

機関番号：33703

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20592420

研究課題名（和文）小児期の歯の喪失による慢性ストレスが海馬に及ぼす影響

研究課題名（英文）Effects of chronic stress of early tooth extraction on hippocampus in senescence-accelerated mice

研究代表者：飯沼 光生（IINUMA MITSUO）

朝日大学・歯学部・准教授

研究者番号：70184364

研究成果の概要（和文）：

長期にわたり喪失の喪失状態続くことで中枢にどのような影響が表れるかを明らかにするため老化促進モデルマウスを用いて実験を行った。

その結果

- 1、血中コルチコステロン濃度は、成年期、老年期のマウスではコントロール群に比べ、抜歯群の方が有意に上昇していた。
- 2、Morris 水迷路テストにより、成年期、老年期のマウスではコントロール群に比べ、抜歯群の方が記憶能が有意に劣っていた。
- 3、Nissl 染色による海馬神経細胞数の測定より、成年期、老年期のマウスではコントロール群に比べ抜歯群の方が有意に少なかった。
- 4、GFAP 陽性細胞数の測定より、成年期、老年期のマウスの CA3 領域では GFAP 陽性細胞数がコントロール群に比べ抜歯群の方が有意に増加していた。
- 5、BrdU 陽性細胞数の測定により、老年期のマウスの CA1 と DG 領域では BrdU 陽性細胞数がコントロール群に比べ抜歯群の方が有意に減少していた。
- 6、シナプトフィジンのタンパク量の測定により、シナプトフィジンの発現量はコントロール群に比べて早期喪失老齢マウスで有意に減少していた。

これらの結果より歯の早期喪失は慢性ストレスとして働き、中枢特に海馬の神経細胞が減少するとともに、海馬への情報入力も減少し、空間認知能に影響を及ぼすことが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

This evaluations were whether long-term tooth loss induces functional and morphologic changes in the hippocampus in senescence-accelerated mice (SAMP8). The teeth were extracted at an early age.

The results were as follow.

- 1, Plasma corticosterone concentration as a stressor was significantly higher in old or mature mice with long-term tooth loss groups than in the age-matched controls.
- 2, In the Morris water maze learning and spatial memory trials was significantly slower in the mature or old long-term tooth loss groups compared with the age-matched controls.

3,The number of hippocampal neurons was significantly reduced in the CA3 region of the hippocampus in the mature and old long-term tooth loss groups compared with their age-matched controls, but there was no significant difference in the CA1 or dentate gyrus(DG) region between the mature or old long-term tooth loss groups and their age-matched controls.

4,The number of GFAP-positive cells was significantly higher in the CA3 region of the hippocampus in the mature or old long-term tooth loss groups compared with age-matched controls. However, no significant difference was observed in the CA1 or DG of the hippocampus in the mature or old mice.

5,The number of BrdU-positive cells was significantly increased in the DG of the hippocampus in the mature or old long-term tooth loss groups compared with age-matched controls.

6,In the hippocampus, note the significant decrease in synaptophysin expression in the mature or old long-term tooth loss groups compared with age-matched controls.

The findings indicated that long-term tooth loss enhances the effects of aging on the hippocampus in mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：小児歯科学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：歯の長期喪失、海馬、ストレス、老化促進マウス

1. 研究開始当初の背景

小児期に歯を喪失した場合、顎骨の成長抑制や顎変形症が生じるなど口腔機能、形態に障害が生じること、さらに全身的にも知能や情動に影響を及ぼすという報告はある。我々もこれまでの科学研究費補助金により、歯の早期喪失により、寿命の短縮、外見から見た運動性、毛並みなどの老化度の促進が生じることを明らかにした。同様に老年期に歯を喪失することで、全身的に影響を及ぼすという報告はある。しかしこれらは小児期、老年期に抜歯し、その直後のみをみたものであって、長期間歯がない状態ではどうなるかの報告

はない。

2. 研究の目的

小児期に歯を喪失することで、その後、青年期、老年期に中枢にどのような影響が表れるか、また老年期に歯を喪失した場合と比較してどのような差があるかについて明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

老化促進マウス（SAMP-8）を用いる。
 1) 離乳直後の生後4週で上顎左右側臼歯を抜歯し（抜歯群）、そのまま成年期（抜歯後4か月）、老年期（抜歯後8か月）まで飼育。
 1、長期間の歯の喪失によるストレスを調べ

るために血中コルチコステロン濃度を抜歯後9日、4か月、8か月に測定。

2、空間記憶能を調べるためのMorris水迷路テスト。

3、Nissl染色による海馬神経細胞数の測定。

4、神経細胞の喪失に対し、代償的に働かされているグリア細胞の一種でアストロサイトのマーカーであるGlial fibrillary acid protein(GFAP)陽性細胞と新生細胞BrdUの免疫組織染色による測定。

5、中枢神経におけるシナプス形成に及ぼす影響を調べるため、シナプスのマーカーであるシナプトフィジンの発現量を免疫染色法とウエスタンブロット法による測定。

2) 小児期に歯を喪失した場合と、老年期になってから歯を喪失した場合の老年期の中枢に及ぼす影響を検討するため、生後3週で抜歯した場合と生後8カ月で抜歯した場合を比較。血中コルチコステロン濃度測定、Morris水迷路テスト、海馬神経細胞数の測定。

4. 研究成果

1、血中コルチコステロン濃度は、成年期、老年期のマウスではコントロール群に比べ、抜歯群の方が有意に上昇していた。

2、Morris水迷路テストにより、成年期、老年期のマウスではコントロール群に比べ、抜歯群の方が記憶能が有意に劣っていた。

3、Nissl染色による海馬神経細胞数の測定より、成年期、老年期のマウスではコントロール群に比べ抜歯群の方が有意に少なかった。

4、GFAP陽性細胞数の測定より、成年期、老年期のマウスのCA3領域ではGFAP陽性細胞数がコントロール群に比べ抜歯群の方が有意に増加していた。

5、BrdU陽性細胞数の測定により、老年期のマウスのCA1とDG領域ではBrdU陽性細胞数がコントロール群に比べ抜歯群の方が有意に減少していた。

6、シナプトフィジンのタンパク量の測定により、シナプトフィジンの発現量はコントロール群に比べて早期喪失老齢マウスで有意に減少していた。

7、血中グルココルチコイド濃度は、抜歯時期による有意な差は認められなかった。

8、空間認知能は、若年期に抜歯した方が老年期に抜歯したものより有意に劣っていた。

9、神経細胞数は、若年期に抜歯した方が老年期に抜歯したものより海馬CA1、CA3領域で有意に少なかった。

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4件)

1, M. Iinuma, Y. Hioki, C. Kurata, Y. Ichihashi, Y. Tamura and K. Kubo: Effects of early tooth extractions on hippocampal GFAP-positive cells in aged senescence -accelerated mice: Pediatric Dental Journal: 20, 158-164, 2010. 査読有 (優秀論文賞受賞)

2, Kubo K, Ichihashi Y, Kurata C, Iinuma M, Mori D, Katayama T, Miyake H, Fujiwara S and Tamura Y: Masticatory function and cognitive function. Okajima Folia Anat Jpn 87(3):135-140, Nov. 2010. 査読有

3, M. Iinuma, S. Yasui, M. Oonishi, C. Kurata, Y. Ichihashi, Y. Tamura and K. Kubo: Relationship between light and dark period activity cycles and oral condition in senescence-accelerated mice. Okajima Folia Anat. Jpn., 88(1):29-36 2010. 査読有
4, Y. Hioki, M. Iinuma, C. Kurata, Y. Ichihashi, Y. Tamura and K. Kubo: Effects of

early loss on the hippocampus in senescence-accelerated mice: Pediatric Dental Journal: 19, 196-205, 2009. 査読有 (優秀論文賞受賞)

[学会発表] (計7件)

1, 倉田知香、小山和彦、大西見佳、市橋幸子、飯沼光生、田村康夫、久保金弥 :

小児の歯の喪失が海馬の Synaptophysin 発現に及ぼす影響: 第49回日本小児歯科学会大会 2011年11月29日、盛岡.

2, C Kurata, M Onishi, Y Ichihashi, M Iinuma, D Mori, M Onozuka and K Kubo:

Effects of prolonged toothless condition on synaptogenesis in the hippocampus of SAMP8 mice: 第34回日本神経科学大会: 2011年9月17日、横浜.

3, M. Iinuma, H. Nakahara, M. Ito, S. Mori, Y. Tamura and K. Kubo : Prolonged molarless condition exacerbates aged-related deterioration of the hippocampus in SAMP8 mice: 第24回国際小児歯科学会: 2011年6月15日アテネ、ギリシア.

4, 三宅秀和、田村康夫、飯沼光生他6名、3番目: 咬合不全ストレスが視床下部室傍核の活性に与える影響: 第169回岐阜歯科学会例会: 2011年2月19日、岐阜.

5, K. Kurata, Y. Tamura, M. Iinuma, Y. Ichihashi and K. Kubo: Prolonged toothless condition progresses aging processes in the hippocampus: 第88回国際歯科学会: 2010年7月15日バルセロナ、スペイン.

6, M. Iinuma, C. Kurata, Y. Ichihashi, Y. Tamura, K. Kubo and M. Onozuka: Long-lasting toothless condition progresses aging processes in the hippocampus: 第32回日本神経科学大会: 2009年9月12日、名古屋

7, M. Iinuma, Y. Hioki, Y. Ichihashi, Y. Tamura

and K. Kubo: Effects of tooth extractions on hippocampus in senescence-accelerated mice: 第22回国際小児歯科学会: 2009年6月12日、ミュンヘン、ドイツ.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 飯沼 光生
(IINUMA MITSUO)
朝日大学・歯学部・准教授
研究者番号: 70184364

(2) 研究分担者 久保 金弥
(KUBO KIN-YA)
星城大学・リハビリテーション学部・教授
研究者番号: 00329492

(3) 連携研究者
()

研究者番号: