

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目： 若手研究 (B)
研究期間： 平成 19 年度 ～ 平成 20 年度
課題番号： 19791475
研究課題名 (和文) 咬合の変化が精神不安に及ぼす影響
研究課題名 (英文) Effect on dysphoria of occlusal change
研究代表者 山本 さつき
(YAMAMOTO SATSUKI)
大阪歯科大学・歯学部・助教
研究者番号： 20399091

研究成果の概要：

ラットの上顎大白歯を一側性または両側性に抜去し、学習および記憶への影響を八方向迷路と受動回避装置を用いて調べた。

その結果、1日1回、10日間行った迷路実験では1日目を除いて、正解の数に大白歯片側抜去群、両側抜去群と対照群の間で差を認めなかった。しかし、両側抜去群のエラーの数は1、2、3、4および7日目において対照群よりも有意に低値であった。受動回避行動実験では、ラットを明室に入れ暗室に移動した直後に電気刺激を与えた(訓練試行)。24時間後保持試行を行い、明室にとどまった時間を最長600秒測定したが、保持試行における反応潜時は訓練試行における反応潜時よりも長かった。保持試行における反応潜.0時は抜歯数が多くなるにしたがって短くなった。

今回の研究の結果により、臼歯喪失は学習および記憶を障害することが明らかになった。

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	2,700,000	0	2,700,000
20 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	180,000	3,480,000

研究分野： 医歯薬学系

科研費の分科・細目： 歯学・補綴系歯学

キーワード：海馬，記憶，八方向迷路実験，受動回避実験

1. 研究開始当初の背景

歯科の分野では歯の喪失と脳機能の関連性が考えられている。1998年、Shigetomiらは歯の喪失とアルツハイマー認知症の関連性があることを示した。また、歯を喪失したラットでは海馬のCA1領域におけるアセチルコリン濃度やCA1,3,4領域における錐体細胞が減少していることも明らかにされている。さらに、水迷路、放射状迷路および回避実験などを用いて、臼歯を喪失したラットの学習・記憶能の低下を示す研究も報告されている。

しかしながら、歯の喪失が脳機能に及ぼす影響を明らかにするに当たり、喪失歯数の影響を考慮した研究や、上顎片側と上顎両側の臼歯抜歯を比較した研究は少ない。また同実験系で放射状迷路実験と受動的回避実験という2つの実験を試みた報告はみられない。

2. 研究の目的

本研究は、咬合の変化が精神不安に影響を及ぼすということを明らかにする前に、過去の研究で報告されている実験方法を用いて臼歯の喪失が脳機能に及ぼす影響について放射状迷路実験により空間作業記憶を、回避実験により長期記憶を評価することとした。2つの実験を同じ実験系列で行ったことと、実験群として片側臼歯喪失と両側臼歯喪失を設けたことが過去の研究に見られない新しい点であり、この研究を踏まえて将来は情動の評価を行う実験系へと発展させる予定である。

3. 研究の方法

(1) 実験群

90匹のラットを非抜歯群、片側抜歯群、両側抜歯群の3群にそれぞれランダムに分けた。引き続き、各群のラットを八方向迷路群、受動的回避実験群の2群に分け、合計6群（各

群15匹）とし、それぞれM1（非抜歯、迷路実験）、M2（片側抜歯、迷路実験）、M3（両側抜歯、迷路実験）、P1（非抜歯、受動的回避実験）、P2（片側抜歯、受動的回避実験）、P3（両側抜歯、受動回避実験）とした。

8週齢でペントバルビタールナトリウムを40mg/kg腹腔内投与し、P2、M2群は左側の3臼歯をP3、M3群は左右6臼歯を抜歯した。またP1、M1群は麻酔下でシャムオペを行った。

(2) 放射状迷路実験

臼歯抜歯の1週間後にM1、M2、M3群それぞれで迷路実験を行った。迷路実験には室町器械社製八方向迷路装置を用いた（図1）。実験は1日1回連続して10日間行った。

8本のアームの先端部に餌を1粒ずつ置き、実験動物が全ての餌を食べ終わるか実験開始から10分経過するまで測定した。このとき、餌を獲得できるアームに侵入した場合を正解とし、すでに餌を獲得したアームに進入した場合をエラーとした。測定は正解選択数、エラー数、試行時間とした。

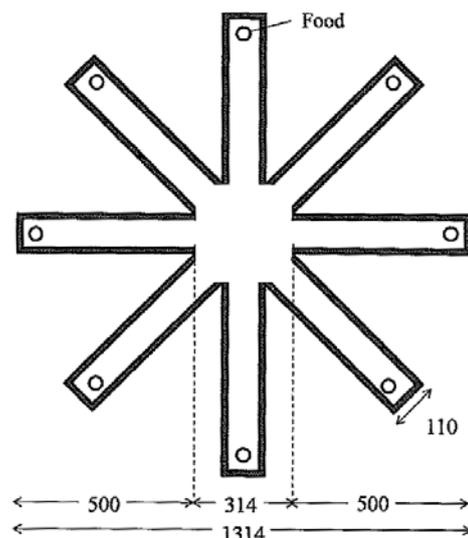


図1 八方向迷路

(3) 受動回避実験

臼歯抜歯の1週間後 P1、P2、P3 群それぞれで受動回避実験を行った。実験装置は室町器械社製ステップスルー型受動回避試験装置を用いた(図2)。受動的回避実験は獲得試行と保持試行の2試行とした。最初に明室に入れ、90秒間順化させてからギロチンドアを開放し、暗室に移動するまでの反応潜時を測定した。明室から暗室へ移動した直後にギロチンドアを閉め、床から電気刺激(交流 60 Hz, 0.5 mA, 1.5 秒間)を与えて直ちにケージに戻した。24 時間後に再び同様の操作で保持試行を行い、暗室へ移動するまでの反応潜時を測定して両試行の反応潜時を比較した。保持試行の最大潜時を 600 秒とし、暗室に移動しなかった場合の潜時は 600 秒として実験を終了した。

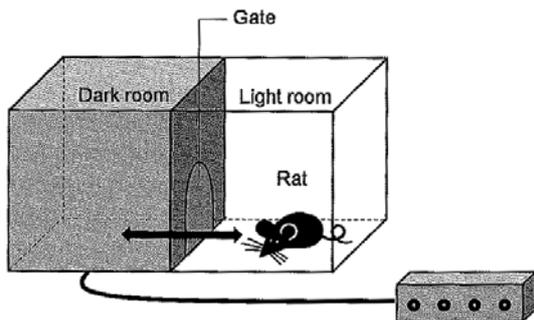


図2 受動回避実験装置

4. 研究成果

(1) 放射状迷路実験の結果

① 正解選択(図3)

群間では1日目において有意差がみられ、M1 に対して M2、M3 が有意に低下した。2日目以降では群間に有意差はみられなかった。

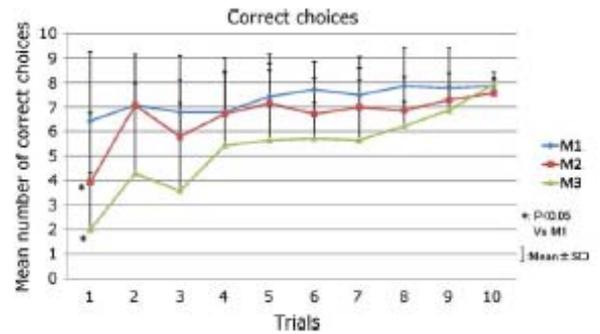


図3 正解選択数

② 誤選択(図4)

群間では1、2、3、7日目には有意差がみられ、M1 に対して M3 が有意差に低下した。4日目では、M1 に対して M2、M3 が有意に低下した。5、6、8、9、10日目では群間に有意差はみられなかった。

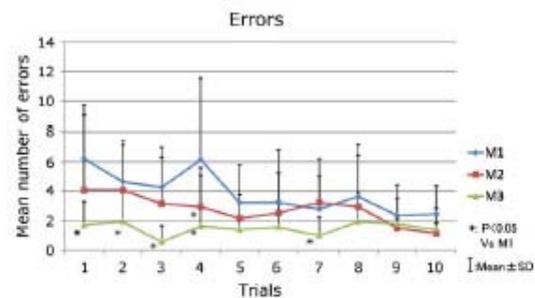


図4 誤選択数

③ 実験時間(図5)

群間では1、2日目において有意差がみられた。1日目には M1 に対して M2、M3 が有意に延長し、2日目には M1 に対して M3 が有意に延長した。3日目以降では群間に有意差がみられなかった。

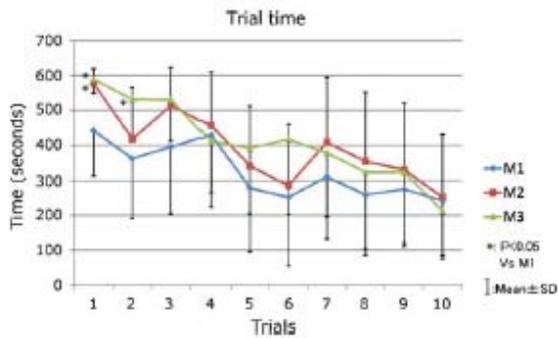


図5 実験時間

(2) 受動的回避実験の結果 (図6)

獲得試行の反応潜時において、群間の比較では有意差はみられなかった。保持試行の反応潜時は、P1とP3の間に有意差がみられ、P3が有意に短くなった。潜時は3群すべてが獲得試行と比較して延長していた。

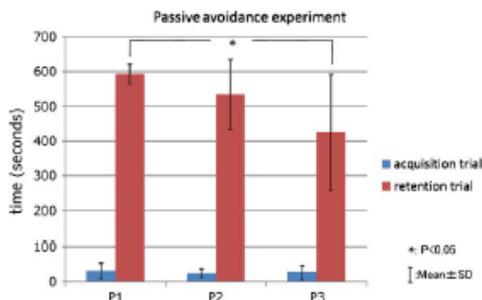


図6 受動回避実験の反応潜時

(3) 考察

①放射状迷路実験について

この実験では、学習記憶能力を評価した。この試行は餌獲得による正の強化学習を必要とするものであり、同じ空間学習能力を評価するのに適しているといわれているMorrisの水迷路の短所として挙げられているようなストレス反応は少ない。さらに、迷

路実験を開始する数日前から馴化することによって実験動物のストレスを小さくすることができる。本研究でも、実験を行う前に数日間迷路への馴化を行い、迷路装置や周囲の環境に対するストレスを出来る限り小さくすることができたことが、すくみや脱糞の減少より確認できた。

脳機能の研究より海馬は学習・記憶に重要な部位であるという見解が得られており、1999年、Chibaらは海馬CA1、CA3、CA4領域の錐体神経細胞数は非抜歯群と比べて臼歯抜歯を行った群で有意に減少していたと報告している。この結果は臼歯喪失が学習記憶能力の低下と関連することを示している。本実験では、正選択数は1日目のみに群間で有意差が認められたが2日目以降では有意差を認めなかった。しかし、実験期間を通じて非抜歯群に対して片側抜歯、両側抜歯群の順に正選択数が少ない傾向にあった。これらは抜歯によって学習記憶能力が低下するという多くの報告と一致し、歯の喪失が感覚情報を低下させ、三叉神経系や海馬に至る神経経路にも変化を及ぼすことが推察された。

エラー数の増加は作業記憶に対する障害を示している。今回、エラー数がM3群で有意に少なかったことは、抜歯創部の慢性的な疼痛持続が歯牙喪失による臼歯咬合性求心性情報入力の代替、若しくはそれ以上の求心性刺激となって、一時的に学習記憶能力が活性化された可能性が推察された。

1992年、田中らや2002年、佐々木らは、エラー数は抜歯により臼歯を喪失したラットやマウスでは、臼歯喪失の無いものと比較すると、何れも増加していたと報告している。しかし、エラー数が有意に増加したのは抜歯手術後4週以上経ってからであり、1週間後では抜歯手術無しの群と比較しても有意な差は認められていなかった。本実験では抜歯

1 週間後の計測のみを行っており、今後、経時的な変化を追う検討が必要である。試行時間の計測でも1,2日目にのみM1に比べてM2、M3で有意に延長した。以後、有意差は認められなかったが、実験期間を通じて無抜歯群に対して片側抜歯、両側抜歯群の順に試行時間の延長する傾向がみられた。臼歯部喪失群で試行時間の延長を認めたことは課題遂行に対する阻害効果が大きいことを示し、これが成績の悪化にも影響し、記憶の保持や再生過程に影響を及ぼすことが推察された。

②受動回避実験について

今回の実験は獲得試行、保持試行で行動学的評価を行う Step-through 型受動回避実験装置を用いてラットの学習記憶能を評価した。記憶機能は記録、保持、想起の3段階から成立するといわれている。本実験では記録は獲得試行、保持・想起が保持試行にあたり、これらは受動的回避実験で個別に評価できるとされている。今回の実験の結果では、獲得試行の反応潜時に有意差はみられなかったが、保持試行では獲得試行に比べて3群すべての反応潜時が延長しており、嫌悪刺激に対する学習をしたと考えられた。しかし、M2、M3群の反応潜時がM1群に比べて有意に短縮していた。1997年、Katoらはマイクロダイアリス法を用いて、ラットの臼歯喪失が脳皮質のアセチルコリン放出量を減少させることを報告し、2006年、Okudaらはマイクロダイアリス法で海馬のグルタミン酸放出量が減少することを報告している。これらの研究はいずれも臼歯喪失が学習記憶能の低下を引き起こすことを示唆している。本実験で、抜歯1週間後にラットの臼歯喪失が回避行動をとるという学習記憶能に対して障害を及ぼす可能性があることが示唆された。

(4) まとめ

ラットの上顎片側臼歯抜歯と上顎両側臼歯抜歯による咬合支持の喪失が、学習記憶能力に及ぼす影響を調べるため、八方向迷路装置とステップスルー型受動回避試験装置を用いて検討した。八方向迷路実験での正選択数は1日目のみ、M1に対してM2、M3が有意に低下した。エラー数は1、2、3、7日目に、M1に対してM3が有意に低下した。4日目では、M1に対してM2、M3が有意に低下した。試行時間は1日目にM1に対してM2、M3が有意に延長し、2日目にM1に対してM3が有意に延長した。受動的回避実験の獲得試行では反応潜時に有意差はみられなかった。保持試行の反応潜時は獲得試行に比べ3群とも延長したものの、P3群が有意に短かった。以上のことから、臼歯喪失は学習記憶障害の原因になる可能性があることが推察された。今回の実験結果を踏まえて、今後は咬合の変化と情動の関連を明らかにしていく所存である。

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1件)

Andoh T, Sakuma Y, Yamamoto S, Matsuno A, Maeda T, Kotani J
Influences of molar loss of rat on learning and memory Journal of Prosthodontic Research Vol. 53 No. 55-160 2009 査読あり

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 さつき (Yamamoto Satsuki)

大阪歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：20399091