

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17035

研究課題名(和文)唾液腺BDNFの中性脂肪低下作用についての研究

研究課題名(英文)Research on triglyceride decrease effects of salivary glands BDNF

研究代表者

清水 智子(Shimizu, Tomoko)

神奈川県立大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：80782854

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究では、唾液腺に脳由来神経栄養因子(BDNF)を強発現させたTgマウス下垂体においてGABAを産生するグルタミン酸脱炭酸酵素GAD1の産生増加を確認し、Tgマウス血中でGABAにより産生される成長ホルモン(GH)の発現増加を確認した。また、高脂肪食を摂取させた高トリグリセリド血症ラットモデルにおいて、顎下腺組織のBDNF mRNAおよびタンパク質レベルの増加と唾液中BDNFタンパクの増加を誘発することが確認できた。以上の結果から、唾液腺BDNFは、脂質代謝に関与する可能性が示唆された。今後は、人での解析を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Tgマウス下垂体に注目し、唾液腺BDNFが、GABAの産生を増加し、中性脂肪の低下作用があるかどうか検討した。脂質代謝異常は、メタボリックシンドロームの重要な所見であり、この対策は社会的課題であるが、唾液腺BDNFが貢献できることを明らかにする本研究は、内臓脂肪の蓄積予防という社会的課題に歯科医学が貢献することを示せる極めて重要な学際的な意義がある。また、唾液腺の機能を生活習慣病対策に盛り込めるだけの研究の進展を図ることを最終目的としており、唾液腺が口腔の健康に役立つだけではないという新しい概念を提供し、唾液腺の健康科学的意義を飛躍的に進展させたい。

研究成果の概要(英文): In this study, we confirmed an increase in the production of GABA-producing glutamate decarboxylase GAD1 in the pituitary gland of Tg mice in which brain-derived neurotrophic factor (BDNF) was strongly expressed in salivary glands, and it was produced by GABA in the blood of Tg mice. Increased expression of growth hormone (GH) was confirmed. In addition, it was confirmed that in a hypertriglyceridemia rat model fed with a high-fat diet, it induces an increase in BDNF mRNA and protein levels in submandibular gland tissue and an increase in salivary BDNF protein. Salivary gland BDNF may be involved in lipid metabolism. In the future, we will plan to perform human analysis.

研究分野：歯周病

キーワード：唾液腺BDNF 下垂体 GAD1 GABA 成長ホルモン 高トリグリセリド血症 IGF-1

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

これまで申請者らの研究グループは、唾液腺産生脳由来神経栄養因子(唾液腺 BDNF)が海馬や副腎皮質に影響を与えることを明らかにし、唾液腺の新たな機能について報告してきた。

さらに、唾液腺に BDNF が高発現するトランスジェニックマウス(Tg マウス)を開発した。この Tg マウスは網羅的メタボローム解析で下垂体に  $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)産生亢進が認められた。この反応はグルタミン酸から GABA を産生するグルタミン酸脱炭酸酵素(以下、GAD1)が媒介した現象と考えられる。この酵素反応は、BDNF の刺激で促進されることが既に報告されている。従って、Tg マウスの産生した唾液腺 BDNF は、下垂体における BDNF 量増加に伴い GAD の酵素反応を促進し GABA の産生を増加している可能性が高い。さらに、下垂体における GABA の役割として成長ホルモン(以下、GH)の産生促進が示されてきた。GH は、脂質代謝に重要で中性脂肪を遊離脂肪酸へ分解することが明らかとなっており、中性脂肪(特に内臓脂肪)を下げる役割を示すことが古くから知られている。

### 2. 研究の目的

本研究では、Tg マウス下垂体に注目し、唾液腺 BDNF が、GABA の産生を増加し、中性脂肪の低下作用があるかについて検討することを目的とする。さらに、唾液腺の効能を生活習慣病対策に盛り込めるだけの研究の進展を図ることを目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1) GAD1 の下垂体における遺伝子発現の解明

7-9 週オスの Tg マウス下垂体を摘出し、グルタミン酸から GABA を産生するグルタミン酸脱炭酸酵素のアイソフォームである GAD1 の下垂体における遺伝子発現を RT-PCR で確認する。

#### (2) GABA 産生増加と GH 発現増加の連関および血中濃度を解明

Tg マウス下垂体における組織内の GABA は、メタボローム解析でコントロールより高い値が確認されているが血中濃度にも影響しているか確認する。GABA が GH の産生を増加することは多数報告されているが、Tg マウスにおいて GH の産生量が増加しているか組織内濃度および血中濃度を ELISA で測定する。また、GH の作用により IGF-1 の増加が認められることも知られている。そこで、IGF-1 の組織内濃度および血中濃度も ELISA で測定する。

#### (3) ラットに高脂肪食を摂取させて高トリグリセリド血症モデルを用いた測定

高トリグリセリド血症は、離乳直後のラットに高脂肪食を 10 週間摂取させた後、血液生化学試験および組織検査の検討を行ったうえで高脂血症モデルラットとした。唾液および顎下腺の BDNF タンパク質レベルは ELISA を使用して測定した。顎下腺の BDNF mRNA レベルは RT-PCR を用いて検討を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) GAD1 の下垂体における遺伝子発現の解明

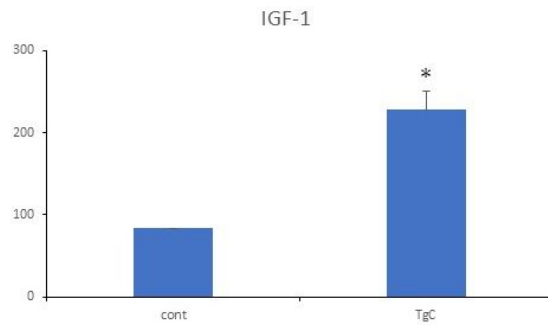
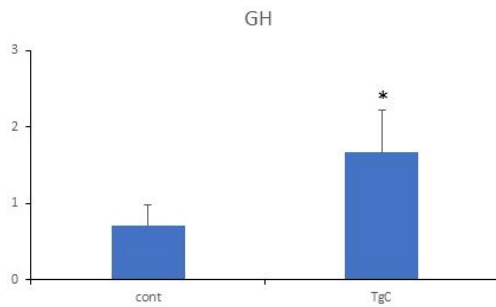
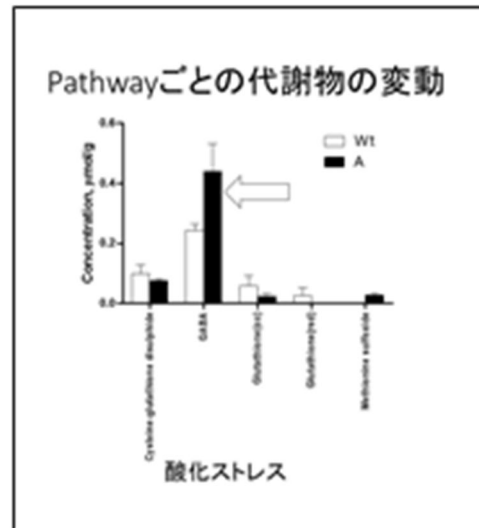
グルタミン酸から GABA を産生するグルタミン酸脱炭酸酵素のアイソフォームである GAD1 の下垂体における遺伝子発現を RT-PCR で確認したところ、明らかな遺伝子発現が観察された。

## (2) GABA 産生増加と GH 発現増加の連関および血中濃度を解明

唾液腺に BDNF を強発現させた Tg マウスは、血中 BDNF を増加する。この血中 BDNF の増加に伴い海馬で総 BDNF 量の増加が生じる。

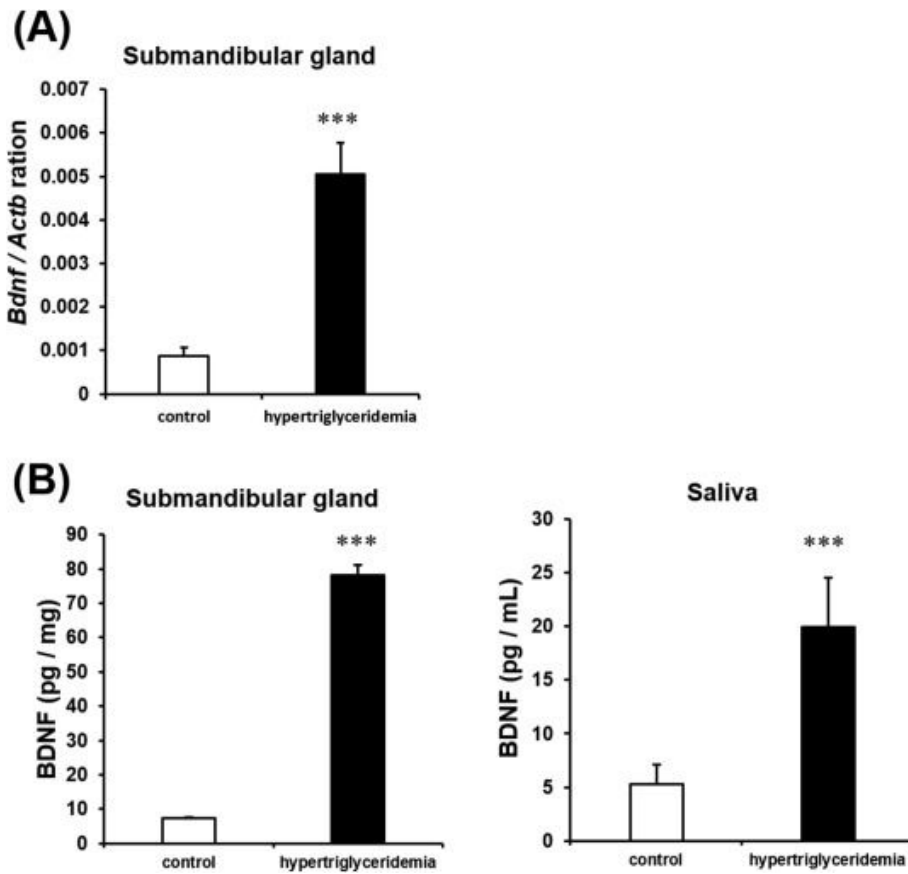
下垂体においてメタボローム解析で Tg マウスはコントロールより GABA の量が多かった。しかし、血中濃度では明らかではなかった。

GH の血中での発現はコントロール群より Tg マウス群が有意に高かった。IGF-1 の発現もコントロール群より Tg マウス群が有意に高かった



(3) ラットに高脂肪食を摂取させて高トリグリセリド血症モデルを用いた測定

顎下腺組織での BDNF mRNA 発現はコントロール群より高トリグリセリド血症群が有意に高かった (A)。顎下腺組織および唾液の BDNF タンパク質濃度はコントロール群より高トリグリセリド血症群が有意に高かった (A,B)。



以上の結果から、唾液腺 BDNF は、脂質代謝に関与する可能性が示唆された。今後は、人での解析を行う予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nakagawa Y, To M, Saruta J, Yamamoto Y, Yamamoto T, Shimizu T, Kamata Y, Matsuo M, Tsukinoki K.	4. 巻 61
2. 論文標題 Effect of Social Isolation Stress on Saliva BDNF in Rat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Oral Sci	6. 最初と最後の頁 516-520
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2334/josnusd.18-0409.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamamoto Y, Saruta J, Takahashi T, To M, Shimizu T, Hayashi T, Morozumi T, Kubota N, Kamata Y, Makino S, Kano H, Hemmi J, Asami Y, Nagai T, Misawa K, Kato S, Tsukinoki K.	4. 巻 77
2. 論文標題 Effect of Ingesting Yogurt Fermented With Lactobacillus Delbrueckii Ssp. bulgaricus OLL1073R-1 on Influenza Virus-Bound Salivary IgA in Elderly Residents of Nursing Homes: A Randomized Controlled Trial	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Odontol Scand	6. 最初と最後の頁 517-524
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00016357.2019.1609697.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kamata Y, Kessoku T, Shimizu T, Kobayashi T, Kurihashi T, Sato S, Kuraji S, Aoyama N, Iwasaki T, Takashiba S, Hamada N, Kodama T, Tamura T, Ino S, Higurashi S, Taguri M, Yamanaka T, Yoneda M, Usuda H, Wada K, Nakajima A, Minabe M	4. 巻 21
2. 論文標題 Efficacy and safety of PERIODontal treatment versus usual care for Nonalcoholic liver disease: protocol of the PERION multicenter, two-arm, open-label, randomized trial	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trials	6. 最初と最後の頁 291
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13063-020-4201-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 東雅啓, 長澤孝浩, 窪田展久, 猿田樹理, 淵田慎也, 坂口和歌子, 清水智子, 鎌田要平, 栗本勇輝, 駒津栄雄, 槻木恵一	4. 巻 54
2. 論文標題 口腔原発線維増殖性病変の鑑別に関する免疫組織化学的研究	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 神奈川歯学	6. 最初と最後の頁 10-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂口和歌子, 山本裕子, 清水智子, 浜田信城, 槻木恵一
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis 感染DBAマウスにおける唾液中ACPA検出の検討
3. 学会等名 第62回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎌田要平, 結束貴臣, 清水智子, 佐藤五月, 青山典生, 小林貴, 米田正人, 畑中加珠, 高柴正悟, 岩崎知之, 栗橋健夫, 児玉利朗, 田村利之, 井野智, 中島淳, 三辺正人
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis感染合併非アルコール性脂肪肝疾患に対する病態把握と治療の目安となる歯周組織検査所見の探索 多施設共同前向き 観察研究.
3. 学会等名 第61回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 槻木恵一, 清水智子	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 161
3. 書名 歯科国試パーフェクトマスター 病理・口腔病理学.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------