研 究 者：入江浩一郎（所属：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科予防歯科学分野）

研究題目：ラット咬合異常モデルによる顎下腺 BDNF 発現への影響

目　的：

脳由来神経栄養因子（Brain-derived neurotrophic factor；BDNF）は，神経細胞の分化と生存維持に働く神経栄養因子ファミリーに属している。BDNF は，神経細胞の発生や成長，維持，修復に働き，さらに学習や記憶，情動，糖代謝などにおいても重要な働きをする分泌タンパクである。また中枢神経系に多く存在しているが，大動脈，心臓，肺，末梢組織の細胞でも合成されている。BDNF は，感染やアレルギーなどの様々な状況や過程において産生される。さらに精神的ストレスが発症した際，生体のホメオスタシスを維持するために BDNF が産生されることが知られている。不正咬合は慢性的な精神的ストレスを誘発する。咬合挙上や咬頭削合によるラット咬合異常モデルでは血漿 corticosterone 値が上昇する。一方，拘束ストレスによって，ラット顎下腺において BDNF が産生されることがわかっている。しかし，咬合異常による精神的ストレスが，顎下腺の BDNF の産生を促すかどうかは不明である。本研究では，咬合異常による精神的ストレスがラット顎下腺 BDNF の産生に影響を与えるかどうかを検討した。

対象および方法：

8 週齢 Wistar 系雄性ラット（21 匹）を対照群，咬合異常群，咬合回復群の 3 群（各群 7 匹）に分けた。対照群は 8 週間通常飼育した。咬合異常群は，ベースライン時にデンタルタービンで両側上顎臼歯部咬頭を削合し 8 週間通常飼育した。咬合回復群は，咬合異常群と同じ方法で咬頭を削合し 4 週間飼育した後に咬合を回復させ，さらに 4 週間飼育した。咬合の回復方法は，まずベースライン時にラットの印象用トレーを作製して，咬頭削合前の形態を印象採得した。その後，咬合回復時（4 週間後）に，採得していた印象用トレーにレジン修復材を添加し，トレーを口腔内に挿入して咬頭を復元させた。

実験期間終了後，顎下腺を摘出し，BDNF の mRNA の発現を Real-time PCR 法にて確認し，BDNF/GAPDH 比を群間で比較した。BDNF のタンパク発現を，免疫染色法（1 標本あたりランダムに 3ヵ所の評価部位 1.0 mm^2 を選択し，BDNF 抗体に対して positive に反応している導管を計測），ELISA 法を用いて分析した。また，ヘマトキシリン・エオジン染色の標本を作製し，腺房細胞の空砲変性や炎症性細胞浸潤等の病理学的組織変化の有無を調べた。さらに，ベースライン時，4 週後に尾静脈から，8 週間後は心臓から 7.00 am-9.00 am の間で採血した。遠心機で血漿を分離し咬頭削合による精神的ストレスの評価として血漿 adrenocorticotropic hormone（ACTH）および corticosterone 値を ELISA 法で，また血漿 BDNF 値を ELISA 法で定量分析した。3 群間の比較には，Mann-Whitney U 検定，Bonferroni の補正を用い，$P<0.016$ を有意差ありとした。

結果および考察：

各群において体重の差は認められなかった。血漿 ACTH および corticosteron 値は，4 週後では群間で有意な差は認められなかったが，8 週間後では咬合異常群において他の群に比べ有意に増加していた（$p < 0.0016$）。顎下腺 BDNF の mRNA 発現は咬合異常群では，対照群・咬合回復群に比べ約 3 倍高い値を示した（$p < 0.0016$）。顎下腺組織の BDNF タンパク発現は，導管のみに認められた。BDNF 免疫染色においても，咬合異常群は，他の 2 群に比べ有意に高い発現数を示した（$p < 0.0016$）。対照群・咬合回復群との間では有意な差は認められなかった。一方，ELISA 法による顎下腺および血漿 BDNF の発現では，咬合異常群が高い傾向は示したものの，各群において統計学的には有意差は認められなかった。病理学的組織変化は，すべての群の顎下腺において差は認められなかった。咬合異常によって，顎下腺 BDNF の発現が有意に増加した。また咬合を回復することで，顎下腺 BDNF の発現が，咬合異常群に比べ有意に減少したことから，咬合異常には顎下腺における BDNF の発現を高める作用があることが示された。また，咬合異常に伴い，血漿中の ACTH および corticosteron の濃度は有意に上昇し，咬合を回復することで ACTH および corticosteron の濃度は有意に低下した。よって咬合異常は精神的ストレスの原因になることが示唆された。海馬においては，corticosterone の投与によって BDNF 発現が増加することが報告されている。顎下腺においても同様に咬合異常による corticosteron 濃度の増加が BDNF 発現の変化の要因の一つかもしれない。また BDNF は，中枢神経系に対する侵襲に保護的な役割を果たすといわれている。つまり，咬合異常による精神的ストレスを原因とする中枢神経系の損傷を修復させるために，顎下腺において BDNF の発現が高まったのかもしれない。

成果発表：

- Occlusal disharmony induces BDNF level in rat submandibular gland. Irie K, Ekuni D, Tomofuji T, Azuma T, Endo Y, Kasuyama K, Morita M. Arch Oral Biol. 2011 Jan；56（1）：35-40.

- 88th International Association for Dental Research
  Occlusal Disharmony Affects BDNF Levels in Rat Submandibular Glands
  K. IRIE, D. EKUNI, T. TOMOFUJI, Y. ENDO, T. AZUMA, K. KASUYAMA, and M. MORITA.