

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10296

研究課題名(和文) 歯の喪失による神経変性がアルツハイマー病を発症させる分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular mechanism by which neurodegeneration caused by tooth loss initiates Alzheimer's disease

研究代表者

後藤 哲哉 (GOTO, Tetsuya)

鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授

研究者番号：70253458

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)モデルマウスを用い、抜歯による三叉神経中脳路核(Vmes)の神経変性として細胞障害を示すATF3免疫陽性細胞が出現し、次に細胞死を示すcleaved-caspase-3免疫陽性細胞が現れた。Vmes神経細胞周囲のグリア細胞の活性化が見られ、青斑核神経細胞の減少も見られた。また、認知機能の低下は、抜歯によって認知症様行動が見られるまでの期間が、抜歯をしなかった3xTg-ADマウスに比べ約1/4に短くなった。さらに、別のADマウスでは、Vmes神経細胞内にオートファジー様膜が認められ、神経細胞の老化並にはオートファジーが関わっていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯数の減少がアルツハイマー病(AD)のリスクファクターであることは、多くの臨床研究で示唆されているが、そのメカニズムはよくわかっていない。我々はADモデルマウスを抜歯することにより関連する神経にどのような神経変性が生じ、ADの進行を早めるか実験的に検証した。その結果、歯の喪失により三叉神経中脳路核 青斑核 海馬という神経変性の連鎖が生じることによってADの進行が早まることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In a mouse model of Alzheimer's disease (AD), ATF3-immunopositive cells, indicating cytotoxicity, appeared in the trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) as a result of tooth extraction, followed by cleaved-caspase-3 immunopositive cells, indicating cell death. A decrease in the number of blue nucleus neurons was also observed. In addition, the time to dementia-like behavior was shortened by tooth extraction by about one-fourth compared to 3xTg-AD mice that did not undergo tooth extraction. Furthermore, autophagy-like membranes were found in Vmes neurons in another AD mouse, suggesting that autophagy is involved in the aging process of neurons.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：アルツハイマー病 アミロイド 三叉神経中脳路核 抜歯 認知機能

様式 C-19、F-19-1、Z-19(共通)

1. 研究開始当初の背景

認知症の発症は日本だけでも現在 400 万人、2025 年で 700 万人に達すると見込まれているが、現在有効な治療薬がなく、「物忘れ」程度の軽度認知障害(MCI)期から認知症へ進行するのをいかに防ぐかが重要な社会問題になっていおり、予防ターゲットを明らかにすることが求められている(図1)。

認知症の6割以上がアルツハイマー病(AD)であるが、これまでの国内外の多数の疫学調査により、口腔領域で認知症発症との関連が指摘されているのは歯周病と残存歯数である。歯周病についてはその発症年齢と認知症の発症年齢の差の問題、認知症の特徴である海馬の神経脱落との関連が明確ではない。一方、いままで口腔環境と認知症との関連について神経病理学的に解析したものはなかった。我々は、加齢と三叉神経系における神経変性との関連、ならびに歯の喪失によりどのような神経変性が AD の発症に関わるか AD モデルマウスで検討してきた。その結果、加齢が三叉神経中脳路核(Vmes)の AD 関連の神経変性に強く関わること、歯の喪失により生じる Vmes の神経変性が隣接しアルツハイマー病初期病変の発症部位であるである青斑核を介して、海馬の神経細胞の脱落に至る(図2)という、AD 発症のメカニズムの着想に至った。

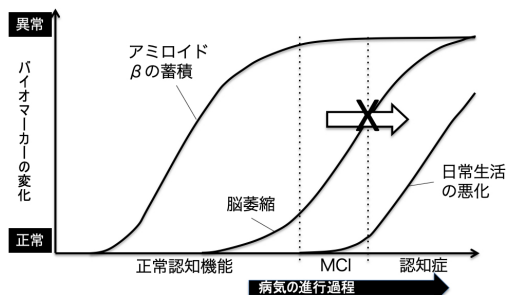


図1 アルツハイマー病の進行. 軽度認知機能低下期(MCI)から認知症への進行を止めること(図中のxの所)が求められている。

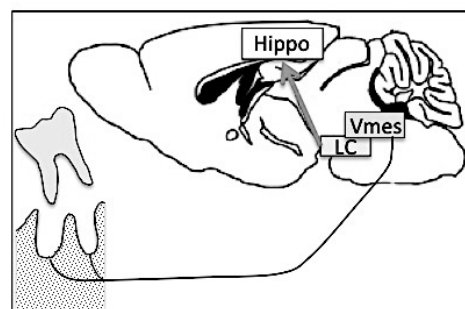


図2 歯を失うと三叉神経中脳路核(Vmes)、青斑核(LC)、海馬(Hippo)と神経変性が進行し認知症を発症してしまう。

2. 研究の目的

本研究の目的は、次の点について明らかにすることである。

- 1) 三叉神経系の AD 関連加齢変化(アミロイド β の沈着、タウのリン酸化の亢進)
- 2) 歯の喪失時の三叉神経中脳路核(Vmes)の神経細胞死とその周囲の組織変化
- 3) Vmes 神経細胞死による周囲組織、ミクログリアの活性化と青斑核への影響
- 4) 青斑核と海馬の神経脱落との関連
- 5) これら一連の神経変性による認知機能低下への影響

3. 研究の方法

(1) 加齢による Vmes 神経変性の解析

AD モデルマウスを生後2ヶ月、4ヶ月、7ヶ月で固定し、抗非毒性アミロイド β 抗体(6E10, Covance)、抗神経毒性アミロイド β 42 抗体(BC05, Fujifilm/Wako)、および抗 endosome 抗体(Rab5, Santa Cruz)を使用し、Vmes 内で加齢的にどのように endosome 内のアミロイド β が細胞毒性に変化するかを免疫蛍光細胞組織学的に調べ、神経細胞における老化とアミロイド β 42 産生の関係を明らかにした。

(2) 抜歯による Vmes 神経変性の解析

抜歯は AD モデルマウス、コントロールマウスに対して上顎臼歯について行い、抜歯後 5, 10, 15 日後に固定して Vmes 神経細胞を調べた。抜歯による神経変性は障害を受けた細胞のマーカーである ATF-3 に対する抗 ATF3 抗体(Wako)、神経死細胞のマーカーである抗 Caspase 3 抗体(Abcam)を使って抜歯後、いどこに Vmes の神経細胞が生じるのかを明らかにした。

(3) グリア細胞の活性化並びに青斑核の神経変性

抜歯後、Vmes 神経細胞の細胞死で生じる細胞毒性を持つアミロイド β 42 の放出とそれに伴うミクログリアの増殖を免疫蛍光組織学的に調べた。Vmes の神経細胞死によって細胞外に放出されると考えられるアミロイド β 42 を定量解析した。さらに、これらを確認後、抜歯による青斑核の神経細胞死の関連について、青斑核のマーカーである抗 Tyrosine Hydroxylase 抗体と細胞障害ならびに細胞死のマーカーを用いて調べた。

(4) 青斑核と海馬の神経脱落

(3)で確認した抜歯後の青斑核の細胞死が生じる時間、部位の神経細胞が、青斑核からの投射部位である海馬の細胞死が生じる部位と一致するかを、Fluoro-Gold, Fast Blue 等のトレーサーを使って調べた。

(5) 認知機能低下への影響

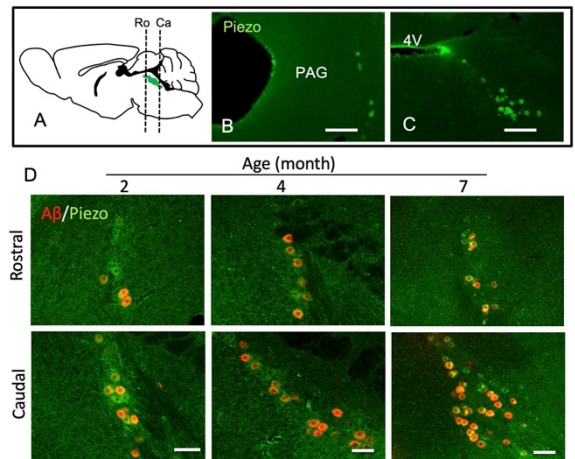
歯の喪失による認知機能の変化を、行動解析によって調べた。実験には、現在使用中のバーンズ迷路を使用し、野生型,AD モデルマウスを抜歯し、抜歯後1~3ヶ月後の認知機能の低下を調べ、抜歯によってどの程度認知機能の低下が早くなるかを非抜歯群と比較して調べた。

4. 研究成果

(1) 加齢による Vmes 神経変性

3xTg-AD マウスを使って Vmes 神経細胞の Aβ の発現を経時的に調べたところ、Piezo2 陽性の Vmes 神経細胞内の Aβ は生後2ヶ月から4ヶ月にかけて急速に増加し、4ヶ月ではほぼプラトーに達した。Aβ の発現量から、4ヶ月齢 3xTg-AD マウスはヒトの軽度認知機能低下期に相当するのではないかと考えられた。

なお、認知機能についての行動実験でも4ヶ月齢 3xTg-AD マウスでは明確な認知機能の低下が認められなかった。

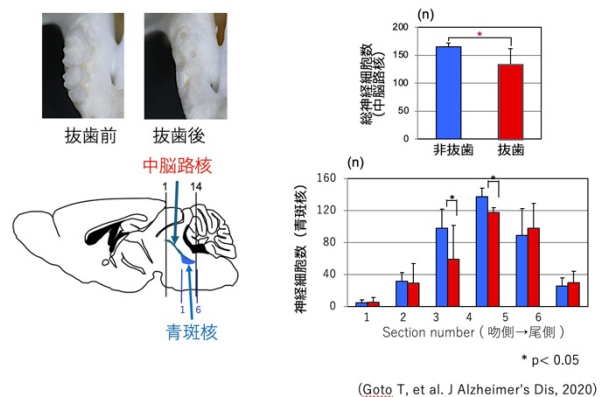


(2) 抜歯による Vmes、青斑核の神経変性

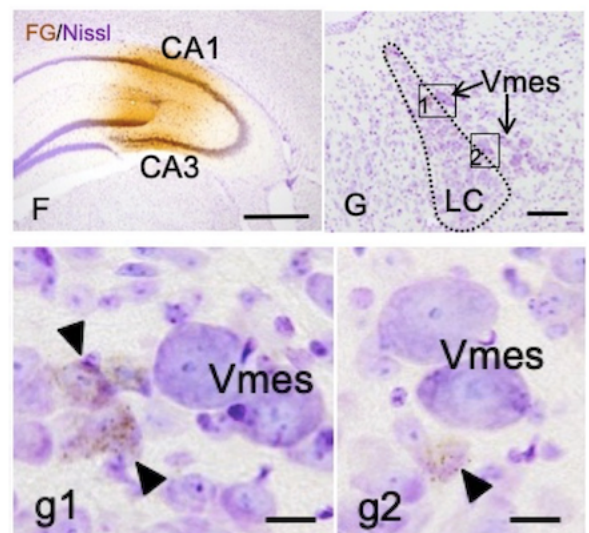
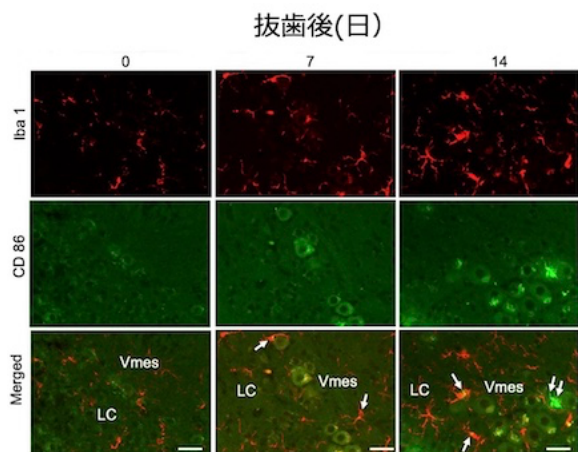
4ヶ月齢 3xTg-AD マウスの上顎臼歯を抜歯すると、Vmes 神経細胞にダメージを受けた ATF-3 陽性神経細胞が増加した。その後、Vmes 神経細胞は主に尾側の方で Caspase-3 陽性の神経細胞死と神経細胞の脱落が認められた。

また、Vmes 神経細胞の経変性を起こし、神経細胞死による影響により、Vmes 神経細胞の近傍に存在する青斑核の神経変性並びに神経細胞の減少が認められた。

神経細胞の変性に伴い、Vmes 神経細胞周囲の Iba-1 陽性ミクログリアの増加が認められた。

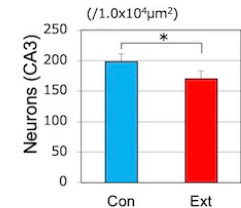
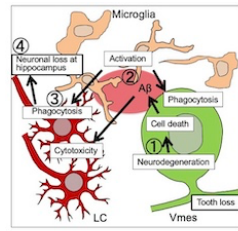
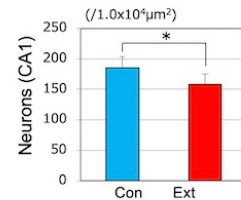
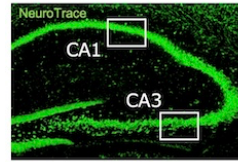


海馬にトレーサーを標識した結果、Vmes 細胞付近に存在する青斑核の神経細胞に標識が認められた。この結果は、Vmes 神経細胞の神経変性を受ける青斑核の神経細胞は直接海馬に投射していることを意味し、また、青斑核の神経障害は海馬への神経障害を生じる可能性があることを示唆した。



(3) 抜歯による海馬への影響

抜歯後に海馬の神経細胞の脱落を調べたところ CA1, CA2 領域ともに抜歯による神経細胞数の減少が認められた。これは、抜歯によって神経変性が Vmes、青斑核、海馬と伝わったものと考えられた。

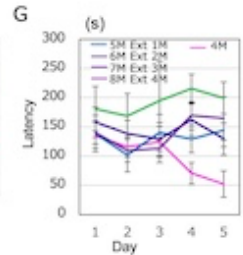
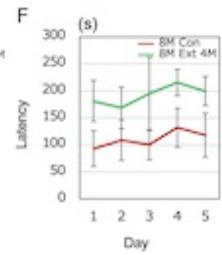
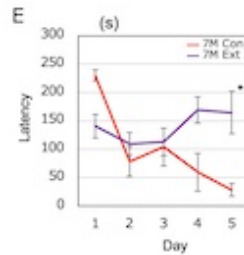
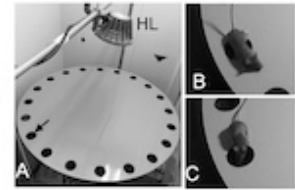


*p < 0.05

(4) 抜歯の認知機能への影響

抜歯後の認知機能低下をバーンズ迷路で調べたところ、抜歯をしなかったマウスは認知機能低下が低下するのは8ヶ月くらいであるが、生後4ヶ月で抜歯をすると抜歯後1ヶ月で認知機能の低下が認められた。このことは、抜歯によって認知機能低下が早まることが示唆された。

バーンズ迷路を使った認知機能試験

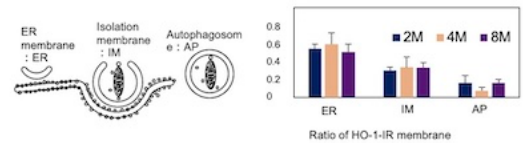
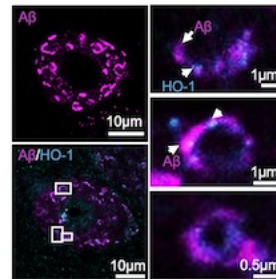


(5) Vmes 神経細胞内のオートファジー

神経細胞の中に Aβ が沈着する原因を解明するために神経細胞の老化について着目した。神経細胞は寿命の長い細胞なので、細胞内の恒常性の維持 (ホメオスタシス) が必要である。我々は、Vmes 神経細胞内の Aβ の分布をしらべると、その Aβ がオートファジー様構造に認められた。

この Aβ 陽性構造は、オートファジーのマーカーの HO-1 によって標識された。これらのことにより、神経細胞内にはオートファジー膜様構造があり、これが細胞内の Aβ の代謝にも関わっている可能性が示唆された。

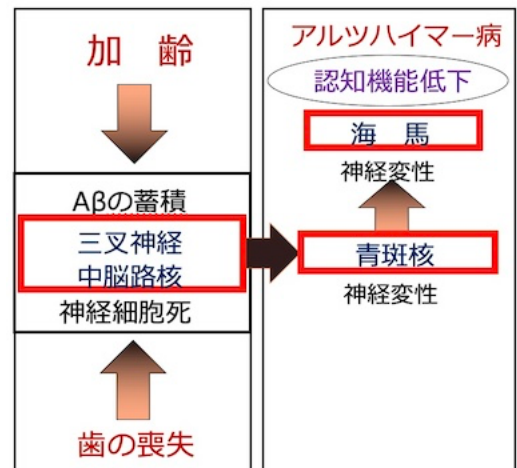
AβとHO-1の局在



結論

加齢による Aβ の沈着と歯の喪失による神経細胞死により Vmes 神経細胞周囲に細胞毒性のある Aβ が拡散することによって近傍の青斑核に神経変性を起こしたのと考えられた。

この青斑核の神経変性は海馬の神経変性と繋がり、結果として認知機能低下をもたらすことが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sonoda R., Kuramoto E., Minami S., Matsumoto S.E., Ohyagi Y., Saito T., Saido T., Noguchi K., Goto T.	4. 巻 102
2. 論文標題 Reduced Autophagy in Aged Trigeminal Neurons Causes Amyloid Diffusion	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Dental Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/00220345231156095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kuramoto Eriko, Kitawaki Ayano, Yagi Takakazu, Kono Hiroshi, Matsumoto Shin-Ei, Hara Hiromitsu, Ohyagi Yasumasa, Iwai Haruki, Yamanaka Atsushi, Goto Tetsuya	4. 巻 14
2. 論文標題 Development of a system to analyze oral frailty associated with Alzheimer's disease using a mouse model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnagi.2022.935033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Dhar A, Kuramoto E, Fukushima M, Iwai H, Yamanaka A, Goto T	4. 巻 54
2. 論文標題 The Periodontium Damage Induces Neuronal Cell Death in the Trigeminal Mesencephalic Nucleus and Neurodegeneration in the Trigeminal Motor Nucleus in C57BL/6J Mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Histochem Cytochem.	6. 最初と最後の頁 11-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1267/ahc.20-00036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Goto T, Kuramoto E, Dhar A, Wang RP, Seki H, Iwai H, Yamanaka A, Matsumoto SE, Hara H, Michikawa M, Ohyagi Y, Leung WK, Chang RC.	4. 巻 76(4)
2. 論文標題 Neurodegeneration of Trigeminal Mesencephalic Neurons by the Tooth Loss Triggers the Progression of Alzheimer's Disease in 3×Tg-AD Model Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Alzheimers Dis	6. 最初と最後の頁 1443-1459
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3233/JAD-200257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 倉本 恵梨子、柏谷 英樹、大野 幸、岩井 治樹、山中 淳之、後藤 哲哉.
2. 発表標題 頭頸部の侵害性感覚受容に関わるマウス三叉神経系について、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた研究。
3. 学会等名 第128回日本解剖学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤 哲哉
2. 発表標題 三叉神経中脳路核神経細胞の加齢及び神経変性によるアミロイド オリゴマーの拡散について。
3. 学会等名 日本老年歯科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤 哲哉
2. 発表標題 三叉神経中脳路核の特異性から読み取る，咬合・咀嚼と脳機能の関係について。
3. 学会等名 歯科基礎医学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 倉本恵梨子，岩井治樹，山中淳之，後藤哲哉
2. 発表標題 アデノ随伴ウイルスベクターを用いた，マウス三叉神経脊髄路核から視床に投射するニューロンの特異的標識と光活性化。
3. 学会等名 歯科基礎医学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kitawaki A, Kuramoto E, Goto T
2. 発表標題 Trigeminal Mesencephalic Neurodegeneration in Alzheimer 's Disease Decreases Masticatory Function.
3. 学会等名 IADR/APR General Session (Virtual) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuya Goto
2. 発表標題 The relationship between aging or neurodegeneration of the trigeminal nerve and the initiation of Alzheimer 's disease.
3. 学会等名 MRC international symposium (Seoul) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 後藤 哲哉
2. 発表標題 老いの入り"口"から認知症を読み解く 口腔機能と神経細胞変性 加齢、歯の喪失、アルツハイマー病の関係について .
3. 学会等名 日本抗加齢医学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤 哲哉
2. 発表標題 歯の喪失は三叉神経中脳路核の神経細胞死を介し三叉神経運動核の神経変性を生じる .
3. 学会等名 日本老年歯科医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤 哲哉 .
2. 発表標題 歯の喪失がアルツハイマー病の進行を早めるメカニズムについて .
3. 学会等名 日本歯科医師会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北脇 綾乃, 倉本 恵梨子, 齋藤 充, 河野 博史, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉 .
2. 発表標題 アルツハイマーモデルマウス3xTG-ADの三叉神経系における病理所見と咀嚼機能についての研究
3. 学会等名 科基礎医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 園田 怜美, 倉本 恵梨子, 松本 信英, 原 博満, 大八木 保政, 野口 和行, 後藤 哲哉 .
2. 発表標題 三叉神経中脳路核の神経変性によるアミロイド オリゴマーの拡散について
3. 学会等名 日本認知症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 園田 怜美, 倉本 恵梨子, 後藤 哲哉
2. 発表標題 3xTg-AD マウスを用いた神経細胞におけるアミロイド の局在と加齢変化について
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Dhar A, Kuramoto E, Iwai H, Yamanaka A, Goto T
2. 発表標題 Maxillary molars extraction lead to mesencephalic trigeminal nucleus death and initiates TDP-43 pathology of the trigeminal motor neuron of wild type mice.
3. 学会等名 日本解剖学会第76回九州支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 園田怜美、倉本恵梨子、松本信英、原 博満、大八木保政、野口和行、後藤哲哉
2. 発表標題 3xTg-ADマウスにおける神経細胞内アミロイド の加齢変化について
3. 学会等名 第39回日本認知症学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Dhar A, 後藤哲哉
2. 発表標題 Neurodegeneration of Vmes-Vmo due to PDL damages by tooth extraction.
3. 学会等名 第39回日本認知症学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤哲哉
2. 発表標題 三叉神経の神経変性とアルツハイマー病、歯の喪失がアルツハイマー病の進行を早めるメカニズム
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤 哲哉
2. 発表標題 アルツハイマー病の進行に関わる三叉神経中脳路核の老化について
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 後藤 哲哉
2. 発表標題 歯の喪失と認知症の関係について
3. 学会等名 第30回日本産業衛生学会全国協議会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

gotolab-site https://tgoto9.wixsite.com/gotolab-site 歯の喪失とアルツハイマー病との関連について https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/37_topics/data/00176-17701-70253458.pdf 歯の喪失とアルツハイマー病との関連について https://tgoto9.wixsite.com/gotolab-site/research 歯科機能形態学分野 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 https://tgoto9.wixsite.com/gotolab-site
--

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
研究分担者	松本 信英 (MATSUMOTO Shin-Ei) (40432950)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教 (17701)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	白方 良典 (SHIRAKATA Yoshinori) (60359982)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・准教授 (17701)	
研究分担者	倉本 恵梨子 (KURAMOTO Eriko) (60467470)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教 (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関