

平成 23 年 1 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2006～ 2009
課題番号：18592149
研究課題名（和文）咀嚼器官よるアルツハイマー病の予防効果に関する研究

研究課題名（英文）
The prevention of Alzheimer's disease by masticatory organ

研究代表者
木本克彦（Katsuhiko Kimoto）

研究者番号：70205011

研究成果の概要（和文）：本研究では、咬合干渉や持続的な軟性食餌といった咀嚼不全をラットに与えることによって、脳内酸化ストレスの発現量（ヒドロキシラジカル： $\text{HO}\cdot$ 、スーパーオキシド： $\text{O}_2^{\cdot-}$ ）が増加することが分かった。また、ドパミン塩酸塩と $\text{HO}\cdot$ および $\text{O}_2^{\cdot-}$ の混合により $\text{HO}\cdot$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ は有意に消去されたことから、咀嚼不全による脳内ドパミンの変化は、酸化ストレスが関与している可能性が示唆された。これらのことは、咀嚼器官が高次脳機能（認知機能）に及ぼすメカニズム解明の一助になるもと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The aim of this study examined the effects of dysfunctional mastication such as occlusal interference and soft-food diets on oxidative stress in the brain, and the relationship between these effects and dopamine (DA) levels. Electron spin resonance(ESR) studies using the nitroxyl spin probe 3-methoxycarbonyl-2,2,5,5-tetramethylpyrrolidine-1-oxyl directly demonstrated a high level of oxidative stress in the rat brain due to dysfunctional mastication. In addition, we confirmed that DA directly reacts with reactive oxygen species such as hydroxyl radical and super oxide in vitro. These observations suggest that dysfunctional mastication enhances oxidative stress, which leads to oxidation and a decrease in the release of DA in the hippocampus of rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	700.000	0	700.000
2008年度	700.000	210.000	910.000
2009年度	700.000	210.000	910.000
2010年度	600.000	180.000	780.000
年度			
総計	2.700.000	600.000	3.300.000

研究分野：歯科補綴学・老年歯科

科研費の分科・細目：補綴系歯学

キーワード：咬合干渉、海馬、活性酸素種 (ROS)、軟性食餌、MC-PROXYL、E S R、咀嚼不全

1. 研究開始当初の背景

わが国では、高齢化社会が進むにつれて、認知症患者の数も増加の一途を辿っている。2000年には200万人弱であった認知症患者は、2020年には300万人ほどに達し、高齢者の1割が何らかの認知症状をもつことが推定されている。そのため医療経済的には若者に与える負担が非常に大きくなることから、認知症患者の急増を抑えることは、老年医学において大きな使命となっている。一方で、歯科領域に目を向けると、歯を半数以上喪失している者においてアルツハイマー病を含めた認知症のリスクが有意に高くなることや、咬合干渉、食物の硬さ、歯の喪失などにより咀嚼不全を引き起こした実験動物では、脳内の神経細胞や神経伝達物質の活性に影響を及ぼすことなどが報告されはじめており、高次脳機能と咀嚼器官との関連性が社会的に注目を集めている。我々はこれまでも、アルツハイマーモデルラットや老化促進マウス(SAMP8)を用いて、咀嚼不全により海馬内の神経伝達物質、特にアセチルコリンや

ドパミンの遊離量が減少することを明らかにした。しかしながらその科学的なメカニズムは不明な点が多い。一方、脳が活動するには大量の酸素が必要とされる。体全体で消費される酸素の約20%を、脳が消費していることから、脳は常に活性酸素(Reactive Oxygen Species; ROS)による酸化の影響にさらされている。この活性酸素種が過剰になると組織は酸化ストレス状態となり、生体を構成している細胞に障害が生じることが言われている。このようなことから、本研究では脳内の神経伝達物質の遊離減少は活性酸素種による酸化ストレスの発現が大きく関与していると考えられる。

2. 研究の目的

咬合干渉や持続的な軟性食餌によって誘発された咀嚼不全が、脳内の活性酸素種により酸化ストレス状態を引き起こすか否かについて調べた。さらには、酸化ストレス状態下における脳内の神経伝達物質、特にドパミンに与える影響についても検討し、咀嚼器官が高次脳機能(認知機能)に及ぼ

すメカニズムの解明について模索する。

3. 研究の方法

①咀嚼不全による脳内の酸化ストレスの評価

酸化ストレスの評価は、尾静脈より酸化ストレス評価測定用スピンプローブ剤 (MC-PROXYL) を投与し、30 秒後に脳を摘出し電子スピン共鳴法 (ESR 法) を用い、MC-PROXYLの減衰速度を解析した。

1) 歯の喪失による影響

実験動物は老化促進モデルマウスを使用し、2ヶ月齢時に上顎臼歯部を全て抜歯し、抜歯群 (咀嚼不全群) と非抜歯群 (コントロール群) に分類し、3、6、8ヶ月後、ESRを用いて脳内の酸化ストレスを評価した。

2) 咬合干渉による影響

実験動物はWistar-Kyotoラットを使用し、5ヶ月齢時の上顎臼歯部に実験的咬合干渉を付与し、ESRを用いて脳内の酸化ストレスを評価した。

3) 持続的な軟性食餌による影響

実験動物は、Wister rat (3 週令, ♂) を使用した。実験群は、固形食群と粉末食群に分類し、12 週齢において体重測定後、脳内の酸化ストレスを評価した。

② 持続的な軟性食事条件下における海馬内のドパミン遊離能の動態評価

実験動物は、Wister rat (3 週令, ♂) を使用した。実験群は、固形食と粉末食に分類し、12 週齢において体重測定後、マイクロダイアリス法を用い、高濃度カリウム刺激時の海馬におけるドパミン遊離量を測定した。

③ ドパミンとヒドロキシラジカル (HO \cdot) およびスーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$) の反応

性の評価

in vitro X-band ESR 法を用い、過酸化水素溶液に紫外線を照射することで発生させた HO \cdot 、 $O_2^{\cdot-}$ に Dopamine hydrochloride あるいは L-Tyrosine を混合後 HO \cdot 、 $O_2^{\cdot-}$ 減少率を評価した。

4. 研究成果

① 咀嚼不全による脳内の酸化ストレスの評価

1) 歯の喪失による影響

抜歯後3, 6, 8ヶ月後では両群間に有意な差は認められなかったものの、抜歯群の方が非抜歯群 (コントロール群) に比べて、MC-PROXYL の減衰速度が増加する傾向を示した。

2) 咬合干渉による影響

咬合干渉群ではMC-PROXYL の減衰速度が有意に増加し、酸化ストレスが誘導されていることが明らかになった。

3) 持続的な軟性食餌による影響

体重変化は、固形食群と粉末食群では有意差は認められなかった。脳内酸化ストレスは、粉末食群でMC-PROXYL の減衰速度の有意な亢進が認められ、酸化ストレスが誘導されていることが明らかになった。

② 持続的な軟性食事条件下における海馬内のドパミン遊離能の動態評価

マイクロダイアリス法によるドパミン遊離能の動態評価は、高濃度カリウム刺激後 soft 群で有意な減少が認められた。

③ ドパミン塩酸塩とスーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$) およびヒドロキシラジカル (HO \cdot) の反応性の評価

ドパミン塩酸塩は HO \cdot および $O_2^{\cdot-}$ を有意に消去され、ドパミンとROSの相互作用があることが明らかになった。

以上の結果より、咬合干渉や持続的な軟性食餌による顎口腔系への刺激の変化は、脳内のフリーラジカルを増加させ、酸化ストレスが誘導されていることが明らかとなった。

また、酸化ストレス状態下でのドパミンはスーパーオキシド ($O_2^{\cdot -}$) やヒドロキシラジカル (HO^{\cdot}) と反応し消去されるため、咀嚼不全による海馬内のドパミン遊離能の減少との関連性が示唆された。

これらのことは、咀嚼器官が高次脳機能（認知機能）に及ぼすメカニズム解明の一助になるものと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. H. Aoki, K. Kimoto, N. Hori, N Hoshi, T Yamamoto, M Onozuka, Molarless condition suppresses proliferation but not differentiation rats into neurons in the rat dentate gyrus, Neuroscience letter, 査読有、469(1): 2010,44-8.
2. S. Kushida, K. Kimoto, N. Hori, M. Toyoda, N. Karasawa, T. Yamamoto, A. Kojo, M. Onozuka. Soft-diet feeding decreases dopamine release and impairs aversion learning in Alzheimer model rats, Neuroscience letter, 査読有, 439(2): 2008,208-211.
3. S Okada, N Hori, K Kimoto, Sato S, Sasaguri K. Effects of biting on elevation of blood pressure and other physiological responses to stress in rats: Biting may reduce allostatic load. Brain Res, 査読有, 1185, 2007,189-194.
4. 木本克彦、青木宏道、小野塚 実,

食事と神経新生, 査読無,

Clinical Neuroscience. 2008,910-911..

5. K Kimoto, S Kushida, N Hori, T Yamamoto, M Onozuka. Dysfunctional Mastication Affects the Dopaminergic System in a Rat Model of Alzheimer's Disease. Bull of Kanagawa Dent. Col. , 査読有, 37. 2009,49-54.
6. 木本克彦、高次脳にける咀嚼機能の新たな役割、神奈川歯学、査読無, 44. 2009,92-97.

[学会発表] (15 件)

1. H. Aoki, N Hori, K. Kimoto, M Toyoda, M Onozuka. Neurogenesis in the rat hippocampal formation under the conditions of dysfunctional mastication, Neuro 2007 第 30 回日本神経科学学会 2007 年 9 月 10-12 日 横浜.
2. S. Kushida, N Hori, K. Kimoto, M Toyoda, A Nitta, T Nabeshima, M Onozuka, Effect of Semi-fluid diet breeding on the hippocampal dopamine release, Neuro 2007 第 30 回日本神経科学学会 2007 年 9 月 10-12 日 横浜.
3. H. Aoki, N Hori, K. Kimoto, M Toyoda, M Onozuka, Cell proliferation in the rat hippocampal formation under the conditions of dysfunctional mastication, 37th Neuroscience Annual Meeting, 2007 年 11 月 4-6 日 San Diego.
4. S. Kushida, N. Hori, K. Kimoto, M. Toyoda, A. Nitta, T. Nabeshima, M. Onozuka, Changes of masticatory activity influenced the dopamine release levels in the hippocampus, Neuroscience 2007, 2007 年 11 月 4-6 日 San Diego.
5. 串田祥生, 木本克彦, 堀 紀雄, 大野晃教, 豊田 實. 軟性食餌飼育がドーパミン作

- 動性神経系および学習能力に及ぼす影響. 第 117 回 日本補綴歯科学会、2008 年 6 月 6-8 日、名古屋.
6. T. Ikeda, F. Yoshino, K. Kimoto, M. Toyoda, M.C.-I. Lee, Assessment of oxidative stress on occlusal adjustment using ESR technique, 2008、July 2-5、IADR, Toronto Canada.
 7. A Ohno, S Kushida, K. Kimoto, N. Hori, M. Toyoda, M. Onozuka: A soft diet influences the dopaminergic system and learning ability, 2008 July 2-5 IADR, Toronto Canada.
 8. K Ohno, S. Kushida , K. Kimoto, M Toyoda, N Karasawa, M Onozuka. A semi-fluid food affected the dopaminergic system and learning ability. 第 31 回日本神経科学学会 2008 年 7 月 10 日 東京
 9. 串田祥生, 木本克彦, 堀 紀雄, 大野晃教, 豊田 實, アルツハイマーモデルラットにおける食物性状と脳内神経活動との関連性, 第 19 回日本咀嚼学会 2008 年 9 月 27-28 日 東京.
 10. H Aoki, N Hori, K Kimoto, Neurogenesis in the rat hippocampal formation under the conditions of dysfunctional mastication. Asian Academy of Prosthodontics April, 24-26, 2009.
 11. 池田龍典, 木本克彦, 服部慎太郎、咬合干渉の脳内酸化ストレスへの影響—電子スピン共鳴法による評価—, 第 22 回 日本顎関節学会 2009 年 7 月 25-26 日 東京。
 12. 大野晃教, 吉野文彦、小林 杏、吉田彩佳、堀 紀雄、池田龍典、川畑政綱、斎田牧子、木本克彦、李 昌一、豊田 實, 食物性状の違いが脳内に及ぼす影響, 第 13 回 日本補綴歯科学会 西関東支部、2010 年 1 月 10 日 横浜.
 13. 大野晃教, 堀 紀雄, 木本克彦, 豊田 實 食物性状による咀嚼機能の変化が脳内酸化ストレスおよびドパミン遊離量に与える影響, 第 119 回 日本補綴歯科学会、2010 年 6 月 11-13 日 東京.
 14. A. Ohno , F. Yoshino, N. Hori , K. Kobayashi , A. Yoshida , K. Kimoto, M-C. Lee, M. Toyoda, Alteration with food textures induce oxidative stress in the brain. IADR 2010 July 14-17, Barcelona, Spain.
 15. A. Ohno , F. Yoshino, N. Hori , K. Kobayashi , A. Yoshida , Y. Ono , M-C. Lee, K. Kimoto, M. Onozuka, Effects of mastication with differences of food texture on oxidative stress and dopamine release in the rat brain, 第 33 回 日本神経科学大会 2010 年 9 月 2 日~4 日 神戸.
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
木本克彦 (Katsuhiko Kimoto)
神奈川歯科大学・歯学部 教授
研究者番号：70205011
 - (2) 研究分担者
李 昌一 (Masaichi-C. Lee,) 教授
神奈川歯科大学・歯学部 研究者番号：60220795
吉野文彦 (Fumihiko Yoshino) 講師
神奈川歯科大学・歯学部 研究者番号：20308307
青木宏道 (Hiromichi Aoki) 講師
神奈川歯科大学・歯学部 研究者番号：50350533
 - (3) 連携研究者
堀紀雄 (Norio Hori) 講師
神奈川歯科大学・歯学部 研究者番号：20386832