



咀嚼による求心性刺激が海馬領域の神経細胞の動態ならびに
記憶・学習機能に及ぼす影響

(13470451)

平成13年度～平成14年度科学研究費補助金 基盤研究(B)(2)

平成15年5月

研究代表者 *丹根一夫*
丹根一夫

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

広島大学図書

0130484506



[13470451] (広島大学大学院医歯薬学総合研究科教授・丹根一夫)
基盤研究(B)(2) 咀嚼による求心性刺激が海馬領域の神経細胞の動態ならびに記憶・学習機能に及ぼす影響
平成15年5月

中央図書館

研究組織

研究代表者：丹根一夫（広島大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

研究分担者：河田俊嗣（広島大学歯学部附属病院・講師）

研究分担者：加来真人（広島大学歯学部附属病院・助手）

広島大学図書

0130484506



交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	6,300	0	6,300
平成14年度	4,600	0	4,600
総計	10,900	0	10,900

研究発表（口頭発表）

Tsutsui, K., Kaku, M., Kawata, T., Fujita, T., Tokimasa, C., Kohno, S. and Tanne, K. Effects of food consistency of neurofibrillar change in the mouse brain. : 第60回日本矯正歯科学会, 2001.10.8

Kaku, M., Tsutsui, K., Kawata, T., Fujita, T., Tokimasa, C., Kohno, S., Motokawa, M., Ohtani, J., Tenjoh, K. and Tanne, K. Neurofibrillar changes in the brain tissue of osteopetrotic (*op/op*) mice.: 80th International Association for Dental Research, 2002.3.6

Tsutsui, K., Kaku, M., Kawata, T., Uchida, T., Tanne, K. Effects of food consistency on neurofibrillar change in the mouse brain.: The 102nd Annual Session of American Association of Orthodontists, 2002.5.5

(緒言)

神経細胞の変性とアミロイドβ蛋白 (Aβ) の沈着による老人斑の形成は、アルツハイマー病の指標としてよく知られている。脳の老化に伴い、Aβは正常の老人の脳にも蓄積する。アルツハイマー病と老年痴呆は類似した所見を呈する。一方、動物実験により歯牙の欠損が学習能力を欠落させることが明らかとなっている。以上のことから、高齢はアルツハイマー型痴呆の危険因子であると考えられる。また、歯の喪失とそれに伴う咬合機能の低下は、学習能力との間にある種の関係があると推察される。本研究の目的は、咀嚼時における機械的刺激の程度の違いによって学習記憶能力にどのような差が認められるかを行動実験により確かめ、さらに大脳における神経病理学的変化について組織学的に検討することである。

(材料と方法)

実験1 食物性状の違いによるアミロイドβ蛋白蓄積頻度の検討

1. マウス： C57BL/6J マウス (オス)

離乳後2群に分け、それぞれ固形飼料または粉末飼料で180日、および360日間飼育を行った。

(飼料： 日本クレア製 CE-2)

2. ジエチルエーテルによる深麻酔下にてマウスを屠殺し、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定

3. 摘出した脳をアルコール脱水し、パラフィン包埋

4. 組織を前頭断で10 μm厚に薄切

5. 免疫組織化学染色

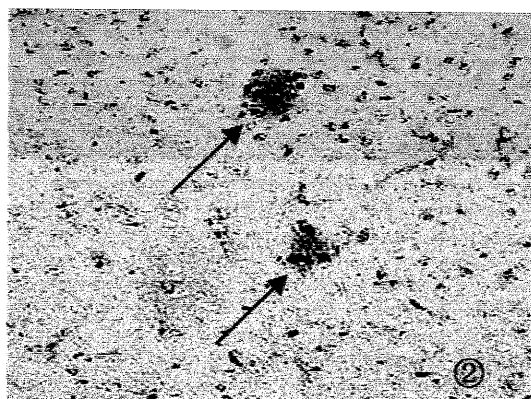
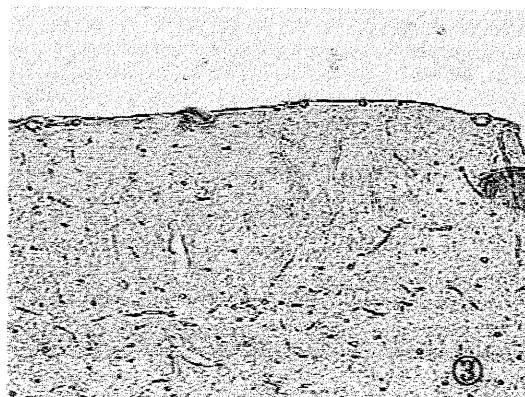
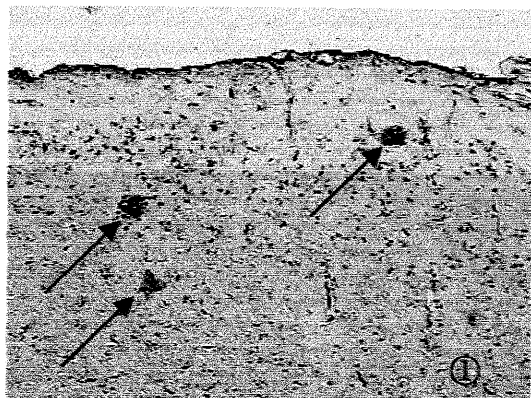
(抗体：ウサギ抗βアミロイド1-40 および1-42;CHEMICON International, Inc.)

(染色キット：HistoMouse – SP Plus kit; ZYMED LABORATORIES INC.)

↓

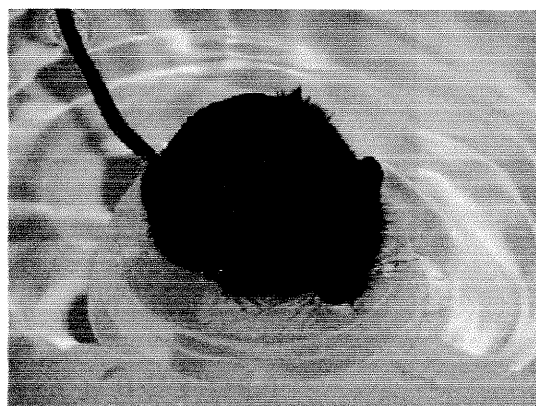
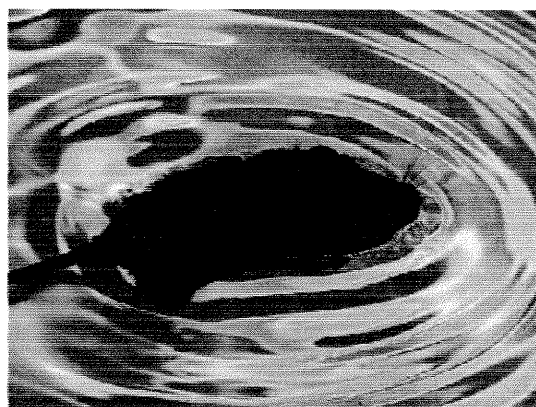
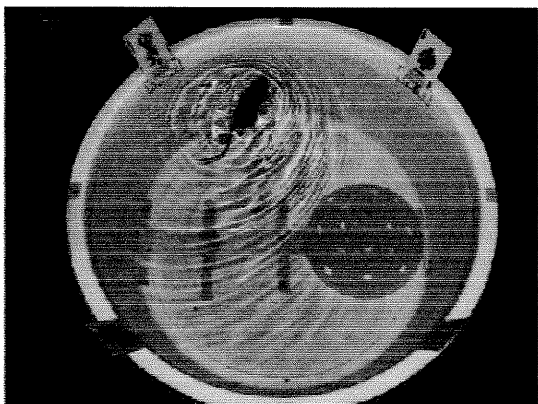
老人斑の有無を粉末・固形両飼育群で比較検討

(結果：実験1)



- ① 粉餌飼育群 (360日)・・・ β アミロイドの蓄積が認められる。
- ② 拡大像
- ③ 固形餌飼育群 (360日)・・・ β アミロイドの蓄積は全く認められない。
- ④ 拡大像

実験2 食物性状の違いによる空間学習能力の比較検討



(方法)

実験1と同様に固形餌と粉餌でそれぞれ180日、および360日間飼育を行った群について、上図に示すモリス水迷路を用いて空間学習能力の検討を行った。

(結果：実験2)

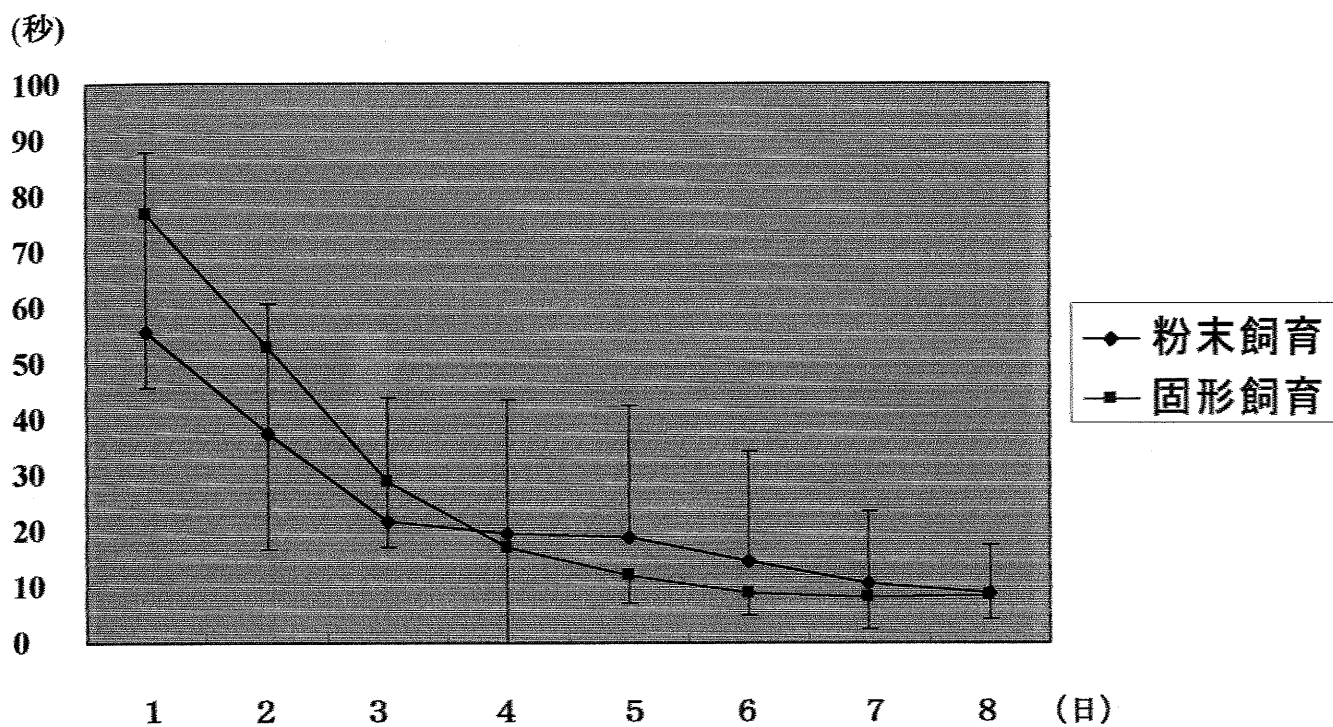


図1：水迷路での空間学習能力（180日飼育群）

180日飼育群においては、固形、粉餌それぞれで飼育したマウスの空間学習能力に差は認められなかった（図1）。

(秒)

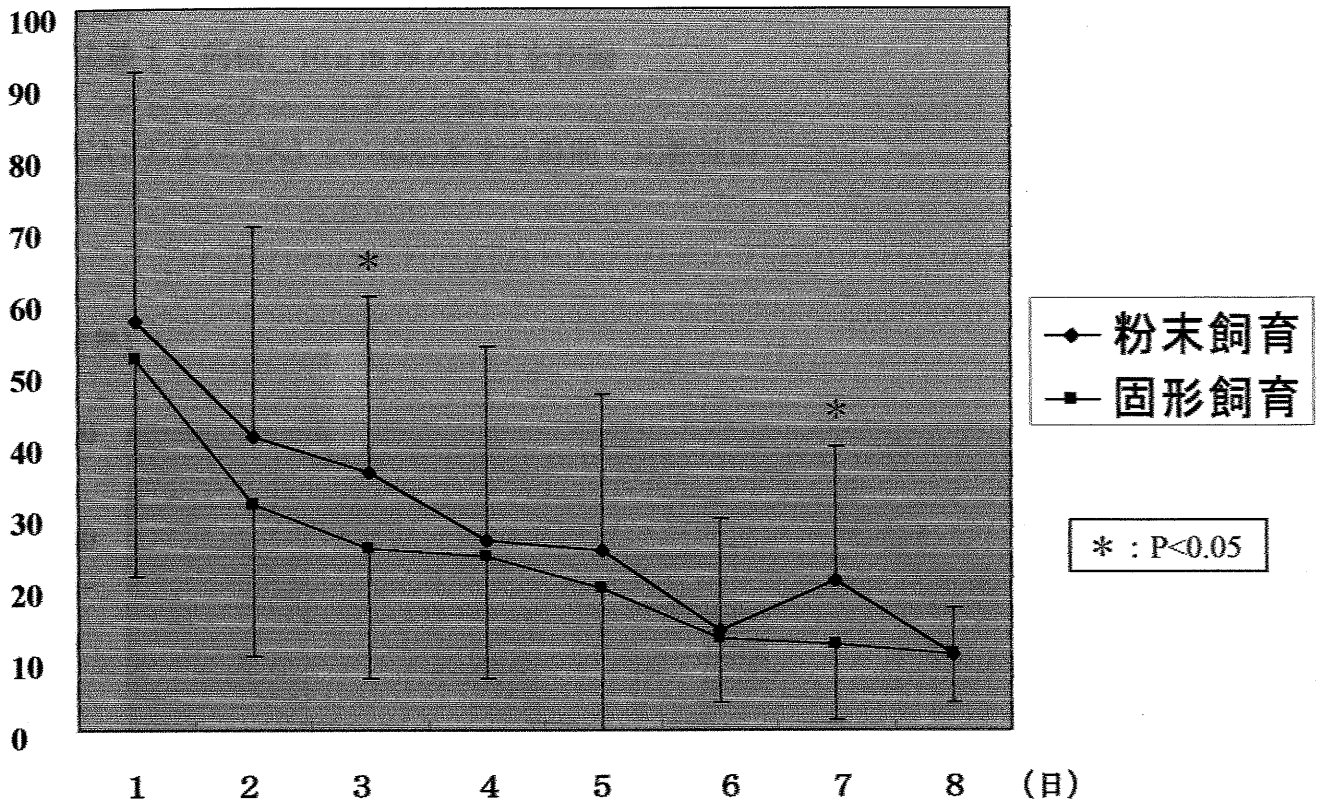


図2：水迷路での空間学習能力（360日飼育群）

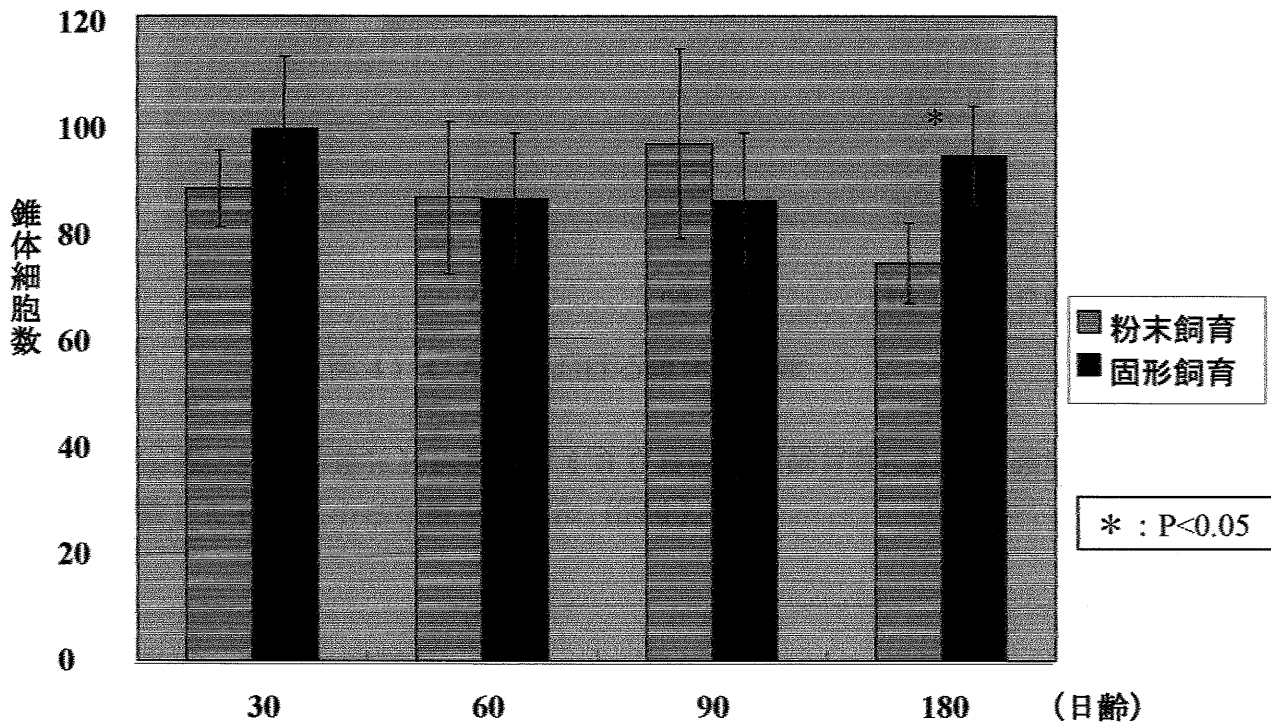
360日飼育群においては、水迷路実験期間中ほぼすべて粉末餌飼育群が固形餌飼育群と比較して学習能力が低い値を示し、開始3日目と7日目において有意差を認めた（図2）。

実験3 食物性状の違いによる海馬領域錐体細胞への影響

(方法)

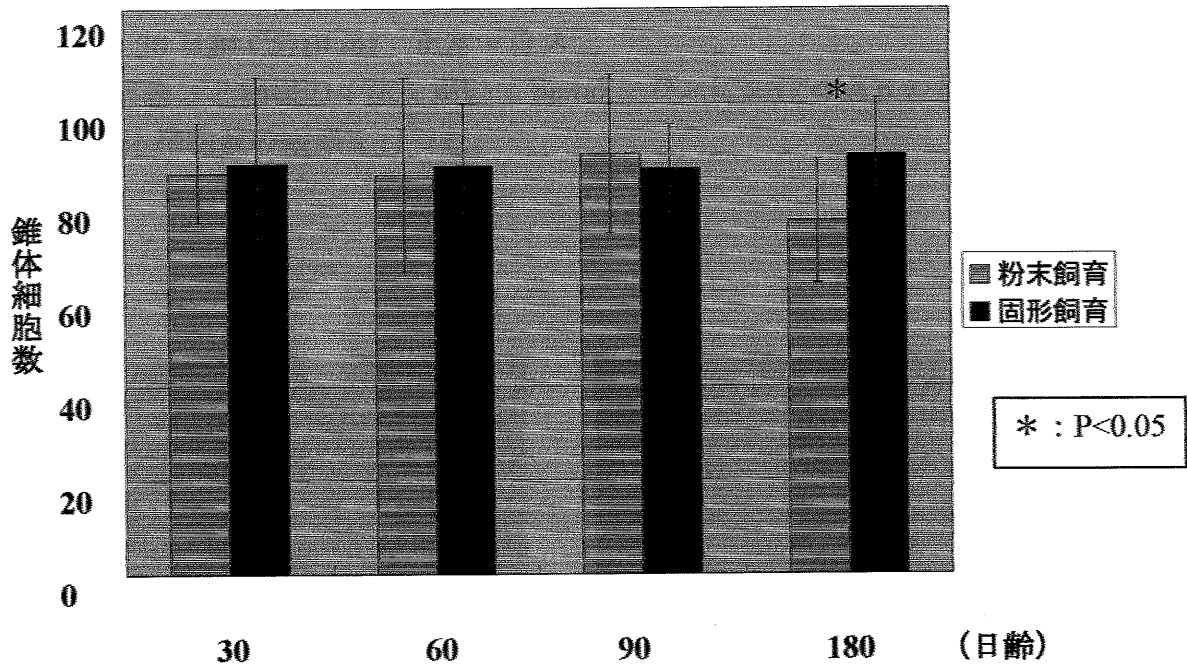
1. 実験1と同様、 $10\mu\text{m}$ 厚の切片を作製
2. ヘマトキシリン-エオジン染色
3. CA1およびCA3での細胞数を2群間で比較検討

(結果)



(図3) CA1における錐体細胞数

CA1領域における錐体細胞数は、180日粉末餌飼育群において固形餌飼育群と比較して有意に小さな値を示した(図3)。



(図4) CA3における錐体細胞数

CA3領域における錐体細胞数は、180日粉末餌飼育群において固形餌飼育群と比較して有意に小さな値を示した(図4)。

実験4 *op/op* マウスにおける A β の蓄積および海馬領域錐体細胞の検討

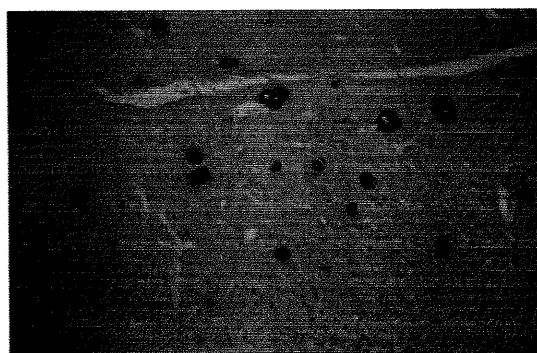
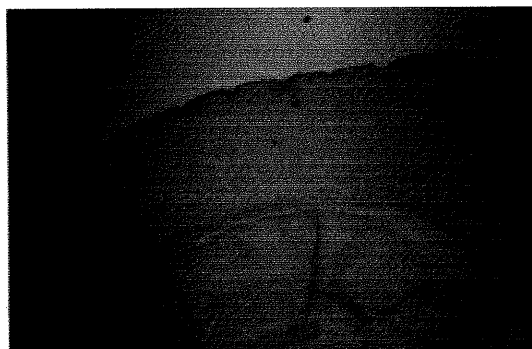
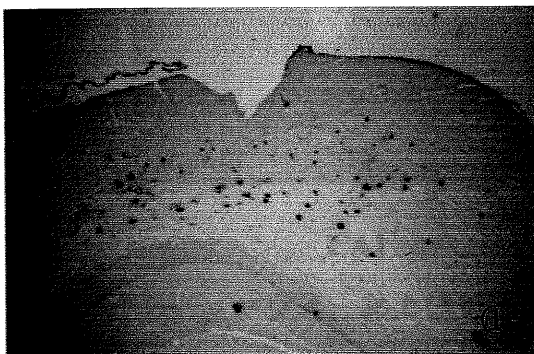
(方法)

マウス： 30 日齢 C57BL/6J *op/op* マウス

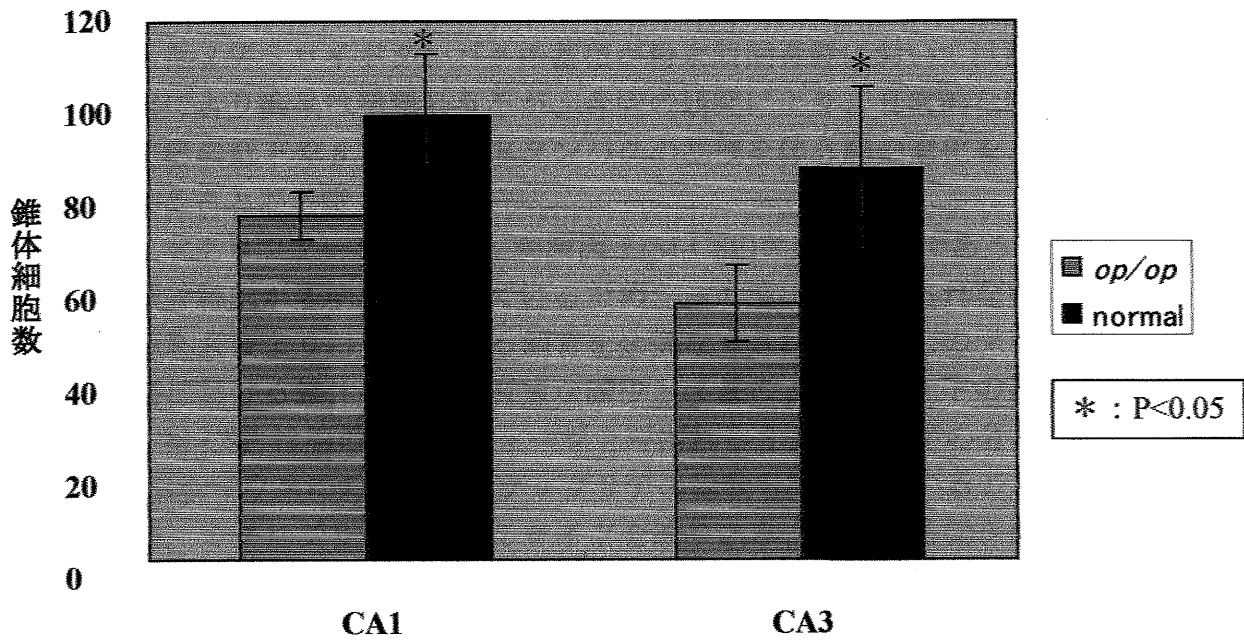
対照群： 30 日齢 C57BL/6J 正常マウス

実験 1, 実験 3 と同様の手法を用いて *op/op* マウスにおける A β の蓄積および海馬領域錐体細胞数の観察を行った。

(結果)



- ① *op/op* マウス海馬周辺像・・・ β アミロイドの蓄積が認められる。
- ② 拡大像
- ③ 対照群・・・ β アミロイドの蓄積は全く認められない。



(図5) *op/op* マウス、および対照群におけるCA1, CA3領域の錐体細胞数の比較

CA1, およびCA3両領域において、*op/op* マウスの錐体細胞数は正常群と比較して有意に小さな値を示した(図5)。

(考察)

固形餌飼育群と比較して、粉末餌飼育によるマウスには学習記憶の低下を認め、海馬における錐体細胞数が減少していた。また、固形餌飼育群では観察されなかったβアミロイドタンパクの蓄積が粉末餌飼育群においては認められた。脳の老化により痴呆は発現しうるが、今回の研究により、日常的な咀嚼刺激の減少が記憶の低下やβアミロイドタンパクの蓄積を伴う脳の老化をより早期に惹起させることが示唆された。

一方、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)欠損マウスである *op/op* マウスでは破骨細胞が著明に減少しているため、歯の萌出が認められない。したがって、離乳直後より粉末餌による飼育を余儀なくされるが、このマウスにおいても海馬における錐体細胞数の有意な減少と多量のβアミロイドの蓄積が認められた。M-CSF は脳のマクロファージと呼ばれるミクログリアの分化因子でもあり、*op/op* マウスにおいてはミクログリアの総数も減少していることが報告されている。ミクログリアはβアミロイドを取り込み、分解する働きがあることが確認されており、*op/op* マウスにおけるβアミロイドの蓄積は、ミクログリアの減少と咀嚼刺激の低下の両因子が原因であることが示唆された。