

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 7日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21792096

研究課題名（和文） 成長発育期からの咀嚼変化が脳発育に及ぼす影響について

研究課題名（英文） The effects of mastication during developmental stage on brain functions

研究代表者

綿引 淳一（WATAHIKI JUNICHI）

昭和大学・歯学部・兼任講師

研究者番号：60384351

研究成果の概要（和文）：

生後、特に離乳期以降の数週間は咀嚼機能の獲得に極めて重要な時期である。加えてこの時期は急激な脳神経発達が起る。しかしながら、離乳後の咀嚼が脳機能に与える影響は依然として不明な点が多い。本研究において我々は、マウスの行動試験と海馬の神経新生の解析を用いて、離乳後の咀嚼が脳機能に与える影響について検討を行った。その結果、通常の硬食群に比べ、軟食群が有意にプレパルス抑制試験の低下が認められた。加えて軟食群で海馬の神経新生の抑制が認められた。これらの結果から離乳後の軟食は統合失調症を含めた精神疾患に関係する可能性があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

A few weeks after weaning is a particularly important period for the acquisition of the mastication function. Moreover, the rapid development of the brain and nervous system occurs in this period. However, the effects of mastication after weaning on brain functions largely remain unclear. In this study, we used behavioral analyses and neurogenesis in hippocampus in mice to investigate the effect of mastication after weaning on brain function. The results revealed significantly reduced prepulse inhibition in the male mice fed a hard diet feeding group compared with the soft diet feeding group. In addition, mice fed a soft diet significant decreased in neurogenesis in the hippocampus. Thus, the current findings suggest that soft-diet feeding may be related to mental illness including schizophrenia in young male mice after weaning.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：咀嚼・咬合と全身への影響・成長発育・脳発育

1. 研究開始当初の背景

近年、歯科界では、咬合や咀嚼機能が及ぼす

全身への影響が大きく注目されている。老年期における咀嚼機能と脳機能に関しても多くの研究が現在までに報告されており、噛む事と老年期の脳機能低下に強い関連性がある事が報告されている。しかしながら、成長期における咀嚼習慣が脳発育に及ぼす影響に関して十分に検討した報告はない。また、我々は過去に成長期における咀嚼変化が、下顎骨形態や下顎頭軟骨の遺伝子発現ならびに頭蓋骨の大きさに大きく影響を与える事を報告してきた。そこで、本研究では、成長期からの咀嚼習慣(食べ物の硬さ)が脳の成長発育ならびに老化に大きな変化をもたらすと仮説を立て、マウス行動解析(学習記憶機能解析)、マウス用高分解能 MRI、機能的マンガン増強 MRI 法(ファンクショナル MRI)を用いた脳の機能的形態学的評価、脳の組織学的評価、および遺伝子発現変化を比較検討する事とする。

## 2. 研究の目的

本研究では、成長期からの咀嚼習慣(食べ物の硬さ)が脳の成長発育ならびに老化に大きな変化をもたらすと仮説を立て、マウス行動解析を用いた脳の機能的評価、脳の組織学的評価、および遺伝子発現変化について比較検討を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 行動実験による生理学的評価

3 週齢 C57BL 系マウス♂♀を用い実験群を、以下の 6 群 (各群 10 匹) に分類する。

**HDM)** 通常の硬い飼料を与えたオスマウス群

**HDF)** 通常の硬い飼料を与えたメスマウス群

**SDM)** 泥状の軟らかい飼料を与えたオスマウス群

**SDF)** 泥状の軟らかい飼料を与えたメスマウス群

**SHDM)** 泥状の軟らかい飼料を 4 週間与え、その後通常飼料に変更したオスマウス群

**SHDF)** 泥状の軟らかい飼料を 4 週間与え、その後通常飼料に変更したメスマウス群

上記のように分類したマウスを各群、以下 5 項目の行動実験を行った。

#### ①Home cage activity

#### ②驚愕反応

#### ③プレパルス抑制試験

#### ④Tail suspension

### (2)海馬におけるニューロジェネシスの評価

3 週齢 C57BL 系マウス♂♀を用い実験群を、以下の 10 群 (各群 5 匹) に分類する。

**HDM7W)** 通常の硬い飼料を 4 週間与えたオスマウス群

**HDF7W)** 通常の硬い飼料を 4 週間与えたメスマウス群

**SDM7W)** 泥状の軟らかい飼料を 4 週間与え

たオスマウス群

**SDF7W)** 泥状の軟らかい飼料を 4 週間与えたメスマウス群

**HDM14W)** 通常の硬い飼料を 11 週間与えたオスマウス群

**HDF14W)** 通常の硬い飼料を 11 週間与えたメスマウス群

**SDM14W)** 泥状の軟らかい飼料を 11 週間与えたオスマウス群

**SDF14W)** 泥状の軟らかい飼料を 11 週間与えたメスマウス群

**SHDM14W)** 泥状の軟らかい飼料を 4 週間与え、その後通常飼料に変更し 7 週間与えたオスマウス群

**SHDF14W)** 泥状の軟らかい飼料を 4 週間与え、その後通常飼料に変更し 7 週間与えたメスマウス群

上記のように分類したマウスを各群、以下の方法で海馬神経新生の評価を行った。

**BrdU 標識 (100mg/BWkg、4 時間おきに 3 回腹腔内注射)** を行ったマウス還流固定後、海馬を取り出し、サンプルを作成する (14  $\mu$  m 切片)。一次抗体として抗 BrdU 抗体、二次抗体として lexa fluor 488 goat anti-mouse IgG を使用し免疫染色を行う。一枚おきにスライド 20 枚を抜き出し、カウントを行う。

### (3)海馬、前頭葉皮質、頭頂葉皮質における遺伝子発現の比較

3 週齢 C57BL 系マウス♂♀を用い実験群を、(2)と同様に各群 10 群 (各群 3 匹) に分類する。

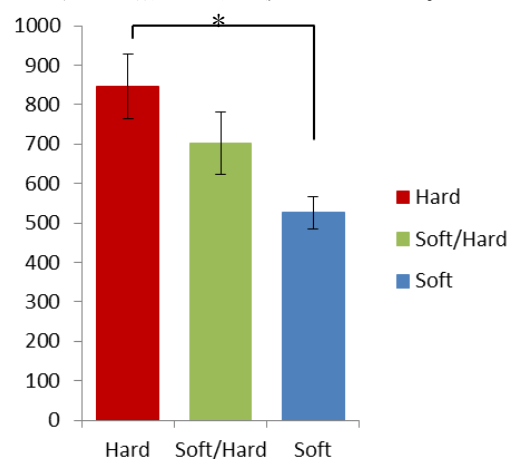
マイクロアレイを用い、行動実験で得られた生理学的評価と関連する遺伝子発現について比較検討する。

## 4. 研究成果

### (1) 行動実験の結果

#### ①Home cage activity

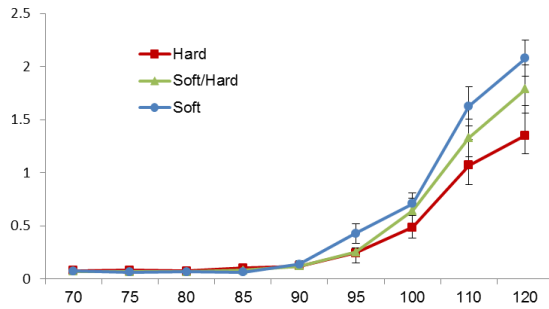
ホームケージ内の活動性は、固体の情動性など基本的な精神活動を反映している。



SDM は HDM に比べ有意に活動量の低下が認められた。(p<0.05)

②驚愕反応

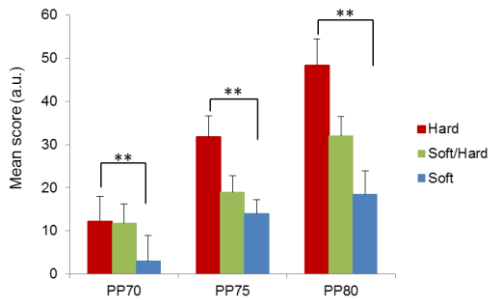
驚愕刺激に対する反応。音に対する驚愕反応においては、どのくらいの強さから驚くのか、また、同じ音においてどのくらい驚き方が異なるかを床に設置した重力センサーにて比較した。



聴覚刺激で誘発される驚愕反応に統計的な差は認められなかった。

③プレパルス抑制試験

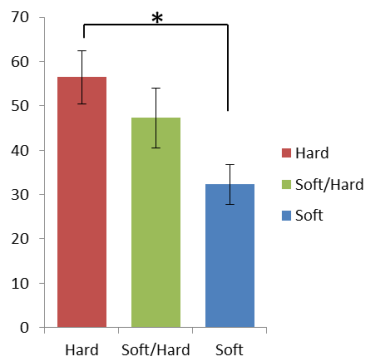
感覚フィルター機能を数値化し評価することができる生理学的検査。



SDM が HDM に比べ有意にプレパルス抑制試験の低下が認められた。(p<0.01)

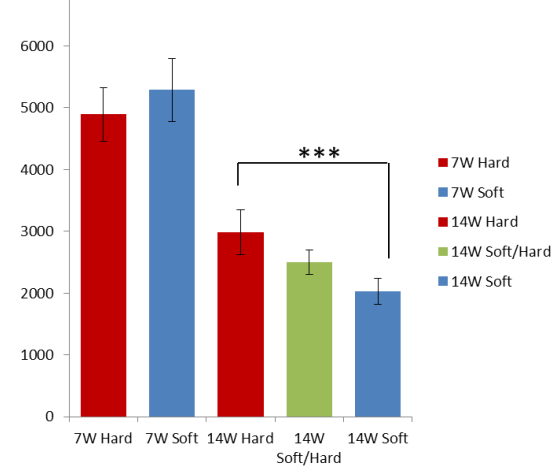
④Tail suspension

マウスの尾を粘着性テープにより、床から 30 cm の所に吊るす。そして、Image JTS (O' Hara, Tokyo, Japan) を使用し、5 分間、不動時間を計測し、全体の時間に対する割合で評価する。



SDM が HDM に比べ有意に無動時間の短縮が認められた。(p<0.05)

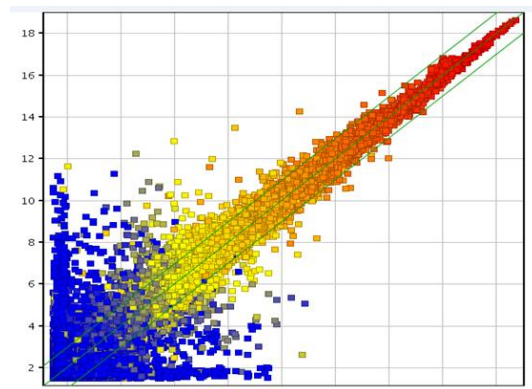
(2)海馬におけるニューロジェネシスの評価



SD14W が HDM14W に比べ、有意にニューロジェネシスの低下が認められた。(p<0.001)

(3)海馬、前頭葉皮質、頭頂葉皮質における遺伝子発現の比較

マイクロアレイを用い、各部位における遺伝子発現について包括的に比較検討を行った。



海馬において HDM14W に比べ SDM14W に顕著な遺伝子発現変化が認められた。

海馬、前頭葉皮質、頭頂葉皮質の3部位において、HDM14W に比べ SHDM14W に顕著な遺伝子発現変化が認められた。

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 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

① Kana Ishibashi-Nose, Junichi Watahiki, Motoko Maekawa\*, Akiko Watanabe\*, Akiko Enomoto, Tomoki Nanpo, Tomohiro Taguchi, Yuta Ichikawa, Miki Ono, Koutaro Maki  
Influence of Soft-diet Feeding on

Hippocampal Neurogenesis in Young Mice after Weaning.

昭和歯学会 2011年12月5日発表；東京

② Akiko Enomoto, Junichi Watahiki, Kana Nose, Tomoki Nampo, Yukio Matsuba, Takaomi Saidou, Takeo Yoshikawa, Youko Yamaguchi, Koutaro Maki. (以下省略全12名)

Soft-diet feeding might induce mental illness in young mouse after weaning.

40th international neuroscience winter conference 2011年4月1日発表；オーストリア・ゾールデン

③ 綿引淳一、榎本明子、野瀬佳奈、前川素子、南保友樹、田口智博、小野美樹、松葉由紀夫、西道隆臣、吉川武男、山口陽子、榎宏太郎

成長発育期の軟食は精神疾患の発症リスクを高める可能性がある。

第69回日本矯正歯科学会 2010年9月27日～29日発表；横浜

④ Junichi Watahiki, Akiko Enomoto, Kana Nose, Tomoki Nampo, Yukio Matsuba, Motoko Maekawa, Takeo Yoshikawa, Takaomi Saido, Yoko Yamaguchi, Koutaro Maki.

Soft-diet feeding reduces prepulse inhibition in young mice after weaning.

第33回日本神経科学学会 2010年9月2日～4日発表；神戸

〔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〕

① 綿引淳一、吉川武男、山口陽子、榎宏太郎

かまずに食べると孤独に？

2010年10月5日 朝日新聞朝刊科学欄

② 綿引淳一、榎本明子、野瀬佳奈、前川素子、西道隆臣、吉川武男、山口陽子、榎宏太郎 (以下省略全12名)

大学プレスセンターサイトへの掲載

幼少期の「食」の違いはその後の性格を変えるのか？ 2010年9月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

綿引 淳一 (WATAHIKI JUNICHI)

昭和大学・歯学部・兼任講師

研究者番号：60384351

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：