

令和 2 年 9 月 10 日現在

機関番号：33703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11819

研究課題名(和文)母胎のストレス、咬合咀嚼刺激が仔の認知・情動障害とその改善に及ぼすメカニズム

研究課題名(英文) Cerebral dysfunction of offspring caused by stress during pregnancy can be improved by chewing

研究代表者

飯沼 光生 (IINUMA, MITSUO)

朝日大学・歯学部・教授

研究者番号：70184364

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠ストレスと妊娠ストレス中の母獣の咀嚼が新生仔に及ぼす影響を検討した。マウスはコントロール群、ストレス群、咀嚼群の3グループに分けた。妊娠ストレスは、母獣のコルチコステロンレベルを増加させ、仔獣の不安行動、学習能力の低下や脳機能障害、ストレス脆弱脳を引き起こした。一方、これらの障害は母獣の咀嚼により改善された。これらのことより妊娠ストレス中の咀嚼は、効果的なストレス対処法であることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠中は様々な面からストレスが加わるが多い。近年、妊娠中に強いストレス、或いは弱くても持続的なストレスに曝された母親から生まれた子供は、高次脳機能ネットワークの生後発達が遅延し、神経発達障害や精神疾患、情動障害のリスクが高まることが報告されている。そこで今回、妊娠中の咀嚼運動がストレス対処法として有効であることを動物実験で明らかにし、ヒトにおいても妊娠中によく咬むことが子供の神経発達障害や精神疾患、情動障害の抑制に有効であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined the effects of pregnancy stress and maternal chewing during pregnancy stress of offspring. Mice were divided into three groups: control group, stress group and chewing group. Pregnancy stress induces the deficits in anxiety-like behavior and learning ability and cerebral function of offspring by increasing corticosterone levels in the dam. On the other hand, cerebral dysfunction of offspring caused by pregnancy stress can be improved by maternal chewing. It was suggested chewing during pregnancy stress is an effective stress-coping method.

研究分野：小児歯科学

キーワード：妊娠ストレス 妊娠ストレス中の咀嚼 仔の脳機能障害 認知障害 情動障害 ストレス脆弱脳

1. 研究当初の背景

胎生期にストレスを被ると出生後の新生児に神経機能障害が高まることが報告されている。一方、チューイング(咬合咀嚼刺激)を行うことでストレス抑制が惹起され機能障害も軽減されることもヒトや動物で報告されている。

2. 研究目的

母獣の胎生期にストレスを被った場合、ストレスと同時にチューイング(咬合咀嚼刺激)を行うことで出生後の仔獣の脳機能障害が軽減されないか、されるとすればその機構はなにかを解明することである。

3. 研究の方法

妊娠期のマウスをストレスプラスチック製のチューブに入れて拘束(妊娠12日目から出産までの1週間、1回45分間1日3回プラスチック製のチューブに妊娠マウスを閉じ込める)を加えた母マウスから生まれた仔マウス(S群)と妊娠期ストレスに加え、その間に咀嚼運動をさせた母マウスから生まれた仔マウス(S/C群)、ストレスのない母マウスから生まれた仔マウス(C群)の3群で実験を行った。

(1)母マウスにストレスが加わっているかを調べるため、室傍核(PVN)におけるバゾプレシン(AVP)mRNAの発現と、血中コルチコステロン(CO)濃度の測定を行った。

(2)仔マウスの情動障害を検討するためホールボードテストを、空間認知脳を検討するためMorris水迷路学習テストを行った。

(3)海馬CA1領域でのオリゴデンドロサイトの解析を行うためミエリン塩基性タンパク質(MBP)、2,3サイクリックヌクレオチド3ホスホジエステラーゼ(CNPase)免疫染色を行い、面積を算出した。

(4)神経細胞やミエリン鞘の透過型電子顕微鏡での微細構造を観察した。

(5)仔のストレス反応への脳の脆弱性に及ぼす影響を検討するため、海馬におけるグルココルチコイド(GC)レセプター-mRNA発現量を *in situ hybridization* 法とリアルタイムPCR法にて定量解析を行った。

(6)軽度なストレスに対する過敏な反応を呈するストレス脆弱脳が形成されているかを検討するため、新規ストレスとして仔マウスを60分間プラスチック製のチューブに入れて拘束した。拘束ストレス負荷前および拘束ストレス負荷終了60分後に脳を摘出し *in situ hybridization* 法により副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)mRNA陽性部分の面積を解析した。

4. 研究成果

(1)母マウスのPVNにおけるAVPmRNAの発現率がC群の母マウスの発現率を100%とした時、S群の発現率は約280%で、S/C群では約110%であった。S/C群とC群の間には有意差が認められなかった。このことより、ストレスにより、母マウスにはストレスが加わっているが、S/C群ではストレスの影響は抑制されていることが明らかになった。CO濃度は咀嚼群の母マウスは、S群の母マウスの約53%であった。S/C群とC群

の母マウスとの間では有意な差は認められず、S群の母マウスにはストレスが加わっているが、S/C群ではストレスの影響は抑制されていることが明らかになった。これらのことから、ストレスは咀嚼運動により抑制されることが明らかになった。

- (2) 仔のS群はS/C群やC群と比較して、ホールボードテストでは情動が、Morris水迷路学習テストで空間認知能が低下していた。
- (3) 海馬CA1領域でのMBP、CNPaseの免疫染色像からS群はS/C群やC群と比較してオリゴデンドロサイトが減少しており、神経伝導に影響を及ぼしていることが示唆された。
- (4) 神経細胞やミエリン鞘の透過型電子顕微鏡での微細構造の観察で、S群は核を含む圧縮された細胞などの細胞変性が多く認められ、ミエリン鞘の厚さ(髄鞘の外径に対する内径の比)が薄いこと、シナプス後肥厚の長さはS群では有意に短く、神経伝達能が低いことが考えられる。しかし、S/C群とC群の間では差は認められなかった。
- (5) 海馬におけるGCレセプターmRNA発現量は、S群はS/C群やC群と比較して、有意に減少していた。このことから視床下部一下垂体-副腎皮質系の負のフィードバック機構が障害されていることが明らかになり、軽度なストレスに対しても過敏な反応を呈するストレス脆弱脳が形成される可能性が示唆された。
- (6) 新規拘束ストレスによってS群の仔マウスのPVNでCRHの発現量がS/C群やC群と比較して顕著に増加していたことから、S群ではストレスに過敏に反応していることが示唆された。これに対し、S/C群では新規拘束ストレス後の発現量がC群とほぼ同じ程度にまで抑えられていた。

これらの結果から、妊娠期ストレスが出生後の仔マウスの脳の発達機能障害やストレス脆弱脳を引き起こすが、妊娠期ストレスが母マウスに負荷されても母体の積極的な咀嚼運動により、出生後の仔マウスの脳の発達障害やストレス脆弱脳の形成が抑制されることが示唆された。これは動物での結果であるが、ヒトにおいても同じような効果が期待できると思われる。

引用文献

Hioki Y, Iinuma M, Kurata C, Ichihashi Y, Tamura Y and Kubo K, Effect of early tooth loss on the hippocampus in senescence-accelerated mice. *Pedi Dent J.* 19: 2009: 196-205.

Chomiak T and Hu B: What is the optimal value of the g-ratio for myelinated fibers in the rat CNS? A theoretical approach, *PLoS One*, 4: 2009, e7754.

Stott DH: Follow-up study from birth of the effects of prenatal stresses, *Dev Med Child Neurol*: 15: 1973: 770-787.

O'Donnell K, O'Connor TG and Glover V: Prenatal stress and neurodevelopment of the child: focus on the HPA axis and role of the placenta, *Dev Neurosci*: 31: 2009: 285-292.

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 Kin-ya-Kubo, Mika Kotachi, Ayumi Suzuki, Mitsuo Iinuma and Kagaku Azuma	4. 巻 15
2. 論文標題 Chewing during prenatal stress prevents prenatal stress-induced suppression of neurogenesis, anxiety-like behavior and learning deficits in mouse offspring	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int. J. Med Sc	6. 最初と最後の頁 849-858
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.7150/ijms	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 Kin-ya-Kubo Ayumi Suzuki, Mitsuo Iinuma Yuichi Sato Ryo Nagashio. Etsuro. ohta and Kagaku Azuma	4. 巻 96
2. 論文標題 Vulnerability to stress in mouse offspring is ameliorated when pregnant dams are provided a chewing stick during prenatal stress	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Archives of Oral Biology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi 10.1016%2Fj.archoralbio.2004.11.002	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 Kondo H, Uchida M, Ichihashi M, Suzuki A, Hayashi S, Iinuma M, Azuma K and Kubo K	4. 巻 27
2. 論文標題 Maternal occlusal disharmony during pregnancy induces spatial memory deficits associated with the suppression of hippocampal neurogenesis in adult mouse offspring	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatric Dental Journal	6. 最初と最後の頁 49-55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pdj.2016.12.002	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 飯沼光生	4. 巻 73
2. 論文標題 妊娠中のストレスによる仔の脳機能障害は咀嚼により改善できる	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本歯科医師会雑誌 73巻 3号 6月号	6. 最初と最後の頁 未定
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10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 近藤裕子, 久田智詠, 吉川英里, 梶本京子, 片野雅久, 林櫻子, 鈴木あゆみ, 飯沼光生, 山田久美子, 東華岳, 久保金弥
2. 発表標題 歯の早期喪失が海馬におけるミクログリアの発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第55回日本小児歯科学会大会(大阪市)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ayumi Suzuki, Hiroko Kondo, Mitsuo Inuma, Kagaku Azuma and Kin-ya Kubo
2. 発表標題 Maternal chewing ameliorates prenatal stress-induced hippocampal impairment in adult offspring
3. 学会等名 96th IADR Meeting (London) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kyoko Kajimoto, Ayumi Suzuki, Hiroko Kondo, Sakurako Hayashi, Masahisa Katano, Mitsuo Inuma, Kagaku Azuma, Kin-ya Kubo
2. 発表標題 Maternal chewing during prenatal stress in mice ameliorates stress-induced impairment of serotonergic system in the adult offspring
3. 学会等名 第41回日本神経科学学会(神戸市)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤裕子, 久田智詠, 吉川英里, 梶本京子, 片野雅久, 林櫻子, 鈴木あゆみ, 飯沼光生, 山田久美子, 東華岳, 久保金弥
2. 発表標題 歯の早期喪失が海馬におけるミクログリアの発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第55回日本小児歯科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mitsuo Iinuma
2. 発表標題 Brain dysfunction is induced by the tooth loss
3. 学会等名 第3回日本南アフリカ大学フォーラム（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Suzuki A, Hayashi S, Kondo H, Ogura M, Murabayashi C, Kotachi M, Iinuma M, Azuma K and Kubo K
2. 発表標題 Maternal chewing during prenatal stress ameliorates stress-induced synaptic and myelin alterations in the hippocampus in adults pups
3. 学会等名 第10回アジア小児歯科学会（国際学会）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 飯沼光生、鈴木あゆみ、林桜子、近藤裕子、村林知香、東華岳、久保金弥
2. 発表標題 歯の喪失により惹起される脳機能障害は豊かな飼育環境により改善される
3. 学会等名 第23回日本歯科医学会総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 飯沼光生、鈴木あゆみ、林桜子、近藤裕子、村林知香、東華岳、久保金弥
2. 発表標題 Maternal chewing during prenatal stress ameliorates stress-induced vulnerability of the brain to novel stress in the adult pups in mice
3. 学会等名 第39回日本神経学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 片野正久、市橋幸子、宋本正文、越智鈴子、鈴木あゆみ、津金裕子、飯沼光生、東華岳、久保金弥
2. 発表標題 妊娠母体の咀嚼が新生仔の海馬の神経系細胞数とアストロサイトに及ぼす影響
3. 学会等名 第57回日本小児歯科学会大会：札幌
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakurako Hayashi, Cie Hisada, Hiroko Kondo, Kyoko Kajimoto, Masahisa Katano, Kumiko Yamada, Mitsuo Inuma, Kagaku Azuma and Kin-ya Kubo
2. 発表標題 Diabetes in adults mouse offspring ameliorated by maternal chewing during prenatal stress
3. 学会等名 第27回国際小児歯科学会：メキシコカンクン（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	東 華岳 (AZUMA KAGAKU) (20273146)	産業医科大学・医学部・教授 (37116)	
研究分担者	村林 知香 (MURABAYASHI CHIKA) (50610367)	朝日大学・歯学部・助教 (33703)	