

東京理科大学TLO／株式会社オーガンテクノロジーズ
—科学雑誌『*Nature Communications*』（オンライン版）に成果を発表—

『機能的な唾液腺の再生が可能であることを実証』

—ドライマウスに対する新規治療法としての可能性と
次世代の臓器・器官再生医療としての分泌腺再生の実現可能性を示す—

この度、東京理科大学・総合研究機構 教授、株式会社オーガンテクノロジーズ 取締役、辻 孝（つじ たかし）が中心となって推進してきた再生医療に関する研究成果が、科学雑誌『*Nature Communications*』（<http://www.nature.com/ncomms/index.html>）にて発表されることとなりました。

辻教授らの研究グループは、2007年に単一細胞から臓器（器官）のもととなる器官原基を人為的に組み立てる三次元的な細胞操作技術「器官原基法」を世界に先駆けて開発し（*Nature Methods* 誌）、器官再生技術として世界中から大きな注目を集めました。2009年には、再生した歯の器官原基（再生歯胚）を生体に移植し、機能的な歯の再生に成功しました（*PNAS*誌、米国科学アカデミー紀要）。2012年には、世界に先駆けて成体由来幹細胞から機能的な毛包が再生可能であることを報告しました（*Nature Communications*誌）。これらの研究成果は、将来の幅広い臓器・器官の再生の実現可能性を示すものとして、世界中で大きな反響を呼びました。

今回の研究成果は、株式会社オーガンテクノロジーズ、小川美帆研究員らと共同で、胎仔由来の唾液腺原基の幹細胞から再生唾液腺原基を作り出し、唾液腺を欠損させたマウスに移植することにより、神経刺激に応じて唾液を分泌する機能的な唾液腺が再生可能であることを実証したものです。本研究成果は、口腔乾燥症に対する新しい治療法として、「唾液腺の器官再生医療」の実現可能性を示すものです。研究成果の詳細につきましては、添付の参考資料をご参照ください。

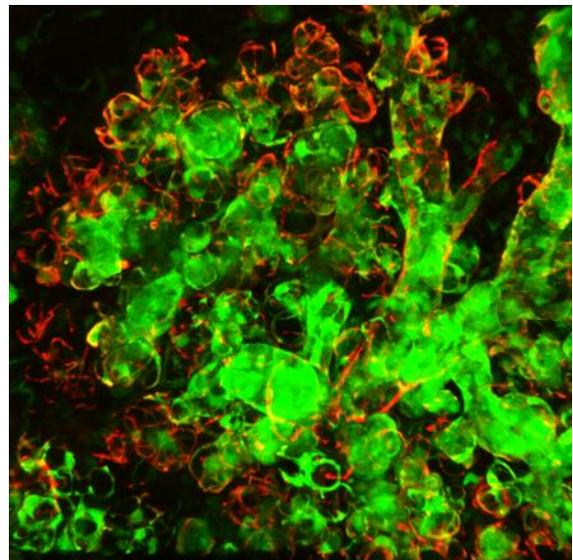


図1. 再生唾液腺の腺房・導管（緑）と筋上皮細胞（赤）

本研究成果は立川哲彦名誉教授（昭和大学歯学部）との共同研究によるものです。本研究は、平成25—27年度、文部科学省・科学研究費補助金・基盤研究（A）（研究代表者：辻 孝）、「次世代器官再生医療のための基盤技術の開発」の研究補助金により推進されたものです。また本研究は、独立行政法人 科学技術振興機構（JST）「再生医療実現拠点ネットワーク事業、再生医療実現ネットワークプログラム、技術開発個別課題」として採択された研究課題「歯・外分泌腺などの頭部外胚葉器官の上皮・間葉相互作用制御による立体形成技術の開発」（平成25-30年度、研究代表者：辻孝）の基本技術となるものであり、今後の研究の発展が期待されます。

●報道解禁は、『*Nature Communications*』での発表後、10月1日（火曜日）米国東部時間11時（日本時間では、10月2日（水曜日）午前0時、但し当日の朝刊は可能）となります。

1. 研究の背景

1) 唾液の役割

唾液は、食物の消化を助けるばかりではなく、口の中の洗浄、殺菌、歯質の保護など、様々な役割を担っています。唾液は唾液腺から分泌されます。唾液腺には、一般的に大唾液腺と呼ばれ1日に分泌される唾液の約95%を担っている耳下腺・顎下腺・舌下腺と(図2;左)、口の中に散在し残りの5%を分泌する小唾液腺があります。唾液腺の中で1番大きな耳下腺は、アミラーゼなどの消化酵素を多く分泌しています。2番目に大きな顎下腺は、1日に分泌される唾液の約60~70%を分泌しています。舌下腺はムチンを多く含む粘性の高い唾液を分泌し、口腔内の湿潤を保つ役割を担っています。唾液腺はブドウのような構造をしており、唾液を合成する腺房細胞と、その周囲を取り囲み唾液の分泌を補助している筋上皮細胞、唾液を口の中に運ぶ導管細胞から構成されています(図2;右)。

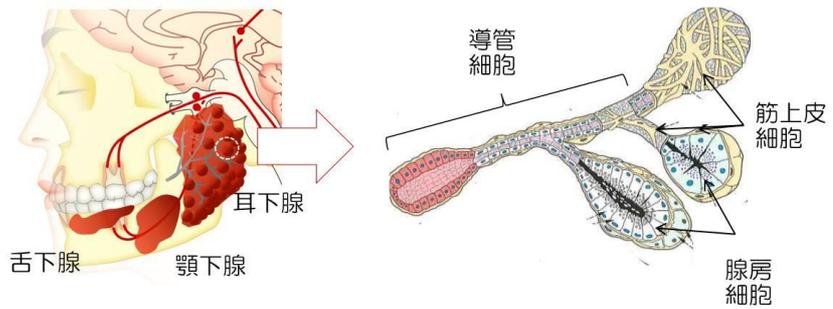


図 2. 唾液腺の種類 (左) と構造 (右)

2) 唾液腺と疾患

唾液腺の機能低下により唾液の分泌量が低下すると、口腔乾燥症(ドライマウス)と呼ばれる口腔内の乾燥障害を引き起こします。口腔乾燥症は老化やストレス、薬剤の副作用や頭頸部ガン治療のための放射線照射により、唾液を合成する腺房細胞が萎縮することで発症します。社会の高齢化によりその患者数は年々増加しており、欧米の疫学調査では人口の約25%が口腔乾燥症の潜在患者であると報告されており、日本人に換算すると患者数は約3000万人にのぼると考えられています(ドライマウス研究会; <http://www.drymouth-society.com/>)。口腔乾燥症になると、カンジダ症や舌苔、多発性う蝕などの障害が現れるようになり、重症になると嚥下や発声、睡眠にも影響を与え、私たちの生活の質(QOL)を低下させます。現在のところ、口腔乾燥症に対する治療法として人工唾液や唾液分泌を促進する薬剤、マッサージ等が行われていますが、いずれも対症療法であり、根治的な治療法の開発が求められています。

3) 唾液腺の再生

口腔乾燥症に対する新たな治療法として、唾液腺幹細胞の移入による補充療法や、残存する唾液腺幹細胞を活性化することにより再生しようとする研究が進められています。私たちは次世代の再生医療として様々な分野で基礎研究が進められている「器官再生医療」による唾液腺の再生を目指しました。

本研究グループは3次元的な細胞操作技術により、器官のもととなる器官原基を人為的に再生する「器官原基法」を開発し(*Nat. Methods* **4**, 227-30, 2007)、周囲の組織と連結して機能しうる機能的な歯や毛が再生可能であることを明らかとしました(*PNAS*, **106**, 13475-13480, 2009、*Nat. Commun.*, **3**, 784, 2012) (図3)。

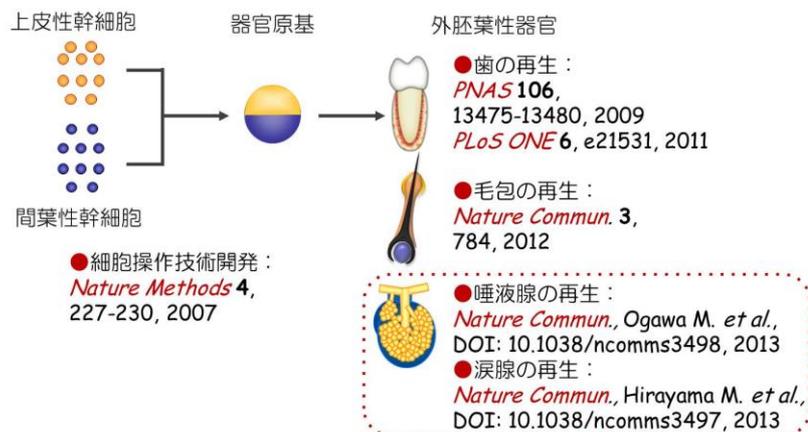


図 3. 器官再生の戦略図

2. 研究成果の概要

本研究では、胎子由来の唾液腺幹細胞を取得し、器官原基法により人為的に作製した再生唾液腺原基を成体の唾液腺欠損部位に移植することで、機能的な唾液腺再生が可能であるかどうかの解析を行いました(図4)。

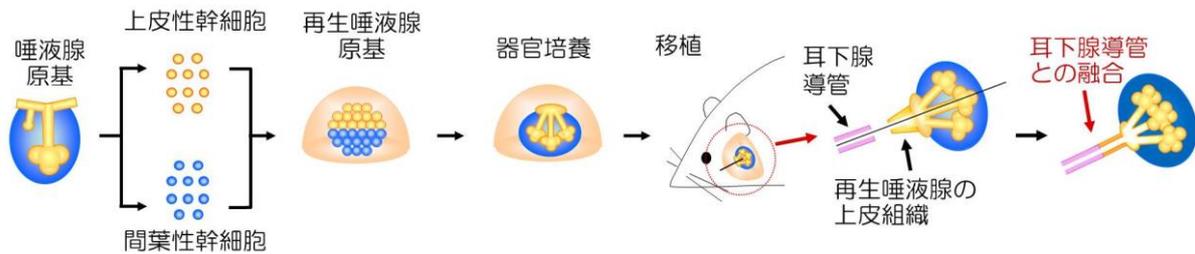


図 4. 器官原基法を用いた唾液腺の再生の戦略図

1) 再生唾液腺原基の作製

初めに、器官原基法による唾液腺原基の発生を解析しました。唾液腺には、消化酵素を多く含むさらさらとした唾液を分泌する漿液腺(顎下腺・耳下腺)とムチンを多く含む粘性の高い唾液を分泌する粘液腺(舌下腺)の大きく分けて2種類の腺があるため、胎子由来の顎下腺細胞と、舌下腺細胞を用いてそれぞれ再生唾液腺原基を作製しました。生体外で再生唾液腺原基の培養をおこなったところ、どちらも分泌腺特有の分岐構造を形成することから、唾液腺を再生できる可能性が示されました(図5)。

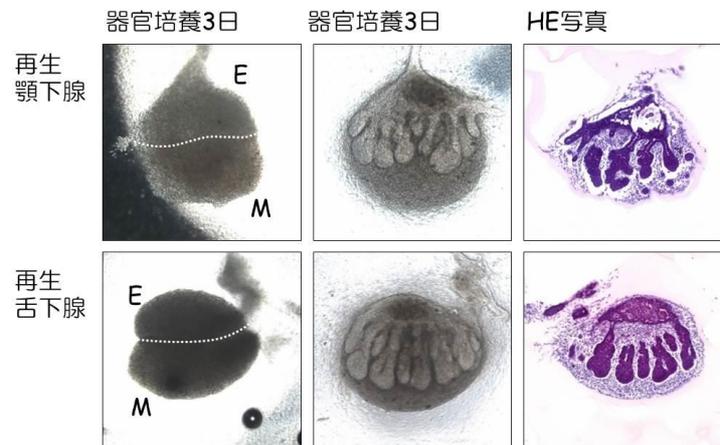


図 5. 作製した再生顎下腺原基(上)と再生舌下腺原基(下) E:上皮、M:間葉

2) 再生原基の移植による唾液腺の再生

唾液腺が機能するためには、口の中に唾液を分泌できることが重要となります。そこで、再生唾液腺原基にデバイス挿し、導管と再生唾液腺原基の上皮組織が接続するように移植を行いました。移植30日後の再生唾液腺が宿主導管と接続しているかどうかを明らかとするため、色素を口腔側の導管から逆流させました。すると、色素は漏れることなく再生唾液腺内部まで到達したことから、ホストの導管と再生唾液腺が接続し、唾液を口腔内に分泌している可能性が示されました(図6)。

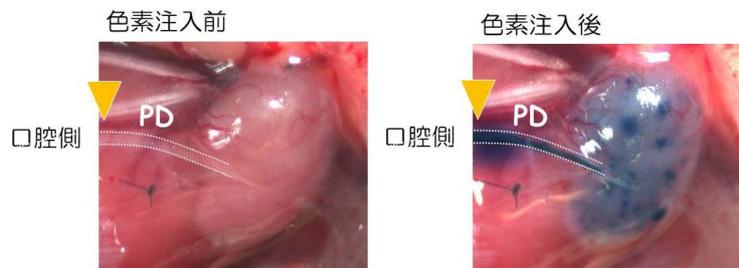


図 6. 再生唾液腺と宿主導管の接続解析
色素注入前(左)と色素注入後(右)の再生唾液腺、PD:耳下腺導管、▽色素注入部位

3) 再生唾液腺の組織構造の解析

唾液腺が唾液を分泌するためには、唾液を合成する腺房細胞と唾液の排出経路である導管が形成されるばかりでなく、唾液を絞り出すために筋上皮細胞が腺房細胞の周囲に配置され、筋収縮をさせる神経が接続していることが重要です。そこで、再生唾液腺の組織学的解析を行ったところ、再生顎下腺は漿液性の腺房構造を形成し、一方で再生舌下腺は粘液性の腺房構造を形成していることが示されました（図7a）。さらに、再生唾液腺の腺房細胞周囲には筋上皮細胞が配置し（図7b）、その周囲には神経線維が侵入していたことから（図7c）、再生唾液腺は唾液を分泌しうる構造であることが示されました。

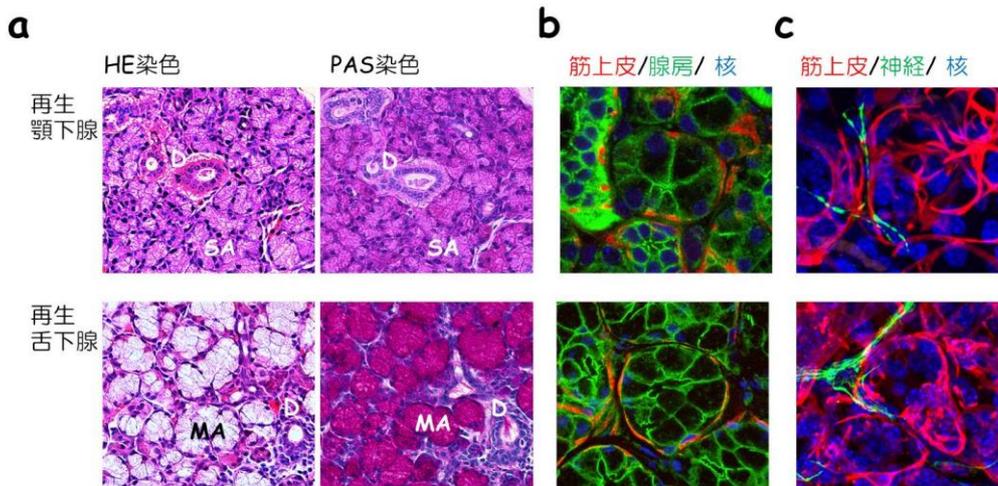


図 7. 再生唾液腺の組織解析

- (a) 再生顎下腺と再生舌下腺の組織像、D：導管、SA：漿液性腺房、MA：粘液性腺房
 (b) 腺房細胞と筋上皮細胞の免疫像、緑：腺房細胞、赤：筋上皮細胞
 (c) 筋上皮細胞と神経の免疫像、赤：筋上皮細胞、緑：神経細胞

4) 再生唾液腺の神経調節による唾液分泌

私たちが食べ物を食べると、舌上にある味蕾が味を感じ、その刺激が脊髄の孤束核に伝わり、延髄の上・下唾液核を経由して唾液腺へと伝わることで、唾液腺からの唾液の分泌が促進されます。そこで、実際に再生唾液腺が食べ物の刺激によって唾液を分泌する機能的な唾液腺であるかどうかを明らかにするため、再生唾液腺を移植したマウスの口の中に酸味の刺激を与えたときの唾液分泌量の解析を行いました（図8a）。刺激をしなかった場合と比較し、酸味の刺激を与えた場合に唾液分泌量は優位に増加したことから、神経調節により再生唾液腺からの唾液分泌が制御されていることが示されました（図8b）。さらに、分泌された唾液にはアミラーゼが含まれていたことから、機能的な唾液腺が再生可能であることが示されました。

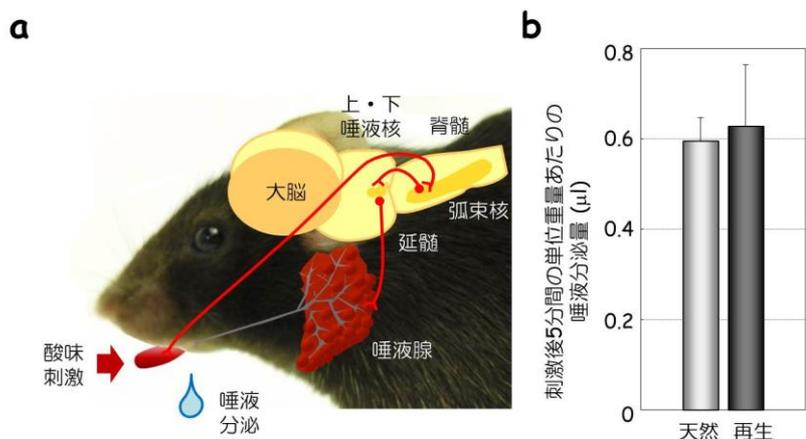


図 8. 再生顎下腺の唾液分泌能の解析

- (a) 味覚刺激による唾液分泌経路
 (b) 味覚刺激による唾液分泌、白：天然、黒：再生

5) 再生唾液による口腔環境の改善効果

口腔内に分泌された唾液は、口腔内を洗浄し、口腔内の湿度を保ち、細菌の繁殖を抑制する等、口腔の機能と恒常性を維持するためのさまざまな役割を担っています。そこで唾液によって口の中が洗浄される様子を観察したところ、舌上に貼付した蛍光色素を含む紙から、蛍光色素が時間の経過と共に唾液によって拡散し、徐々に消失している様子が認められました(図9a, b)。再生唾液腺を移植したマウスにおいては口腔内の細菌の繁殖が優位に抑制されていることが判明しました(図9c)。これらの結果から、再生唾液腺から分泌された唾液は口腔内を洗浄し、殺菌する作用を有していることが示されました。

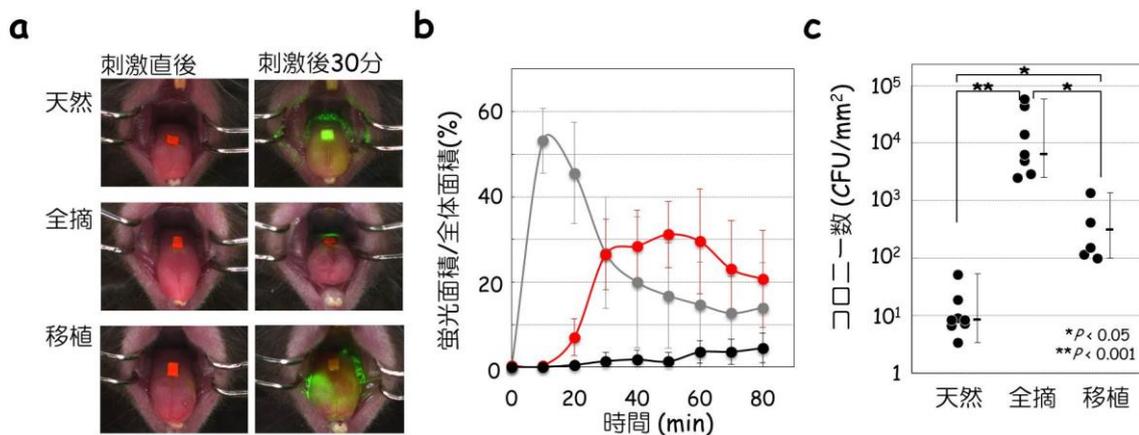


図9. 再生唾液腺による口腔環境の改善

(a) 再生唾液腺から分泌された唾液の口腔内写真

(b) 再生唾液による口腔の洗浄効果、灰色：天然、黒：唾液腺全摘出、赤：再生唾液腺移植

(c) 再生唾液による細菌繁殖の抑制効果

6) 再生唾液による嚥下障害の回復

唾液は水や食物と混ざり合うことで食塊を形成し、飲み込み(嚥下)を促す役割を担っています。高齢者で水や食物の誤嚥が増えるのは、唾液分泌量の低下が原因の一つであり、食事の前に口腔内を潤したり、液体にとろみをつけるなどの配慮が行われています。マウスの唾液腺を全て除去すると体重は減少し、数日で全個体が死亡しました。一方、老人介護で用いられるとろみ水(粘水)を投与すると、体重の減少は回復し、100%生存することがわかりました。このことから、唾液腺を除去したマウスは嚥下障害のモデルになることが示されました。

このモデルマウスに再生唾液腺原基を移植したところ、一時的に体重の減少が認められるものの体重は回復し、100%生存することが明らかとなりました(図10a, b)。このことから、再生唾液腺より分泌された唾液は、水や食物の嚥下を補助し、固体の生存に寄与していることが明らかとなりました。

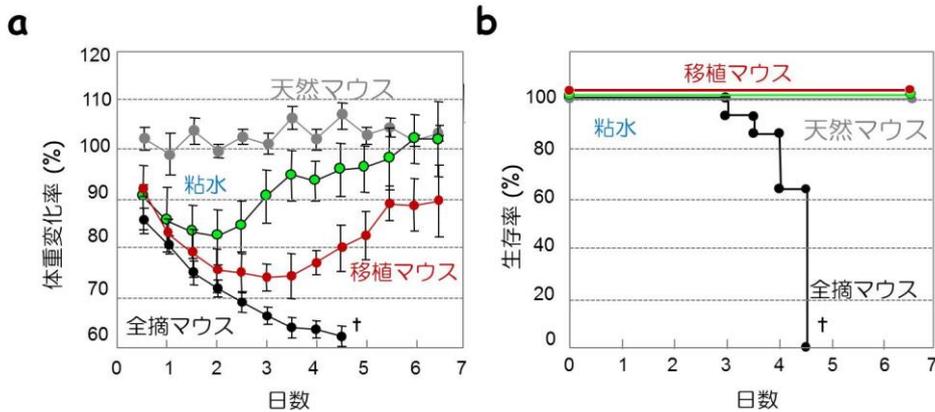


図 10. 再生唾液腺移植による嚥下障害の改善効果
(a) 再生唾液腺移植による体重変動の解析
(b) 再生唾液腺移植による生存率の解析

以上の研究成果から、再生唾液腺原基を成体マウスへ移植することにより、神経調節に応じて唾液を分泌することが可能な唾液腺が再生可能であり、口腔乾燥症に対する新たな治療法としての概念を実証するとともに、分泌腺の置換再生医療の実現可能性を示しました。

3. 今後の課題

今回、私たちは胎子の細胞を用いて唾液腺を再生させる技術の開発に成功しました。しかしながら、本技術を実用化するためには、唾液腺を再生可能な細胞シーズを探索する必要があります。そこで私たちは、多能性幹細胞であるヒト iPS 細胞からの唾液腺の再生を進めていきます。この研究は、再生医療実現拠点ネットワークプログラム、技術開発個別課題「歯・外分泌腺などの頭部外胚葉器官の上皮・間葉操作作用制御による立体形成技術の開発」(平成 25~30 年度、代表研究機関：東京理科大学)として研究推進していきます。



■論文について：

Functional salivary gland regeneration by transplantation of a bioengineered organ germ

Miho Ogawa^{1,2}, Masamitsu Oshima², Aya Imamura³, Yurie Sekine³, Kentaro Ishida², Kentaro Yamashita³, Kei Nakajima⁴, Masatoshi Hirayama⁵, Tetsuhiko Tachikawa⁶ & Takashi Tsuji^{1,2,3*}

小川美帆^{1,2}、大島正充²、今村 彩³、関根由利恵³、石田研太郎²、山下健太郎³、中島 啓⁴、平山雅敏⁵、立川哲彦⁶、辻 孝^{1,2,3}

¹ 株式会社 オーガンテクノロジーズ、² 東京理科大学・総合研究機構、³ 東京理科大学院・基礎工学研究科・生物工学専攻、⁴ 東京歯科大学・大学院歯学研究科・臨床検査病理学講座、⁵ 慶應義塾大学・大学院医学研究科・外科系眼科学、⁶ 昭和大学・歯学研究科・口腔病理学講座

*連絡先：東京理科大学・大学院基礎工学研究科・生物工学専攻

〒278-8510 千葉県野田市山崎2641（東京理科大学 野田キャンパス内）

TEL: 04-7122-9711 (4427), FAX: 04-7122-1499

辻 孝（総合研究機構・教授、大学院基礎工学研究科・生物工学専攻・教授）

E-mail: t-tsuji@rs.noda.tus.ac.jp

■関連機関およびプロジェクトについて

●東京理科大学、総合研究機構、社会連携部、オーガンテクノロジーズ器官再生工学プロジェクトについて（総合研究機構年報より抜粋）

総合研究機構は新しい学問の進展に対応し、かつ社会のニーズに応えるために、複数の学問分野の教員が協力して、学際型、分野横断型の総合的な研究体制を構築すると共に、産業界や行政、学外の専門家とも積極的な連携を図ることにより、優れた研究効果を創出・発信することを目指しています。さらに本学の学術教育研究体制の持続的発展・強化と人材育成環境の格段の高度化を実現することにより、社会に大きく貢献することを目的としています。総合研究機構、社会連携部は、本学の教員が責任者となり実施する外部資金による共同研究のうち、社会連携の推進に対し、特段に貢献できると認められるもので、重要性を有する社会連携プロジェクトを実施することを目的とします。

社会連携部、オーガンテクノロジーズ器官再生工学プロジェクトは平成21年1月に設置。

●所在地：〒278-8510 千葉県野田市山崎2641（東京理科大学 野田キャンパス内）

●プロジェクト代表者：辻 孝（総合研究機構・教授、大学院基礎工学研究科・生物工学専攻・教授）

●株式会社 オーガンテクノロジーズについて

別紙、（株）オーガンテクノロジーズの説明資料参照のこと

●所在地：〒108-0074 東京都港区高輪三丁目25番27号

●代表取締役社長：朝井 洋明

●ホームページ：<http://www.organ-technol.co.jp/>

●主な事業概要：再生医療向け医薬品および材料の製造・販売および輸出入、治療用細胞、組織、器官の受託製造、販売、および輸出入



● 独立行政法人日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究(A)について

科学研究費補助金は、人文・社会科学から自然科学まで全ての分野にわたり、基礎から応用までのあらゆる「学術研究」（研究者の自由な発想に基づく研究）を格段に発展させることを目的とする「競争的金」であり、専門分野の近い複数の研究者による審査により、豊かな社会発展の基盤となる独創的・先駆的な研究に対する助成を行うものです。（科学研究費補助金公募要領より引用）

● 本成果に関わる研究課題

「次世代器官再生医療のための基盤技術の開発」

平成 25-27 年度、基盤研究（A）、研究代表者：辻 孝

● 独立行政法人 科学技術振興機構（JST）「再生医療実現拠点ネットワーク事業 再生医療実現ネットワークプログラム、技術開発個別課題」について

再生医療実現ネットワークプログラムは、「国際競争が激化しているiPS細胞等を使った再生医療について、世界に先駆けて臨床応用をするべく研究開発を加速すること」を目的とし、臨床応用を見据えた安全性・標準化に関する研究、再生医療用iPS細胞ストックの構築を実施する「iPS細胞研究中核拠点」と、疾患・組織別に責任を持って再生医療の実現を目指す「疾患・組織別実用化研究拠点」の2拠点で研究体制の構築を実施します。また、上記拠点と連携して「技術開発個別課題」では、日本のiPS細胞関連産業の育成も目的として、iPS細胞等の臨床応用の幅を広げる技術や、より高度な再生医療を目指した技術開発を実施します（平成25年度再生医療実現拠点ネットワークプログラム公募要項より抜粋）。

● 本成果に関わる研究課題

「歯・外分泌腺などの頭部外胚葉器官の上皮・間葉相互作用制御による立体形成技術の開発」

平成25-30 年度、研究代表者：辻 孝

以 上