

**【件名】**

唾液腺再生医療を目的とした唾液腺細胞の初代培養技術

**【背景・研究の目的】**

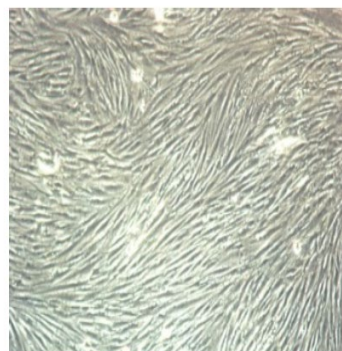
唾液は口腔・食道の粘膜免疫に重要な役割を果たすだけでなく、摂食・嚥下などの機能にも大きく関与している。このため、加齢、自己免疫疾患、放射線治療等による唾液腺萎縮が引き起こす唾液分泌量の低下は様々な障害の原因となり、唾液分泌量は患者の QOL を左右する重要な因子の一つとされている。現在、重症口腔乾燥症の新規治療法として唾液腺再生医療の研究が盛んに行われているが、実用化には程遠いのが現状である。理由としては唾液腺細胞の初代培養が非常に困難である事が挙げられる。本研究は、新規の唾液腺初代培養法を提供し、唾液腺再生医療の確立を目指すものである。

**【研究成果の概要】**

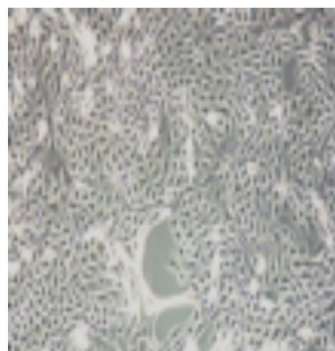
Rho kinase 阻害剤（以下、Rock 阻害薬）を用いた培養方法により、唾液腺細胞の初代培養と長期機能維持に成功した。また、初代培養が困難な口腔組織の正常細胞（口腔上皮細胞、線維芽細胞、癌関連線維芽細胞、血管内皮細胞）や歯牙腫細胞についても同様に Rock 阻害薬を用いることで初代培養に成功した。

**・唾液腺細胞初代培養**

患者の口唇腺から単離したヒト唾液腺細胞を、Rock 阻害薬を含んだ培地で培養した。通常の培地で唾液腺細胞を培養した場合、継代を繰り返す毎に細胞形態が線維芽細胞様変化を示したのに対し、Rock 阻害薬存在下で唾液腺細胞を培養すると敷石状の細胞形態が継代を繰り返しても保持されている（図 1）。また、継代を継続しても、唾液腺特異的マーカーであるアミラーゼの mRNA 発現量が高いまま維持されていた。また、Rock 阻害薬を含んだ培地で培養することによる細胞障害性の確認も行った。染色体障害はなく、PCNA および Caspase-3 の発現は Rock 阻害薬の有無による差がなかった。Rock 阻害薬をヌードマウスの腹腔内投与した際のマウス血液学検査、体重推移、病理組織学的検索において異常所見はなく、安全性が確認された。



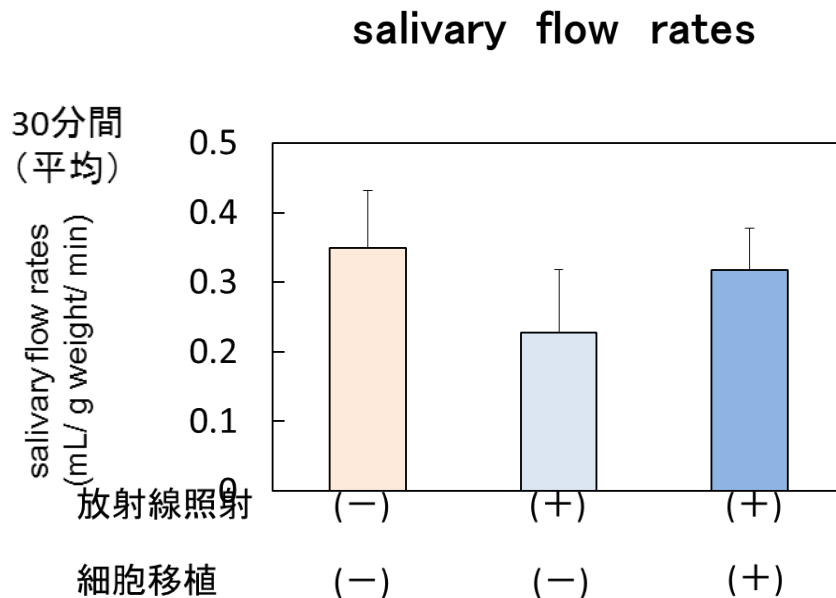
Rock阻害薬 (-)



Rock阻害薬 (+)

### ・唾液腺細胞の移植及び再生試験

GFPラットの顎下腺細胞を単離、Rock 阻害薬を含んだ培地で培養し、放射線により唾液分泌量が低下したラットのワルトン管にその細胞を注入した。その結果、細胞を注入された群(放射線照射(+), 細胞移植(+))では、正常ラット(放射線照射(-), 細胞移植(-))と同等の唾液分泌量が得られ、唾液腺の機能回復がみられた。



#### 【特許出願状況】

特許第 6685554 号

#### 【優位性】

従来は困難であったヒト唾液腺細胞の初代培養と長期機能維持が可能となったため、唾液腺再生医療の実用化へ向かって大きく前進できた。

#### 【応用例】

- ・唾液腺をはじめとする口腔組織の正常細胞を用いた再生医療
- ・歯牙腫発生メカニズム解明研究に寄与する実験系の確立のための、歯牙腫細胞培養方法の提供

#### 【発明者】

丹沢秀樹、鶴澤一弘、笠松厚志

#### 【連絡先】

千葉大学 未来医療教育研究機構

Tel: 043-226-2832 e-mail: mirai-shien@chiba-u.jp