

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔科学講座 菊池 赳夫 に

対する最終試験は、主査 岩淵 博史 准教授、副査 青木 一孝 教授、
副査 美島 健二 教授により、論文内容ならびに関連事項につき口頭試問を
もって行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 岩淵 博史 准教授

副 査 青木 一孝 教授

副 査 美島 健二 教授

論 文 審 査 要 旨

Hypertriglyceridemia-induced brain-derived
neurotrophic factor in rat submandibular glands

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学講座 菊池 赳夫

(指 導： 槻木 恵一 教授)

主 査 岩淵 博史 准教授

副 査 青木 一孝 教授

副 査 美島 健二 教授

論文審査要旨

学位申請論文である「Hypertriglyceridemia-induced brain-derived neurotrophic factor in rat submandibular glands」は、脳由来神経栄養因子（Brain-Derived Neurotrophic Factor（以下 BDNF））の顎下腺での発現に脂質異常症による環境変化が影響を与えるかどうかを調査した論文である。

本研究の背景と目的は以下のようである。

過去の研究から急性または慢性の固定化ストレス負荷が唾液腺および血液中の BDNF を増加させることが判っている。唾液腺での BDNF の増加は、海馬での BDNF のわずかな増加と相関があり、高ストレス下では、海馬の BDNF は減少するが、唾液腺で産生された BDNF により減少を補っている可能性がある。BDNF の作用は、中枢神経系の神経細胞で広く調べられており、特に脂質代謝との関係が注目されている。そこで本研究では、脂質異常症による環境変化が唾液腺の BDNF 発現にどのような影響を与えるかを調査したものである。唾液腺における脂質異常症と BDNF の関係はこれまで明らかにされておらず、本論文において実証しようとする研究目的は高く評価できる。

用いた方法は、ラットをランダムに通常食群（n = 12）と高脂肪食群（n = 12）に分け、10 週間自由に摂食させ、高トリグリセリド血症を誘発させた。各グループからの 6 匹のラットを組織学的分析（HE 染色、オイルレッド O、および免疫組織染色）に使用し、残りの 6 匹のラットの組織は、ELISA とリアルタイム PCR による解析に使用した。ピロカルピン刺激による唾液の採取と血漿サンプルの取得を行った。血漿からはトリグリセリド (TG)、HDL コレステロール (HDL-C)、LDL コレステロール (LDL-C)、総コレステロール (TC) および血糖値を測定した。肝臓と顎下腺の切片に HE 染色、オイルレッド O 染色を行い細胞内脂質の有無、免疫組織染色にて BDNF 発現の有無を確認した。また、顎下腺、肝臓、副腎、膵臓、腎臓、鼠径部脂肪および唾液サンプル中の BDNF の濃度を ELISA により測定した。さらに、顎下腺の BDNF mRNA をリアルタイム PCR にて測定した。以上、研究テーマに対する研究方法の組み立ては妥当であり、適切な解析手法により実験が行なわれている。また、統計解析は Welch's-t test を用いて行われており適切である。

なお、本研究は神奈川歯科大学の動物実験倫理委員会（承認番号 2019-006）によって承認され、神奈川歯科大学の動物実験ガイドラインおよび動物研究を報告するための ARRIVE ガイドラインに従って実行されており、倫理的にも問題ないと判断される。

結果は、高 TG 血症は、対照群と比較して、血漿中の TG、HDL-C、LDL-C、および TC 濃度が有意に高く（ $P < 0.01$ ）、組織学的に脂肪肝が誘導されていた。しかし、顎下腺の組織には特徴的な変化はみられなかった。顎下腺における BDNF mRNA 発現は、高 TG 血症群の方が対照群よりも有意に高かった（ $P < 0.0001$ ）。顎下腺の BDNF 濃度は、高 TG 血症群で、対照群と比較して有意に増加した（ $P < 0.0001$ ）。唾液 BDNF は、高 TG 血症群で、

対照群と比較して有意に上昇していた($P < 0.001$)。顎下腺における BDNF 免疫染色では、高 TG 血症群のさまざまな管状細胞で強い BDNF 発現が観察されたが、腺房細胞や筋上皮細胞では観察されなかった。以上の結果は、適切な方法により導き出された明快な結果である。

本論文は高 TG 血症がラット顎下腺で BDNF を誘発することを示す最初の研究であり、唾液 BDNF が脂質代謝と関連しているということを新しく見出した点は高く評価できる。

本審査委員会では、論文内容および関連事項に関して、口頭試問を行った。1.血中の BDNF を測定しなかった理由、2.肝臓組織と顎下腺組織のみについて組織学的な検索が行われ、副腎、膵臓、腎臓、鼠径部脂肪では行わなかった理由、3.高 TG 血症ラットの体重が減少している理由、4.顎下腺組織に脂肪組織の沈着がみられなかった理由、5.研究の限界と今後の展望、研究結果をどのように歯科臨床に還元できると考えているかなどについて質問された。何れについても適切な回答が得られた。さらに唾液 BDNF と脂質代謝との関連における新しい知見は、今後の歯科医療拡大への貢献が期待でき、唾液検査医学の発展につながるとの結論に至った。そこで、本審査委員会は申請者の博士論文が博士（歯学）の学位に十分に値するものと認めた。そこで、本審査委員会は申請者が博士（歯学）の学位に十分値するものと認めた。