

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20566

研究課題名(和文)メタボローム解析による唾液を用いた認知機能障害の新規診断・評価法の開発

研究課題名(英文)Development of new diagnostic and of cognitive dysfunction using saliva by metabolome analysis

研究代表者

東 雅啓 (To, Masahiro)

神奈川県立大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：70707348

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、認知症患者における認知機能障害の病態と唾液成分変化との関連性を科学的に明らかにし、メタボローム解析による唾液を用いた認知機能障害の新規診断・評価法の開発を目標として行った。動物実験とヒトを対象とした実験を行い、認知機能障害による唾液成分の変化をメタボローム解析で明らかにした。これにより、唾液成分と認知機能を関連付ける物質が特定でき、唾液簡易キットの検討が可能となった。

研究成果の概要(英文)：In this study, to clarify the relationship between the pathology of cognitive dysfunction and the change of saliva components in dementia patients, we aimed to develop a new diagnostic and evaluation method of cognitive dysfunction using saliva by metabolome analysis. We conducted experiments on animals and human subjects, and revealed the changes in saliva components by cognitive dysfunction using metabolome analysis. These findings indicate relation to saliva component and cognitive function, and it was possible to study of saliva test.

研究分野：口腔科学

キーワード：唾液 認知症 メタボローム

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた日本では、認知症患者数の急激な増加が社会問題としてクローズアップされており、65歳以上の高齢者の15%が該当すると推定されている。その対策として厚生労働省は、平成25年度から「認知症施策推進5カ年計画(オレンジプラン)」を掲げ、患者個人の意思を尊重した上でQOLの維持・向上に繋げることを目標としている。その施策において認知症の早期診断・早期対応が、その後のQOLの低下を防ぐ点から重要視されている。これは、認知症は行動・心理症状が生じてから診断されるパターンが多く、発見の遅れが症状の悪化を招くからである。また、認知症と健常者の中間に軽度認知障害(MCI)がある。この段階で早期に発見されなければ認知症へと移行してしまうため、予防対策をとり症状の進行を阻止する必要がある。そのためにも認知機能の簡易評価法が求められ、これは今後更なる増加が見込まれている認知症患者数の抑制に繋げるための緊急の課題である。

さらに施策の中では、認知症患者に対する充実した支援のために、医療側のみならず家族が本人の変化に気づき早期に対応できるような体制が必要であることが示されている。そのためにも、医師以外でも実施可能な認知機能障害の客観的な予測診断・モニタリング法が必要であった。これまでの研究で、唾液中にも含まれるクロモグラニンAがアルツハイマー病の発症に関与することや、唾液成分が認知症患者のストレス評価に有用であることが報告されている。しかしながら、唾液中のそれら分子と病態の関連性については未だ報告がない。本申請では、唾液成分を網羅的に分析しその関連を解明することにより認知機能障害の新規診断・評価法の確立を目指す。

### 2. 研究の目的

本研究では、ストレス応答性変化と唾液腺の先行研究を基盤として、唾液成分が認知機能の障害によりどのように変化するか分析し、認知機能障害の病態と唾液の関連を解明する。この成果から、認知症の早期診断・モニタリングに歯科の立場から携わることのできるよう研究を進展させることを目的とし、唾液による簡易検査キットの開発を最終目標とする。

### 3. 研究の方法

本研究は動物実験とヒトを対象とした実験を行う。まず初年度は、認知症モデルマウスを用いて、認知機能障害による唾液成分の変化をメタボローム解析で検討し、認知機能障害のマーカーとなる物質を検討する。これまでに申請者らは、ヒトの唾液成分をメタボローム解析で検討し、唾液成分に生活習慣や口腔環境と関連する物質があることを見出した。この結果から、唾液成分と認知機能を

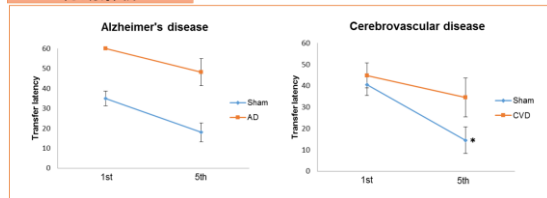
関連付ける物質を特定できる可能性は極めて高い。次年度は動物実験の結果を基に、認知症患者の唾液サンプルを用いて、認知機能障害の病態と特異性の高い物質を同定する。最終年度は同定した物質をターゲットとした、誰でも簡便に測定可能な唾液簡易キットを開発する。

### 4. 研究成果

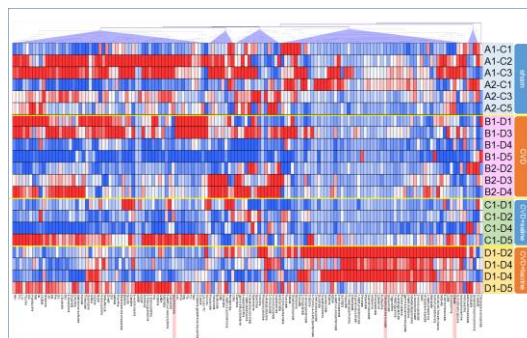
動物実験とヒトを対象とした実験を行い、認知機能障害による唾液成分の変化をメタボローム解析で明らかにした。

認知症モデルマウスとして、アミロイドβを脳室内投与したアルツハイマー型モデルと、麻酔下にて両側総頸動脈を20分間閉塞しその後再疎通させた脳血管障害型モデルを用いた。各マウスにおける学習・記憶力を評価するために高架式十字迷路を使用した。その結果、アルツハイマー型モデルでは行動に差がなかったが、脳血管障害型モデルにおいては行動変化が認められた。

#### 行動解析



この結果から、脳血管障害型モデルマウスにおける唾液のメタボローム解析を行った。その結果、複数の物質において脳虚血による変動が認められた。



このことから認知症改善薬である tacrine をモデルマウスに投与したところ、脳虚血による低下が tacrine により回復する代謝産物を複数認めた。

この結果を基に、介護施設2施設において唾液採取を行い、同時に「改訂版 長谷川式簡易認知症評価スケール」による病態評価を行った。採取した唾液のメタボローム解析を行ったところ、動物実験と同様に複数の物質で変動を認めた。

これら結果より、唾液成分と認知機能を関連付ける物質が特定でき、本研究により唾液簡易キットの検討が可能となった。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件)

① Saruta J, To M, Sugimoto M, Yamamoto Y,

Shimizu T, Nakagawa Y, Inoue H, Saito I, Tsukinoki K: Salivary Gland Derived BDNF Overexpression in Mice Exerts an Anxiolytic Effect. *International Journal of Molecular Sciences*. 査読有, 18(9). pii: E1902. 2017.

②Yamamoto Y, Kubota N, Takahashi T, To M, Hayashi T, Shimizu T, Kamata Y, Saruta J, Tsukinoki K: Continuous combined intake of polydextrose and lactitol stimulates cecal fermentation and salivary IgA secretion in rats. *Journal of Oral Science*. 査読有, 259(4):603-610. 2017.

③坂口和歌子, 東雅啓, 猿田樹理, 清水智子, 鎌田要平, 槻木恵一: DBA マウスにおける血中および唾液中抗 CCP 抗体量の関連性についての研究. *神奈川歯学*. 査読有, 52(1・2), 14-18. 2017.

④Hayashi T, To M, Saruta J, Sato C, Yamamoto Y, Kondo Y, Shimizu T, Kamata Y, Tsukinoki K: Salivary lactoferrin is transferred into the brain via the sublingual route. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 査読有, 81(7), 1300-1304. 2017.

⑤ Yamamoto Y, Fujino K, Saruta J, Takahashi T, To M, Fuchida S, Shimizu T, Kamata Y, Misawa K, Tsukinoki K: Effects of yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* OLL1073R-1 on the IgA flow rate of saliva in elderly persons residing in a nursing home: A before-after non-randomised intervention study. *Gerodontology*. 査読有, 34(4):479-485. 2017.

⑥Shimizu T, To M, Kamata Y, Saruta J, Sato T, Fuchida S, Hamada N, Tsukinoki K: Human  $\beta$ -defensin-2 and interleukin-1  $\beta$  expression in response to *Porphyromonas gingivalis* challenge in mice transplanted with periodontitic human gingiva. *Microbial Pathogenesis*. 査読有, 107:38-43. 2017.

⑦ Ide M, Saruta J, To M, Yamamoto Y, Sugimoto M, Fuchida S, Yokoyama M, Kimoto S, Tsukinoki K. Relationship between salivary immunoglobulin a, lactoferrin and lysozyme flow rates and lifestyle factors in Japanese children: a cross-sectional study. *Acta Odontol Scand*. 査読有, 74(7):576-583, 2016.

⑧Yamamoto Y, Takahashi T, To M, Nakagawa Y, Hayashi T, Shimizu T, Kamata Y, Saruta

J, Tsukinoki K. The Salivary IgA Flow Rate Is Increased by High Concentrations of Short-Chain Fatty Acids in the Cecum of Rats Ingesting Fructooligosaccharides. *Nutrients*. 査読有, 8(8), pii: E500, 2016.

⑨Kurimoto Y, Saruta J, To M, Yamamoto Y, Kimura K, Tsukinoki K. Voluntary exercise increases IgA concentration and polymeric Ig receptor expression in the rat submandibular gland. *Biosci Biotechnol Biochem*. 査読有, 80(12):2490-2496, 2016.

⑩Takeuchi M, Saruta J, Kato M, Sugimoto M, Kamata Y, Shimizu T, To M, Kawata T, Igarashi H, Tsukinoki K. Features of occlusal state in female Japanese patients with migraine: a case-controlled study. *Cranio*. 査読有, 34(6):382-387, 2016.

⑪Kato M, Saruta J, Takeuchi M, Sugimoto M, Kamata Y, Shimizu T, To M, Fuchida S, Igarashi H, Kawata T, Tsukinoki K. Grinding patterns in migraine patients with sleep bruxism: a case-controlled study. *Cranio*. 査読有, 34(6):371-377, 2016.

⑫Yamamoto Y, To M, Hayashi T, Shimizu T, Kamata Y, Saruta J, Takahashi T, Tsukinoki K: Intake of indigestible carbohydrates influences IgA response and polymeric Ig receptor expression in the rat submandibular gland. *British Journal of Nutrition* 査読有, 113(12):1895-1902, 2015.

⑬東雅啓, 猿田樹理, 近藤裕介, 山本裕子, 松木千紗, 清水智子, 鎌田要平, 佐藤光栄, 駒津栄雄, 槻木恵一. 唾液の多機能性に関する検討—全身管理における有用性と脳機能への効果—. *神奈川歯学* 査読有, 50(2): 94-97, 2015.

[学会発表] (計 41 件)

①東雅啓, 河田亮, 松尾雅斗: 顎関節と全身疾患との関連性についての形態学的検討. 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会, 東京, 2018. 3. 28-30.

②東雅啓, 猿田樹理, 窪田展久, 槻木恵一: 脂質異常症における血液および唾液中成分変化の解析—神奈川歯科大学大学院大講座分野融合型基幹研究1—. 第52回神奈川歯科大学学会総会, 横須賀, 2017. 11. 25.

③東雅啓, 河田亮, 松尾雅斗: 高齢者における顎関節の形態学的研究. 第59回歯科基礎医学会学術大会・総会, 長野, 2017. 9. 16-18.

④東雅啓, 中久木康一, 湊田慎也, 松尾雅斗, 槻木恵一: 平成 26-28 年度の歯学部 1 年生における災害時歯科保健医療に対する意識調査の比較. 第 36 回 歯科医学教育学会総会・学術大会, 長野, 2017. 7. 28-29.

⑤Matsuo M, To M: Regeneration of bone defect after application of Platelet - rich fibrin (PRF). IADR General meeting, Sanfrancisco, USA, 2017. 3. 23.

⑥東雅啓, 杉本昌弘, 猿田樹理, 松尾雅斗, 槻木恵一: 認知機能障害による唾液成分への影響, 第 51 回神奈川歯科大学学会総会, 横須賀, 2016. 12. 3.

⑦東雅啓, 杉本昌弘 他: 認知症モデルマウスにおける唾液中の認知機能マーカーの探索, 第 58 回歯科基礎医学会学術大会, 札幌, 2016. 8. 24-26.

⑧松尾雅斗, 東雅啓 他: Advanced Platelet-rich fibrin(A-PRF)を用いた歯槽骨再生療法の微小循環変化について, 第 58 回 歯科 基礎 医学会 学術 大会, 札幌, 2016. 8. 24-26.

⑨東雅啓, 中久木康一, 湊田慎也, 門井謙典, 松尾雅斗, 槻木恵一: 歯学部学生における災害発生時の歯科保健医療に対する意識変化, 第 35 回歯科医学教育学会総会・学術大会, 大阪, 2016. 7. 1-2.

⑩東雅啓. 歯学部における災害医療歯科学教育の推進. 第 50 回神奈川歯科大学学会総会, 横須賀, 2015. 12. 5.

⑪東雅啓, 猿田樹理, 杉本昌弘, 近藤裕介, 齋藤一郎, 槻木恵一: 唾液腺 BDNF 強制発現トランスジェニックマウスにおける神経生理学的変化とヒトの精神神経疾患の病態評価における唾液検査の応用. 第 57 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 SS4 「第 29 回唾液腺談話会 唾液腺研究最前線 ~未来へと続く軌跡~」, 新潟, 2015. 9. 11.

⑫東雅啓, 湊田慎也, 槻木恵一: 大規模災害発生時の歯科保健医療に対する歯学部学生の意識調査. 第 34 回 日本歯科医学教育学会総会・学術大会, 鹿児島, 2015. 7. 10-11.

⑬Yamamoto Y, To M, Hayashi T, Nakagawa Y, Shimizu T, Saruta J, Takahashi T, Tsukinoki K: Intake of indigestible carbohydrates influences IgA response and polymeric Ig receptor expression in the rat submandibular gland. 12th Asian Congress of Nutrition, Yokohama, Japan,

2015. 5. 14-18.

他 28 件

〔図書〕(計 2 件)

①東雅啓, 槻木恵一 他, 永末書店、病理学総論にもとづく口腔病理学第 2 版 第 8 章 遺伝子異常・先天異常・発育異常、2017、172-177

②東雅啓, 槻木恵一 他, 永末書店、病理学総論にもとづく口腔病理学 第 8 章 遺伝子異常・先天異常・発育異常、2016、159-164

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東 雅啓 (TO, Masahiro)

神奈川歯科大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号: 70707348