

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17046

研究課題名（和文）マウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝系に与える影響

研究課題名（英文）The effect of mastication on glucometabolism via vagus nerve in mice

研究代表者

菅 悠希 (Kan, Yuki)

北海道医療大学・歯学部・助教

研究者番号：20803620

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究はマウスc57BL/6Jを用いて咀嚼による迷走神経を介した分泌メカニズムの検討を行う。1. 健常マウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝系に与える影響2. 糖尿病モデルマウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝系に与える影響を測定した。健常マウスにおいてアディポネクチン濃度、ニューロペプチドY濃度、PEPCK濃度、膵β細胞面積で有意な差を認めしたが、レプチン濃度において有意な差を認めなかった。糖尿病モデルマウスにおいて同様の実験を行ったところレプチン濃度で有意な差を認めしたが、アディポネクチン濃度、ニューロペプチドY、膵β細胞面積において有意な差を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は咀嚼による迷走神経を介した分泌メカニズムの検討を行うことを目的として、その結果健常マウスにおいて咀嚼がアディポネクチンに影響を与えたこと、糖尿病モデルマウスにおいて咀嚼がレプチンに影響を与えたことを明らかとした。これらは咀嚼が糖代謝系に与える影響の一因であると考えられる。本研究の成果は糖尿病に対する咀嚼の効果の検証である。

研究成果の概要（英文）： This study aims to investigate the secretory mechanism mediated by vagus nerve through mastication using c57BL/6J mice. 1. The effect of mastication on glucometabolism via vagus nerve in mice. 2. The effect of mastication on glucometabolism via vagus nerve in diabetic model mice were measured. We found significant differences in neuropeptide Y concentration, PEPCK concentration, and pancreatic beta cell area in healthy mice, but no significant differences in leptin concentration. In diabetic model mice, significant differences were observed in leptin concentration, but not in adiponectin concentration, neuropeptide Y concentration, and pancreatic beta cell area.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：咀嚼 アディポネクチン レプチン

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、我が国の糖尿病患者数は急速な増加を示している。糖尿病は発症すると患者の QOL を低下させる。糖尿病の成因として、生活習慣がある。生活習慣の一つである食習慣は、カロリー摂取量、栄養の質など糖尿病に関わる種々の因子を含んでおり、咀嚼はそこに関わる重要な因子の一つである。咀嚼は栄養摂取行動の一部であるが、咀嚼は栄養摂取の補助的な役割にとどまらず、全身との関連性が多数報告されている<sup>1)</sup>。また、咀嚼が糖代謝に影響を与えることは多数報告されている。咀嚼が消化管ホルモン分泌を促進する作用はいくつか報告<sup>3-4)</sup>されており、またその経路の一つとして迷走神経に含まれる副交感神経を賦活させる経路が存在することが示唆されているが、未だ咀嚼と迷走神経の観点からの研究は多くない。

レプチンは、脂肪細胞から分泌される肥満遺伝子産物であり、食物調節中枢である視床下部に作用し、摂食行動抑制作用を示す。一方、この脂肪組織由来の情報は視床下部 自律神経系、内分泌を介して末梢のインスリン分泌に寄与している。咀嚼の研究ではこれまで咀嚼によりヒスタミン分泌が増進するとの報告<sup>5)</sup>がある。レプチンの分泌は視床下部におけるヒスタミン代謝の亢進に伴い増加し、分泌されたレプチンはインスリン分泌に影響を与える。本研究では、マウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝に与える影響として前述したレプチン、インスリン、分泌されたインスリンの機能調節を行う Phosphoenolpyruvate carboxykinase(PEPCK)、レプチンにより合成され、摂食中枢に密接に関るニューロペプチド Y の測定と、インスリン分泌細胞である膵細胞を測定することにより、咀嚼によるインスリン分泌のメカニズムの検討を行う。

### 2. 研究の目的

歯科領域と糖尿病との関連では、咀嚼をすることにより過食を防止し、生活習慣病の予防をすることができること、糖尿病患者では歯周病が悪化しやすいため、ケアが必要であることなど予防、疾患の悪化の防止などしか報告がない。本研究は、糖尿病に対する咀嚼の効果とそのメカニズムについて検証しようとしたものである。これらのことが証明されれば、咀嚼は糖尿病の予防のみならず、糖尿病に対する治療戦略の一つとして用いられることが考えられる。

### 3. 研究の方法

令和3年度 健常マウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝に与える影響

実験動物には雄性マウス c57BL/6J を用いる。マウスの固形飼料を摂取する群を咀嚼群、液体飼料を摂取する群を非咀嚼群と設定する。それぞれの飼料摂取 30 分後において、イソフルラン麻酔下で血液の採取、脳の摘出、膵臓の摘出、肝臓の摘出を行う。

・血液中の血糖値、レプチン、インスリン、およびニューロペプチド Y の分析

採取した血液を、血糖値測定器を用いて血糖値の測定後、得られた血液からレプチン、インスリン、およびニューロペプチド Y を ELISA 法にて測定する。

・膵臓の摘出 膵細胞の測定

摘出した膵臓から 5 $\mu$ m の薄切スライドを作製し、1次抗体として guinea pig anti Insulin antibody、2次抗体として Goat anti Rabbit Ig-Fab-Peroxidase Conjugate を反応させ、その後 DAB を添加し発色させる。染色された標本はデジタルカメラで撮影し、得られた画像から ImageJ を用いて、観察された膵島内の細胞面積の比較を行う。

・肝臓の摘出 PEPCK の測定

摘出した肝臓は伊藤らの方法<sup>7)</sup>に従い、ホモジナイズ後、遠心分離、上澄み液を抽出する。得られた上澄み液を反応液と混和し、30 5 分間インキュベート後、基質としてオキザロ酢酸 0.2ml を加えて 30 15 分間インキュベートし、生成された PEPCK を 340nm の波長で吸光度測定する。

令和4年度 糖尿病モデルマウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝系に与える影響

糖尿病モデルマウスは c57BL/6J 雄性マウスを HFD-60 固形飼料とエンシュアリキッドを用いて 12 週間飼育することにより作製する。飼育 12 週後に随時血糖値の測定と糖負荷試験を行い、その結果により糖尿病の判定を行う。作製した糖尿病モデルマウスから、固形飼料を摂取する群を DM 咀嚼群、液体飼料を用いて摂取する群を DM 非咀嚼群と設定し、上記の - の測定を行うことにより、糖尿病の治療法としての咀嚼の可能性を検討する。

### 4. 研究成果

本研究ではマウス c57BL/6J を用いて、咀嚼によるインスリン分泌における迷走神経の関係について、生化学的・組織学的に検討を行うことにより咀嚼による迷走神経を介したインスリン分泌メカニズムの検討を行う予定である。2年の研究期間で 1. 健常マウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝に与える影響 2. 糖尿病モデルマウスにおける迷走神経を介した咀嚼動態の相違が糖代謝系に与える影響を行った。

健常マウスにおいてニューロペプチド Y 濃度、インスリン濃度、PEPCK 濃度、膵ベータ細胞面積で有意な差を認めたとが(Mann-Whitney の U 検定、 $p < 0.05$ )、レプチン濃度において有意な差を認

めなかった。糖尿病モデルマウスにおいて同様の実験を行ったところレプチン濃度、インスリン濃度で有意な差を認めた(Mann-Whitney の U 検定、 $p < 0.05$ )が、アディポネクチン濃度、ニューロペプチド Y、膵β細胞面積において有意な差を認めなかった。

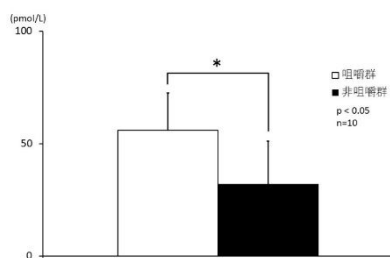


図1. 健常マウスにおける飼育開始12週後の血清中のアディポネクチン濃度

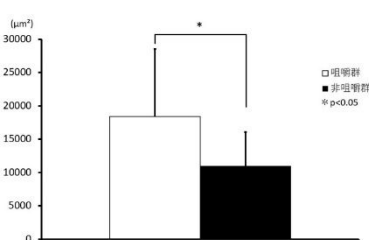


図2. 健常マウスにおける飼育開始12週後の膵島内のβ細胞面積の平均

糖尿病モデルマウスにおいて血清中のレプチン濃度と体脂肪率の間に有意な相関を認めること、肥満患者はレプチン分泌量が増加しているが、レプチン抵抗性によりレプチンが機能していないことが報告されていること、マウスを高脂肪食で3ヶ月間飼育するとレプチン抵抗性が発症することが報告されている。レプチン濃度において、非咀嚼群が咀嚼群よりも高い値を示していることから、糖尿病において、咀嚼することにより脂肪細胞が減少する可能性が示唆された。またアディポネクチン濃度において、本研究では糖尿病モデルマウスで咀嚼が影響を与えなかったと考えられる。健常マウスにおいて咀嚼がアディポネクチン分泌に影響を与えたことを報告した。アディポネクチンは内臓脂肪の蓄積により血中濃度が低下することが報告されている。糖尿病モデルマウスでは既に脂肪組織が蓄積しており、咀嚼では有意な差を与えなかったと考えられる。

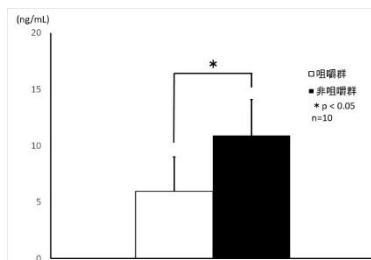


図4. 糖尿病モデルマウスにおける飼育開始12週後の血清中のレプチン濃度

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菅 悠希, 石川啓延, 豊下祥史, 横関健治, 高田紗理, 川西克弥, 古川祐三, 佐久間孝二, 寺澤秀朗, 越野 寿
2. 発表標題 糖尿病モデルマウスにおける咀嚼動態の相違がアディポサイトカインに与える影響
3. 学会等名 公益社団法人日本補綴歯科学会第132回学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅悠希, 石川啓延, 豊下祥史, 平塚翔太, 高田紗理, 佐々木みづほ, 川西克弥, 伊東由紀夫, 高崎英仁, 安斎隆, 越野寿
2. 発表標題 糖尿病モデルマウスにおける咀嚼動態の相違がPEPCKの不活化に与える影響
3. 学会等名 公益社団法人日本補綴歯科学会第131回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅悠希, 豊下祥史, 竹田洋輔, 佐々木みづほ, 川西克弥, 山口敏樹, 古川裕三, 寺澤秀郎, 越野寿
2. 発表標題 マウスにおける咀嚼動態の相違が糖代謝に与える影響
3. 学会等名 公益社団法人日本補綴歯科学会第130回学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------