

論文内容要旨

歯の喪失および食形態の違いが
マウスの学習・記憶能に及ぼす影響

主指導教員：津賀 一弘教授

(応用生命科学部門 先端歯科補綴学)

副指導教員：高田 隆教授

(基礎生命科学部門 口腔顎顔面病理病態学)

副指導教員：吉川 峰加准教授

(応用生命科学部門 先端歯科補綴学)

竹田 洋輔

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

近年、咀嚼機能の低下が認知機能に及ぼす影響について注目が集まっている。疫学研究では、残存歯数の減少に伴い認知機能検査の点数が低下することが報告されており、歯の喪失が認知症のリスク因子として挙げられている。動物研究においても、実験的に歯を喪失させたマウスの海馬錐体細胞は減少することが示唆されている。一方で、噛めないと実感している人は軟性食品を摂取する傾向があるものの、食形態を加味して認知機能の変化を検討した研究はみられない。本研究では咀嚼機能と認知機能との関連をより詳細に明らかにするため、脳に広く分布し記憶や精神神経疾患に関与するとされる **Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)** と、BDNF の高親和性受容体である **Tropomyosin receptor kinase B (TrkB)** に着目し、咀嚼機能に深く関わる歯の喪失と食形態の変化がマウスの学習・記憶能に及ぼす影響を解明することを目的とした。

実験 1 では歯の喪失および食形態の違いが学習・記憶能に短期的に及ぼす影響を検討した。C57 BL/6J マウス(28 週齢 雄性)を用い、全身麻酔薬投与のみ行った維持群と全身麻酔下で上顎両側臼歯を抜歯した喪失群を設定した。さらに各群に固形飼料を与えた固形群と、固形飼料と同様の栄養を含む粉末飼料を与えた粉末群に振り分けた。すなわち、維持/固形群、維持/粉末群、喪失/固形群、喪失/粉末群の 4 群のマウスを用意した。実験期間は 28 週齢から 4 週間と設定した。歯の喪失による全身状態への影響を評価するため、継時的に体重、飼料摂取量を測定した。実験期間終了時にステップスルー型受動的回避試験装置を用いて学習・記憶能を評価した。先の評価が終了した後に、脳を採取し、組織標本を作製、ニッスル染色による海馬 CA1 および CA3 領域の錐体細胞数を評価するとともに、免疫組織化学染色(BDNF 染色, TrkB 染色)を行い、光顕的に観察した。さらに、視床下部および海馬組織を採取し、BDNF, TrkB の遺伝子発現量を **Real-time PCR** 法にて測定した。学習・記憶能の変化は **Mann-Whitney U** 検定、群間比較は二元配置分散分析および **Tukey** 検定を用いて、統計学的に分析した。その結果、体重および飼料摂取量はすべての群間に有意な差を認めなかった。学習・記憶能評価もすべての群間に学習・記憶能の低下を認めなかった。錐体細胞数については喪失群で有意に減少した。BDNF 染色像の観察では、喪失/固形群、喪失/粉末群で CA3 領域の BDNF 発現の低下が見られた。TrkB 染色像の観察では喪失/粉末群で CA3 領域の濃染細胞の減少が見られた。遺伝子発現量については、視床下部で歯の喪失および食形態の変更による有意な影響は認めなかったが海馬の BDNF 遺伝子発現量は同じ食形態内で歯の喪失によって有意に減少し、喪失群同士では粉末群で有意な減少を認めた。この結果から短期間では歯の喪失および食形態の変更により学習・記憶能の低下は生じないものの、BDNF ならびに TrkB の発現および神経細胞数に影響を及ぼすことが明らかとなった。

実験 2 では歯の喪失および食形態の違いが学習・記憶能に長期的に及ぼす影響を検討した。C57 BL/6J マウス(28 週齢 雄性)を用い、実験 1 と同様に維持/固形群、維持/粉末群、喪失/固形群、喪失/粉末群の 4 群を用意した。実験期間は 28 週齢から 16 週間と設定した。評価項目は実験 1 と同様に体重および飼料摂取量、学習・記憶能、錐体細胞数、BDNF, TrkB 染色像の光顕的観察、BDNF, TrkB の mRNA 発現量を評価した。その結果、体重および飼料摂取量はすべての群間に有意な差を認めなかった。学習・記憶能評価については喪失/固形群、喪失/粉末群は

学習・記憶能の低下を認めた。錐体細胞数については歯の喪失および食形態の影響によって有意に減少した。BDNF 染色像の観察では、喪失/固形群、喪失/粉末群で CA3 領域の BDNF 発現の増加が見られた。TrkB 染色像の観察では、CA1, CA3 領域ともに喪失/固形群、喪失/粉末群で濃染細胞の減少が見られた。BDNF 遺伝子発現量は海馬、視床下部ともに歯の喪失による有意な影響を認め、海馬の TrkB 遺伝子発現量は歯の喪失および食形態の変更によって有意に低下した。

以上より歯の喪失および食形態の変化は短期間では学習・記憶能に影響はみられないものの、組織学的、生化学的に BDNF, TrkB の発現に影響を与えること、さらに、長期間にわたる歯の喪失および粉末飼料の摂取は海馬の神経細胞に影響を与え、学習・記憶能低下を引き起こす可能性が明らかとなった。