

機関番号：31201

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20791437

研究課題名 (和文) 咬合回復が高次脳機能に及ぼす影響

研究課題名 (英文) Influence that recovery of occlusion exerts on higher brain function in rats

研究代表者

山崎 薫子 (YAMAZAKI KAORUKO)

岩手医科大学・歯学部・常任研究員

研究者番号：50405784

研究成果の概要 (和文)：本研究はラット実験モデルを用い、歯根膜を喪失した抜歯窩にインプラント体を埋入し、咬合回復させた一定期間の後に 8 方向放射状迷路を用いて学習記憶能を評価し、Nissl 染色法を用いて海馬錐体神経細胞数を病理学的に評価し、TrkB-mRNA にて In situ Hybridization 法を用い、分子生物学的に評価した。適切なメーカー、規格のインプラント体の選択を行った。次に、モーターを用いてインプラント窩洞を適切な方法で形成しインプラント体を窩洞へ埋入するという実験を人間の顎模型を用い技術の習得を行った。その後、ラット実験モデルに施行した。

研究成果の概要 (英文)：The present study had the implant body to an extraction fossa that lost the periodontal membrane and the occlusion has been recovered by using the rat experiment model. After a certain period, the spatial memory of rats was assessed based on their behavioral performance in a radial arm maze. Number of hippocampal pyramidal cells and the TrkB-mRNA expressions in the amygdala, perirhinal cortex, thalamus, and the hippocampal CA1, CA3, and CA4 areas, were evaluated using molecular biological techniques. We selected an appropriate manufacture and the standard implant body. The exploratory experiment of forming the prepared cavity of implant insertion by the proper procedure by using the implantor, and having the implant body was done. First, we used jaw model and the rat's jaw.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	0	0	0
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総 計	2,800,000	840,000	3,640,000

※2009 年は研究を留保したため交付なし。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科補綴学一般

キーワード：①脳 ②咬合 ③インプラント補綴 ④学習記憶 ⑤歯学

1. 研究開始当初の背景

歯の喪失により、空間学習記憶能が低下することが動物実験から明らかにされ報告されている。そのメカニズムについては脳内のアセチルコリン機能や脳内海馬の神経細胞数から示される細胞活性との関係から解明が試みられている。

しかし、歯根膜からの情報が集まる領域である三叉神経領域からの伝達経路を司る大脳辺縁系におけるシナプス伝達との関係からは十分に明らかにされていなかった。教室の千葉は上顎、下顎、上下顎の臼歯を抜去して空間学習記憶能を比較した結果、障害は上顎群で最も顕著で、海馬錐体神経細胞数が減少することを、佐々木も臼歯抜歯群と歯冠切除群で比較し、抜歯群でより行動成績は劣り、脳内神経伝達物質にも相関を認めたことを報告した、すなわち、高次脳機能に影響を及ぼす要因として歯根膜由来の求心性情報量の多寡が示唆され、これを追求する必要性が生じた。

我々は、神経栄養因子として知られているBDNFに着目した。BDNFは神経伝達物質合成機能やシナプス機能の制御に関与する。神経細胞の生存や分化に関与するだけでなく、学習・記憶に関連するものであることが分かった。BDNFはアルツハイマー疾患患者の脳内で著明に減少し、海馬における長期増強後に増加し、迷路実験の後に著明に増加することなどの報告がある。一方、BDNFの高親和性受容体であるTrkBはBDNFのシグナルにより増加することが明らかになっている。脳内におけるシナプス伝達能の亢進には単にBDNF発現のみならず、BDNF-TrkB結合の促進が重要である。したがって、メカニズムの解明にはTrkBの変化を分析することが重要であると考えた。

我々はこれまでの教室の研究をもとに予

備実験としてラット上顎臼歯を両側第一臼歯、両側第一、二臼歯、両側第一、二、三臼歯を抜歯した後に、8方向放射状迷路を用いた行動学的実験、海馬錐体神経細胞数を観察、計測した組織学的実験、TrkB陽性細胞数を観察、計測した分子生物学的実験をそれぞれ行い、咬合を失ったラットは段階的にTrkBが減少すること、空間学習記憶能が低下すること、海馬錐体神経細胞数の減少から見る神経活動性が低下することを確認した。

そこで今回、失われた咀嚼機能、咬合関係を回復することでこれらの衰退の変化がどのように回復あるいは維持するかを調査するという着想に至った。

2. 研究の目的

ラットに対して、失った咬合機能の回復を人為的に行うことにより、一定期間の後、空間学習記憶能、海馬衰退神経細胞数、TrkB mRNAの導入についてどのように変化するかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 予備飼育、迷路への馴化、抜歯後治癒期間にそれぞれ1週間を設定する。

(2) 通常の飼育では飲料水は自由摂取とし、固形ペレットは制限させる。

(3) 実験群は上顎両側第一、二、三臼歯抜歯しインプラントを埋入する群、インプラントを埋入しないで欠損のままの群を設定した。

(4) 上顎臼歯抜歯後1, 4, 7週に8方向放射状迷路を用いて、行動学的実験を行う。5日間連続試行させる。行動学的実験の評価項目は正選択数、エラー数、試行時間の3項目とする。

(5) 迷路実験終了90分後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し断頭後、脳を全摘出する。90分は TrkB プローブが一番反応をよく観察できる時間として設定した。

(6) 4%中性緩衝ホルマリン固定液で24時間浸漬固定を行い、脱水・水洗後に包埋する。

(7) 厚さ7 μ mの前頭断連続切片をマイクロトームにて作製し、錐体細胞をNissl染色法にて染色する。

(8) 同切片をIn situ Hybridization法を用いてTrkB陽性細胞を染色する。

(9) 抜歯後7週の迷路実験終了後、インプラント群は臼歯欠損部にインプラント体を両側に1本ずつ埋入する。レジンの添加もその際に行う。

(10) 埋入後1週間の治癒期間を設定する。

(11) 咬合の回復はインプラント体上部にレジンを添加し行わせた。

(12) 上顎骨体へのインプラント体の骨性結合の確認は、小型動物用CT撮影装置を応用した。

(13) 通常の飼育では飲料水は自由摂取とし、固形ペレットは制限させる。

(14) 上顎臼歯部インプラント体埋入後1, 4, 7週に8方向放射状迷路を用いて、行動学的実験を行う。5日間の連続試行とする。行動学的実験の評価項目は正選択数、エラー数、試行時間の3項目とする。

(15) 迷路実験終了90分後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し断頭後、脳を全摘出する。

(16) 4%中性緩衝ホルマリン固定液で24時間浸漬固定を行い、脱水・水洗後に包埋する。

(17) 厚さ7 μ mの前頭断連続切片をマイクロトームにて作製し、錐体細胞をNissl染色法にて染色する。

(18) 同切片をIn situ Hybridization法を用いてTrkB陽性細胞を染色する。

4. 研究成果

(1) 8方向放射状迷路による行動学的実験では予備実験と同様に抜歯群は明らかに空間学習記憶能が低下した。つまり、正選択数は減少し、エラー数、試行時間は増加した。しかし、その結果は対照群と比較すると抜歯後1週では明らかではなかったが、4週、7週になると有意な結果を示した。

(2) 海馬錐体神経細胞数は、抜歯群でその数を減じた。抜歯後1週では明らかではなかったが、4週、7週で減少した。CA4では4週で大きく差を認めた。

(3) TrkB陽性細胞は観察領域すべてにおいて抜歯後7週で抜歯群は対照群に対して明らかにその数を減じた。

(4) インプラント埋入後、1週で8方向放射状迷路による行動学的実験では対照群に対し抜歯群、インプラント埋入群は明らかに空間学習記憶能が低下していた。4週でも依然抜歯群、インプラント群の空間学習能は低下していた。

(5) インプラント埋入後1週、4週、7週、10週、15週の時点で小型動物用CT撮影装置を用いて上顎骨体へのインプラント体の骨性結合の確認を行ったが、インプラント体と骨体にはオッセオインテグレーションは認めなかった。

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1件)

Kaoruko Yamazaki, Noriyuki Wakabayashi,
Takuya Kobayashi, Tetsuya Suzuki
Effect of Tooth Loss on Spatial Memory and
Trk-B mRNA Levels in Rats
HIPPOCAMPUS
査読；有
18:542-547
2008

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 薫子 (YAMAZAKI KAORUKO)
岩手医科大学・歯学部・常任研究員
研究者番号： 50405784

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし