

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390420

研究課題名(和文)咀嚼運動による唾液腺由来BDNFの抗うつ効果についての解明

研究課題名(英文)Clarification about the antidepressant effect of salivary gland BDNF due to chewing

研究代表者

槻木 恵一 (Tsukinoki, Keiichi)

神奈川歯科大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：00298233

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円、(間接経費) 4,350,000円

研究成果の概要(和文)：唾液腺由来BDNF強発現マウスを用いて、open field testおよび高架式十字迷路により行動生理学的変化を検討を行い、open field testにおけるcenter侵入回数・滞在時間が、高架式十字迷路においてはopen arm侵入回数がTgマウスで有意に高かった。以上より、唾液腺産生BDNFが中枢へ移行することで抗不安効果を発揮することが示唆された。

Tgマウスの唾液腺BDNFは、中枢神経に移行し抗不安作用を示す可能性が示されたが、ヒト咀嚼運動では唾液BDNFの増加について必ずしも現時点で、増加する証明は得られていない。今後、ヒト唾液腺BDNFの抗うつ作用について検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined whether there are association between antidepressant and BDNF increased by chewing. The BDNF strong expression mouse derived from salivary gland showed a high BDNF blood symptom by ELISA system. Using this Tg mouse, we examined an action physiologic change by open field test and an elevated cross maze. The center invasion number of times, sojourn time in open field test was significantly high in the open arm invasion number of times with Tg mouse in the elevated cross maze. It was suggested that salivary gland BDNF showed an antianxiety effect in the central nervous system. In summary, by the animal experiment, the salivary gland BDNF may be antidepressant effect, but it will be necessary to examine it in detail in future whether BDNF increased by human chewing has antidepressant effects.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：BDNF 唾液腺 咀嚼運動 うつ病

1. 研究開始当初の背景

日本は自殺者数が先進国のうち最も多く大きな社会問題となっており、この対策は重要な懸案となっている。特に自殺と関連が深い「うつ病」の発症にはストレスが誘引の一つであり、効果的な予防方法の確立は緊急の課題である。近年、うつ病をはじめとする精神疾患、自殺、精神的ストレスに伴う生体の変調に神経栄養因子の量的変動やその機能異常を示す研究報告が増えている (Dwivedi Y. *Ann Med.* 2010 42(2):87-96.)。神経栄養因子の一つである脳由来神経栄養因子 BDNF は、神経細胞の維持、保護作用などが認められ、BDNF の一塩基多型が記憶力に悪影響することがヒトを用いた研究で証明されており (Egan MF et al. *Cell.* 2003 24;112(2):257-69.) 国際的に最も注目されている物質である。さらに、うつ病で血中 BDNF 量が低下し、抗うつ薬でその値が回復する (Castrén E et al. *Dev Neurobiol.* 2010 70(5):289-97.) ことや脳内への BDNF 投与でうつ状態の改善 (Sirianni RW et al. *Brain Res.* 2010 19;1321:40-50.)が見られるので、BDNF の抗うつ作用の解明は、BBB を通過する特徴からも (Pan W et al. *Neuropharmacol.* 1998 37(12):1553-61.) 21 世紀における BDNF の臨床応用に向けた新しい研究課題となっている。

申請者らは、いち早くこの BDNF に注目し、BDNF がストレス負荷により唾液腺で発現が増加することを発見した。さらに、ストレス負荷は唾液腺での BDNF の増加だけでなく、唾液腺は血中 BDNF の増加に重要な臓器であることを同定した。すなわち血中 BDNF の由来はそれまで不明であったが、申請者らの研究により、世界に先駆けて唾液腺が血中 BDNF 濃度の制御に関する責任臓器であることを明らかにした。この成果は世界的にも関心が高く多方面の研究者から注目を集めており、*Histology Histopathology*

(IF=2.4) に総説として発表する機会にも恵まれた。さらに、申請者らは唾液腺由来血中 BDNF の機能的役割について研究を進めており、現在までに唾液腺由来 BDNF は脳などの諸臓器に移行することを見出した。

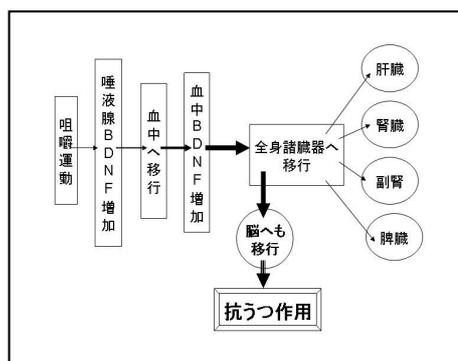
このことは、唾液腺由来 BDNF が神経組織に影響する可能性を示し、唾液腺産生物質が全身の諸臓器に移行することを世界で初めて証明した画期的な研究成果である。また、ストレス時、唾液腺 BDNF の上昇は BDNF 低下神経疾患の予防効果と関連することが示唆され興味深い。これらの内容の一部は、第 52 回日本歯科基礎医学会総会サテライトシンポジウム (平成 22 年 9 月 20 日・船堀) でも発表し国内外から高い評価を得ている。

一方、申請者らはストレス時に咀嚼運動を行うことで唾液腺 BDNF の組織内濃度が上昇するだけでなく、血中濃度も増加させることを見出し既に論文として報告している。さらに、ストレス時海馬で減少する BDNF を咀嚼運動が rescue することを報告し、脳内における BDNF 低下疾患に咀嚼運動が良い影響をもたらす可能性を示した。咀嚼運動と健康については、最近の歯科会の最も重要な関心事の一つであり、咀嚼運動の効用が全身の健康に貢献するという研究報告が増加している。しかしながら、咀嚼運動による唾液腺の活性化がおよぼす全身への影響を科学的に解明しようとした試みは現在までほとんどなく、今後の進展がぜひ必要である。

2. 研究の目的

うつ病では血中 BDNF が低下し、抗うつ薬でその値が回復するので BDNF の抗うつ作用は近年注目されている。一方、申請者らは世界に先駆けて唾液腺が血中 BDNF 濃度の制御に関することを明らかにした。さらに咀嚼運動を行うことで唾液腺 BDNF の組織内濃度が上昇するだけでなく、血中 BDNF 量も増加させることを見出し論文として既

に報告している。そこで本研究では、唾液腺 BDNF が全身のストレス性変化を抑制するという先行研究を基盤として、咀嚼運動がどのようなメカニズムで唾液腺 BDNF を増加させているかを明らかにすることで、咀嚼運動による唾液腺の活性化がおよぼす抗うつ効果への影響を科学的に解明することを目的とする。



3. 研究の方法

咀嚼運動がどのようなメカニズムで唾液腺 BDNF を増加させているか明らかにし、咀嚼運動による唾液腺の活性化がおよぼす BDNF 低下疾患うつ病へ影響を科学的に解明するため以下の実験を当初計画した。咀嚼運動における唾液腺 BDNF 発現調節メカニズムについての分子細胞生物学的手法を用いた検索をする。ヒトにおける血中 BDNF 量および唾液 BDNF 量に対する咀嚼運動の影響を蛋白レベルで測定する。唾液腺 BDNF 発現調節メカニズムに対する抗うつ薬の影響についての分子細胞生物学的手法を用いて検索をする。唾液腺由来高 BDNF 血症マウスによる抗うつ効果について分子細胞生物学的手法を用いて検索をする。うつ病患者における唾液 BDNF と病勢との関連についての蛋白レベルで測定する。

4. 研究成果

ラットに咀嚼運動を biting 賦課により増加させると、唾液腺に BDNF の発現が遺伝

子レベルで増加することが明らかになった。この発現メカニズムとして、BDNF 調節因子である ATP レセプターの発現を検討したところ、ATP レセプターの増加が BDNF 遺伝子の発現に先行して増加し、ATP レセプターのアゴニストにより block すると BDNF 遺伝子の増加が抑制された。このことより、咀嚼運動により ATP レセプターが増加し、唾液中の ATP によりレセプターと結合し BDNF の増加に影響している可能性が示唆された。ヒトにおいては無刺激ガムを用いて、咀嚼運動前後で唾液を採取し、ELISA において BDNF 量を測定した。被験者 20 名の健康な大学生の解析では、有意な差は明らかでなく、今後症例数を増加し検討する予定である。うつ病患者による検討では、唾液量が少なく抗うつ薬による影響が測定に影響した。抗うつ薬により唾液腺 BDNF の産生量に影響するか検討したところ、一部の薬剤で BDNF が増加する傾向が認められた。作用機序の違いが唾液腺 BDNF の発現に影響している可能性があることから、これら作用機序の違いに注目して検討を行っている。唾液腺由来 BDNF 強発現マウスは、ELISA により高 BDNF 血症を呈する。この Tg マウスを用いて、open field test および高架式十字迷路により行動生理学的変化を検討した。open field test における center 侵入回数・滞在時間が、高架式十字迷路においては open arm 侵入回数が Tg マウスで有意に高かった。以上の結果より、唾液腺産生 BDNF が中枢へ移行することで抗不安効果を発揮することが示唆された。うつ病患者による唾液 BDNF 量の検討では、唾液量が少なく抗うつ薬による影響が測定に影響した。また、慶応大学との共同研究において、双極性障害と統合失調症とうつ病の比較検討を行っているが、現在検索を継続中である。

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 9 件)

Kawashima Rie, Shimizu Tomoko, To Masahiro, Saruta Juri, Jinbu Yoshinori, Kusama Mikio, Tsukinoki Keiichi, Effects of stress on mouse α -defensin-3 expression in the upper digestive mucosa, Yonsei Med J, 査読有, Vol.55, No.2, 2014, 387-394
DOI: 10.3349/ymj.2014.55.2.387.

Sugimoto Masahiro, Saruta Juri, Matsuki Chisa, To Masahiro, Onuma Hiromi, Kaneko Miku, Soga Tomoyoshi, Tomita Masaru, Tsukinoki Keiichi, Physiological and environmental parameters associated with mass spectrometry-based salivary metabolomic profiles, Metabolomics, 査読有, Vol.9, No.2, 2013, 454-463
DOI: 10.1007/s11306-012-0464-y

To Masahiro, Kamata Yohei, Saruta Juri, Shimizu Tomoko, Sato Takenori, Kondo Yusuke, Hayashi Takashi, Hamada Nobushiro, Tsukinoki Keiichi, Induction of α -defensin expression by Porphyromonas gingivalis-infected human gingival graft transplanted in nu/nu mouse subdermis, Acta Histochem Cytochem, 査読有, Vol.46, No.1, 2013, 25-34
DOI: doi:10.1267/ahc.12033

Kondo Yusuke, To Masahiro, Saruta Juri, Hayashi Takashi, Sugiyama Hiroki, Tsukinoki Keiichi, Role of TrkB expression in rat adrenal gland during acute immobilization stress, J Neurochem, 査読有, Vol.124, No.2, 2013, 224-232
DOI: 10.1111/jnc.12030

Saruta Juri, Iida Michitaro, Kondo Yusuke, To Masahiro, Hayashi Takashi, Hori Mayumi, Sato Sadao, Tsukinoki Keiichi, Chronic Stress Induces Neurotrophin-3

(NT-3) in the Rat Submandibular Gland, Yonsei Med J, 査読有, Vol.53, No.6, 2012, 1085-1092

DOI: 10.3349/ymj.2012.53.6.1085

Goto Fumiyuki, Saruta Juri, Kanzaki Sho, To Masahiro, Tsutsumi Tomoko, Tsukinoki Keiichi, Ogawa Kaoru, Various levels of plasma brain-derived neurotrophic factor in patients with tinnitus, Neurosci Lett, 査読有, Vol.510, No.2, 2012, 73-77

DOI: 10.1016/j.neulet.2012.01.001

Saruta Juri, Fujino Kazuhiro, To Masahiro, Tsukinoki Keiichi, Expression and localization of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA and protein in human submandibular gland, Acta Histochem Cytochem, 査読有, Vol.45, No.4, 2012, 211-218

DOI: 10.1267/ahc.12005

Tsukinoki Keiichi, Saruta Juri, Histochemistry of the salivary glands: Role of stress-related brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the rat submandibular gland, Acta Histochem Cytochem, 査読有, Vol.45, No.5, 2012, 261-267

DOI: 10.1267/ahc.12017

Nagasawa Takahiro, Saruta Juri, Kondo Yusuke, To Masahiro, Kamata Youhei, Hori Mayumi, Yoshino Fumihiko, Maetani Takashi, Lee Masaichi Chang-il, Tsukinoki Keiichi, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) administration suppresses stress-related lesions, The Bulletin of Kanagawa Dental College, 査読有, Vol.39, No.2, 2011, 79-82

[学会発表](計 26 件)

槻木恵一, 医療人を育てる新たな学習法
チーム基盤型学習 (TBL) - 歯学部における

TBL の実践例 -、第 31 回日本歯科医学教育学会、シンポジウム、7.20-21 2012、岡山

槻木恵一、唾液から「がん」が発見できる時代へ - 歯科医療の拡大を目指した新規唾液検査の開発 -、第 54 回歯科基礎医学会学術大会・総会 サテライトシンポジウム 2、9.14 2012、福島

槻木恵一、唾液バイオマーカーによる診断技術の最前線 研究開発の現状と新しいヘルスケアビジネス創出の展望 検査医療にイノベーションをもたらす唾液検査の展望 -唾液検査の基礎と唾液検査事業への参入のポイント-、BIO tech 2012 国際バイオテクノロジー展 / 技術会議 アカデミックフォーラム、4.25-27 2012、東京

Saruta Juri, Tsukinoki Keiichi 他、Allowing animals to bite reverses the effects of immobilization stress on hippocampal neurotrophin expression、Neuroscience 2011、11.11-17, 2011、Washington DC, USA

猿田樹理、槻木恵一 他、メタボリックシンドロームモデルラットにおける唾液 BDNF の変化と唾の質についての検討、第 53 回日本歯科基礎医学会総会・学術集会、10.1-2 2011、岐阜

〔図書〕(計 2 件)

槻木 恵一、神部 芳則 他、学建書院、がん患者さんの口腔ケアをはじめましょう、第 1 版、2013、1-93

賀来 亨、槻木 恵一 他、学建書院、スタンダード口腔病態病理学、第 2 版、2013、1-293

〔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

神奈川歯科大学 顎顔面診断科学講座 病理学分野 唾液腺健康医学研究所

<http://kdcnet.science-server.com/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

槻木 恵一 (TSUKINOKI Keiichi)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号 : 00298233

(2) 研究分担者

斎藤 一郎 (SAITO Ichiro)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号 : 60147634

(3) 研究分担者

杉本 昌弘 (SUGIMOTO Masahiro)

京都大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号 : 30458963