamuma S, Tada K, Hayashi K, Takeuchi A, Sugimoto N, Ikeda K, Tsuchiya H.

Transplantation of Uncultured Adipose-Derived Regenerative Cells for Peripheral Nerve Regeneration. *J Orthop Sci.*, 2013; 18: 145-151. doi: 10.1007/s00776-012-0306-9. <査読有>

Sugimoto N, Shido O, Matsuzaki K, Ohno-Shosaku T, Hitomi Y, Tanaka M, Sawaki T, Fujita Y, Kawanami T, Masaki Y, Okazaki T, Nakamura H, Koizumi S, Yachie A, Umehara H. Cellular heat acclimation regulates cell growth, cell morphology, mitogen-activated protein kinase activation, and expression of aquaporins in mouse fibroblast cells. *Cell Physiol Biochem.*, 2012; 30: 450-457. doi: 10.1159/000339038. <査読有>

Kawanami T, Sawaki T, Sakai T, Miki M, Iwao H, Nakajima A, Nakamura T, Sato T, Tanaka M, Masaki Y, Fukushima T, Hirose Y, Sugimoto N, Okazaki T, Umehara H. Skewed Production of IL-6 and TGF β by Cultured Salivary Gland Epithelial Cells from Patients with Sjögren's Syndrome. *Plos One*, 2012; 7: e45689. doi: 10.1371/journal.pone.0045689. <査読有>

Saito T, Sugimoto N, Ohta K, Shimizu T, Ohtani K, Nakayama Y, Nakamura T, Hitomi Y, Nakamura H, Koizumi S, Yachie A. Phosphodiesterase inhibitors suppress Lactobacillus casei cell-wall-induced NF- κ B and MAPK activations and cell proliferation through protein kinase A- or exchange protein activated by cAMP-dependent signal pathway. *ScientificWorldJournal*, 2012; 2012:748572. <査読有>

Echigo R, Sugimoto N, Yachie A, Ohno-Shosaku T. Cannabinoids inhibit peptidoglycan-induced phosphorylation of NF- κ B and cell growth in U87-MG human malignant glioma cells. *Oncol Rep.*, 2012; 28: 1176-1180. <査読有>

Miwa S, Sugimoto N, Yamamoto N, Shirai T, Nishida H, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Igarashi K, Yachie A, Tsuchiya H. Caffeine Induces Apoptosis of Osteosarcoma Cells by Inhibiting AKT/mTOR/S6K, NF- κ B and MAPK Pathways. *Anticancer Res.*, 2012; 32: 3643-3649. <査読有>

Tanaka T, Hitomi Y, Kambayashi Y, Hibino Y, Fukutomi Y, Shibata A, Sugimoto N, Hatta K, Eboshida A, Konoshita T, Nakamura H. The differences in the involvements of loci of promoter region and Ile50Val in interleukin-4 receptor chain gene between atopic dermatitis and Japanese cedar pollinosis. *Allergol Int.*, 2012; 61: 57-63. <査読有>

〔学会発表〕(計 11 件)

杉本直俊、少作隆子、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「低酸素環境下でのがん細胞の動向」、第 9 回環境生理学プレコングス、2014 年 3 月 15 日、国民宿舎レインボー桜島(鹿児島県)

杉本直俊、「食と若返り」、第一回食と環境、そして高齢化を考える研究会、2013 年 11 月 22 日、ホテル日航金沢(石川県)

杉本直俊、松崎健太郎、片倉賢紀、紫藤治、「熱耐性能獲得細胞からの熱中症予防関連分子の同定」、第 52 回日本生気象学会大会、2013 年 11 月 2 日、米子市文化ホール(鳥取県)

松崎健太郎、片倉賢紀、杉本直俊、宮本まゆみ、原俊子、紫藤治、「アミロイド-脳室内投与によるラット行動性体温調節機能の変化」、第 52 回日本生気象学会大会、2013 年 11 月 2 日、米子市文化ホール(鳥取県)

杉本直俊、「高齢者の骨格筋の役割 体温調節と水分代謝の視点からの考察」、第 68 回日本体力医学会大会、2013 年 9 月 21 日、日本教育会館・学術総合センター(東京都)

杉本直俊、「細胞から熱中症予防を考える」、第 27 回 運動と体温の研究会、2013 年 9 月 20 日、立教大学池袋キャンパス(東京都)

杉本直俊、松崎健太郎、紫藤治、「培養細胞を用いた暑熱馴化の研究」、第 8 回環境生理学プレコングレス、2013 年 03 月 26 日、東京女子医科大学・早稲田大卓連携 先端生命医科学研究教育施設(TWIns)(東京都)

松崎健太郎、杉本直俊、宮本まゆみ、原俊子、紫藤治、「ラット暑熱馴化形成時の唾液分泌機能変化」、2012 年 11 月 08 日、キッセイ文化ホール(長野県)

杉本直俊、松崎健太郎、紫藤治、「短期～長期温熱刺激が細胞の heat tolerance へ与える影響」、第 51 回日本生気象学会大会、2012 年 11 月 08 日、キッセイ文化ホール(長野県)

杉本直俊、田中真生、澤木俊興、藤田義正、正木康史、梅原久範、「温熱刺激による唾液腺アクアポリンと転写因子の発現調節」、第 21 回日本シェーグレン症候群学会学術集会、2012 年 09 月 07 日、ウエスティン都ホテル京都(京都府)

杉本直俊、田中真生、澤木俊興、藤田義正、正木康史、梅原久範、「温熱刺激による唾液腺房細胞アクアポリン 5 の発現調節」、第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2012 年 04 月 28 日、グランドホテル新高輪(東京都)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://ridb.kanazawa-u.ac.jp/public/detail.php?kaken=80272954>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 直俊(SUGIMOTO, Naotoshi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：80272954

(2) 研究分担者

紫藤 治(SHIDO, Osamu)

島根大学・医学部・教授

研究者番号：40175386