

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17147

研究課題名(和文) 口腔リハビリテーションによる行動障害に対する補償機構の分子生物学的解明

研究課題名(英文) Molecular biologic elucidation of the compensation mechanism for the behavior disorder with oral rehabilitation

研究代表者

竹田 洋輔 (TAKEDA, Yosuke)

北海道医療大学・歯学部・助教

研究者番号：80812560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「咀嚼機能の成熟」が学習・記憶能に及ぼす影響を解明することを目指した。固形飼料および粉末飼料を用いて認知機能観察のための行動実験を行った結果、軟性飼料を与えて飼育したマウスは途中で固形飼料に変更したとしても認知機能の向上は認めなかった。これは若齢のマウスに軟性飼料を与えた時に神経細胞の成長が阻害され、途中で固形飼料に変更しても認知機能が一定の水準にまで到達しなかったと考えられる。したがって若齢時の咀嚼時の刺激が脳の認知機能に与える影響が大きく途中で刺激を増やしたとしても大きく向上することが極めて困難であることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本では軟食化に伴い咀嚼回数は激減しており、さらに、不規則かつ栄養バランスの偏った食事摂取により様々な生活習慣病の若年齢化が大きな問題となり食育の重要性が注目されている。歯科界においては2018年に口腔機能発達不全症という症病名が保険収載された。小児の口腔機能低下の危機感の表れだと考えられる。口腔機能発達不全症については、臨床研究の貢献が大きいと考えられる。しかし、本研究の結果は臨床研究とともにそれを下支えでき、実態にも沿った基礎研究となったと考える。必要な栄養素をサプリメントで補給するといった現代型の食生活が多くなってきている中で本研究の結果は、その現状に警鐘を鳴らす結果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the effect of "maturation of masticatory function" on learning and memory. As a result of a behavioral experiment for observing cognitive function using a solid feed and a powdered feed, the mice fed with the soft feed did not show any improvement in the cognitive function even if they changed to a solid feed during the course. It is considered that the growth of nerve cells was inhibited when young mice were given a soft diet, and the cognitive function did not reach a certain level even when the diet was changed to a solid diet. Therefore, it was suggested that the stimulation during mastication at a young age had a great influence on the cognitive function of the brain, and it was extremely difficult to greatly improve even if the stimulation was increased in the middle.

研究分野：歯科学

キーワード：咀嚼機能 学習・記憶能

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

摂食・咀嚼機能は頭頸部の多数の筋や神経系の協調活動によりなされる複雑な運動であり、その際に生じる様々な感覚情報を統合することで情動系の賦活化にも繋がり、全身の健康に影響を及ぼすことが明らかとなっている。特に咀嚼運動の獲得には、摂食感覚刺激が重要であり (Langenbach G et al., 2003), 軟性食の長期間摂取は、咀嚼機能の正常な発達を妨げる (Denenberg VH et al., 1958) と報告されているなど、食物性状の変化は、歯科のトピックの一つとなっている。

申請者らは歯の喪失と飼料性状を実験的に変化させたモデルマウスを用いて、「歯の喪失および飼料性状の変化が脳機能に及ぼす影響」のメカニズムを検討した結果、歯の喪失および粉末飼料の摂取による咀嚼機能の低下は、海馬および視床下部の脳由来神経栄養因子関連遺伝子を減少させ、海馬錐体神経細胞数の減少を生じ、学習・記憶能を低下することを明らかにし、歯の喪失および軟性飼料の摂取により生じる口腔内刺激の減少が脳機能に及ぼす影響を解明する一端を明らかにすることができた (申請者ら, 2016)

一方で、咀嚼機能の成熟は離乳期以降から成長期までの要因に大きく影響を受け、適切な咀嚼機能の獲得には臨界期が存在することも小児歯科領域では広く知られている。また、動物実験では、固形食と比較して成長期終了時まで流動食で飼育したマウスでは海馬の神経細胞数が減少し、学習・記憶能も低下するという報告もある (Okihara, 2014)。近年、軟食化に伴い日本人の咀嚼回数は激減しており、さらに、不規則かつ栄養バランスの偏った食事摂取により様々な生活習慣病の若年齢化が大きな問題となり食育の重要性が注目されている。2005年に食育基本法が制定され、国民が生涯にわたって健全な心身を培う豊かな人間性を育むことを目的としているが、制定後も咀嚼機能が未成熟な子供は増えていると言われている。総務省の統計によると我が国には現時点で後期高齢者が1560万人(人口の12%)存在し、2025年には団塊世代が後期高齢者入りし2179万人(人口の18%)に増加、さらには食育に問題のあった現在の若者が高齢者となる2060年には2360万人(人口の40%)まで激増することが予想され、成長期に獲得した口腔の特徴は、その後の咀嚼機能成熟度に差異が生じることが容易に推測できる。そこで本研究では「咀嚼機能の成熟」が学習・記憶能に与える影響について行動学および分子生物学的に解明することで、咀嚼機能の保持の重要性を示すことができると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究は、「咀嚼機能の成熟」が学習・記憶能に及ぼす影響を分子生物学的に解明することを目指す。申請者らはこれまで歯の喪失と飼料性状を実験的に変化させたモデルマウスを用いて、学習・記憶能に及ぼす影響を検討し、歯の喪失および軟性飼料の摂取によって海馬錐体神経細胞数の減少および学習・記憶能の低下を引き起こすことが明らかとなり、咀嚼機能の保持が健康寿命の延伸に繋がることを示唆した。本研究では、固形飼料および粉末飼料を用いることで、個々の咀嚼機能の成熟が学習・記憶能に影響を受けることに着目し、食形態の変化が学習・記憶能に与える影響を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### <実験動物>

飼育期間終了の時点で、申請者らの方法(2017)に順じ行動実験後屠殺し、行動学的検討を行う。

野生型マウス 3週齢を下記の群に分類

固形飼料群 20週齢まで固形飼料により飼育する。

軟性飼料群 20週齢まで粉末飼料により飼育する。

軟性/固形飼料群 15週齢まで粉末飼料を与え、その後20週齢まで固形飼料により飼育する。

#### <方法>

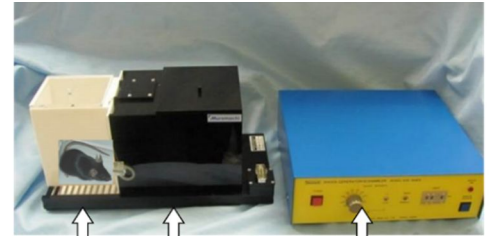
3週齢の時点で上記に分類し、20週齢の時点まで飼育する。

学習・記憶能の変化を行動実験にて検討

実験期間終了時点で全てのマウスに、ステップスルー型受動的回避試験およびY字迷路を行い、学習・記憶能を評価する。

モリスの水迷路は記憶学習能力を調べる方法として広く普及しており、特に空間学習能力の検討に用いることができる。ステップスルー型受動的回避試験は電気刺激という嫌悪刺激を回避する、回避学習能力を検討することができる。異なる行動実験を行うことにより、歯の喪失や咀嚼機能の低下がどのような種類の学習・記憶能に影響を与えるかを明らかにすることができる。

ステップスルー型受動的回避試験装置



明室 暗室 ショックジェネレーター

野生型マウス 3週齢を下記の群に分類

固形群 24週齢まで固形飼料により飼育する。

咀嚼機能未熟群 24週齢まで粉末飼料により飼育する。

リハビリ群 15週齢まで粉末飼料を与え、その後24週齢まで固形飼料により飼育する。

実験 と同様に行動実験を行った。

実験 のマウスについて

マウス海馬、視床下部を採取し、BDNF、IP3の神経関連タンパクの mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法、タンパク発現量をウエスタンブロットティング法にて検討  
神経関連タンパクを検討し、咀嚼機能の変化が及ぼす脳内への影響を捉えていく。

#### 4. 研究成果

飼料性状を変化させたマウスの行動実験を行った結果、Y字経路では固形飼料群と比較して軟性飼料群、軟性/固形飼料群は学習・記憶能の低下を認めた。ステップスルー型受動的回避試験では軟性飼料群、軟性/固形飼料群の学習記憶能の低下を認めた。本結果では軟性飼料で飼育したマウスは途中で固形飼料に変更したとしても認知機能の向上は認めなかった。これは若齢のマウスに軟性飼料を与えた時に神経細胞の成長が阻害されたことにより、途中で固形飼料に変更しても認知機能が一定の水準にまで到達しなかったと考えられる。

実験期間を長くした結果であるが、Y字迷路では軟性/固形群の成績が向上し、軟性飼料での学習記憶能低下を認めた。ステップスルー型受動的回避試験では軟性飼料群、軟性/固形飼料群の学習記憶能の低下を認めた。したがって行動学的に検討すると若齢時の咀嚼時の刺激が脳の認知機能に与える影響が大きく途中で刺激を増やしたとしても大きく向上することが極めて困難であることを示唆している。

マウスの海馬に発現する BDNF 量と IP3 量を測定した結果、BDNF は各群に有意差は認めなかった。また、IP3 に関しては固形群に比較して粉末飼料群、粉末/固形群が有意に高値を示した。IP3 は神経の発生または再生に関与すると考えられている。神経関連因子であり IP3 受容体を介した細胞内カルシウム貯蔵庫からのカルシウム放出が神経突起伸長に関与すると考えられている。したがって、咀嚼刺激の減少した軟性飼料群と軟性/固形群において IP3 が高値を示したという結果は、刺激が減少し学習記憶能が低下するほど脆弱となった神経細胞ネットワークを神経細胞の樹状突起を伸展させることによって修復する役割を担っていることを示唆している。学習記憶能が低下したマウスでは海馬の神経細胞数の減少を認めることが明らかとなっていることから数が減少した神経細胞のネットワークを樹状突起の進展によって補完している可能性が考えられる。

以上の結果が明らかとなったことで若齢時に咀嚼刺激が大きく減少するとその後成熟した後にも脳の学習記憶能に大きな影響を与えることが明らかとなり、若齢者には必要な咀嚼刺激を与えることで正常な発育が進んでいくと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹田 洋輔, 菅 悠希, 川西 克弥, 豊下 祥史, 津賀 一弘, 越野 寿
2. 発表標題 飼料性状の違いがマウスの 学習・記憶能に及ぼす影響
3. 学会等名 特定非営利活動法人 日本咀嚼学会第30回記念学術大会
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
--	---------------------------	-----------------------	----