

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：33703

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K21102

研究課題名（和文）歯の早期喪失がアルツハイマー病発症メカニズムに及ぼす影響について

研究課題名（英文）Effect of early tooth loss on the mechanism of Alzheimer's disease pathogenesis.

研究代表者

越智 鈴子 (Ochi, Suzuko)

朝日大学・歯学部・助教

研究者番号：70912591

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では第三世代ADモデルマウス（AppNL-G-F KIマウス）を用いて、AD発症の危険因子の一つである歯の早期喪失がAD発症メカニズムに及ぼす影響を明らかにする事を目的とし、ストレス状態、空間認知能、アミロイド班と神経炎症、タウタンパクのリン酸化、シナプトフィジン形成量の解析を行った。

結果として、歯の早期喪失が慢性的なストレス要因となり、ミクログリアとアストロサイトの動員を活性化し、炎症性サイトカインの分泌を増加させ、神経炎症、A $\beta$ 沈着、リン酸化タウ蛋白質を悪化させることで、ADモデルマウスのシナプス機能障害と空間学習障害が生じ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

超高齢社会である日本においてはもちろん、世界的にも認知症患者の人口の増加は大きな社会問題になっている。特にADは認知症患者の約7割を占める。ADは多因子疾患であり発症を予防するためにも発症の危険因子を把握するとともに改善することが大切である。

本研究では、第三世代ADモデルマウス（AppNL-G-F KIマウス）を用いて、歯の早期喪失がADの発症メカニズムに及ぼす影響を検討することにより、ADと歯の喪失が密接に関与することが明らかにできると考えられる。研究が達成されることにより、口腔健康が全身の疾患予防に重要であることが再認識され、学問的にもより注目されるきっかけになると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease. Many cohort studies indicate that tooth loss is a risk factor for AD. The detailed mechanisms underlying the association between AD and tooth loss, however, are not yet fully understood. The purpose of this study is to analyze (1) stress status, (2) spatial cognitive performance, (3) amyloid population and neuroinflammation, (4) tau protein phosphorylation, and (5) synaptophysin formation in a third-generation mouse model of AD (AppNL-G-F KI mice) to clarify how early tooth loss affects the mechanism of AD development.

The results of this study indicated that early tooth loss is a chronic stressor. Chronic stress induced by early tooth loss activated the mobilization of microglia and astrocytes, increased the secretion of inflammatory cytokines, and exacerbated neuroinflammation, A $\beta$  deposition, and phosphorylated tau protein, causing synaptic dysfunction and spatial learning deficits in AD model mice.

研究分野：歯の早期喪失

キーワード：Alzheimer's disease tooth loss amyloid- phosphorylated tau microglia astrocyte

## 1. 研究開始当初の背景

近年、高齢者の人口増加に伴い認知症は大きな社会問題になっており、2025年においては65歳以上の高齢者の5人に1人が認知症を発症すると予測されている。認知症は原因疾患別に分類した場合、アルツハイマー病（Alzheimer's Disease: AD）が認知症患者の約7割を占める（図1）。ADはその原因因子により、大きく家族性ADと遅発性ADの二つに分類され、ほとんどが遅発性ADである。

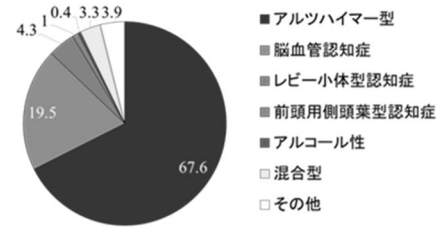


図1 認知症の原因疾患別分類

遅発性ADは、加齢や遺伝的要因、血管疾患、ストレス、生活習慣、歯牙喪失など多因子が関与するといわれている(Hampel H et al, Expert Rev Neurother. 2015)。現在、ADの根治的な治療方法は発見されておらず、そのほとんどが対症療法にとどまっている(Matthew B et al, Alzheimer's Dement. 2015)。

これはADの発症が長年にわたるアミロイドベータペプチド（Amyloid beta peptide: Aβ）の蓄積によるもの（アミロイドカスケード仮説より：図2）であり、発症時点で既に不可逆的な神経細胞死が認められ、根治的な治療が困難であるためと考えられる。AD患者の大半が遅発性ADであることから、修正可能な危険因子の改善を早期に行うことがADの予防に不可欠であるといわれている(Armstrong RA et al, Folia Neuropathol. 2019)。

これまで我々は、老化促進モデルマウス（SAM）P8を用いることにより、歯の早期喪失がマウスに与える影響を検討してきた(Kurahashi M et al, Tohoku J Exp Med. 2015. Kurata C et al, Pediatr Dent J. 2012. Kubo K et al, Neurosci Lett. 2007. Kondo H et al, Arch Oral Biol. 2016)。

しかしながら、ADとの関連性は解析していなかった。また、既存のADモデルマウスを用いた研究でも、歯の喪失がADに及ぼす影響について研究がなされているが、病理学的特徴であるアミロイド斑の形成などのAD発症メカニズムに及ぼす影響については明らかにされていない。

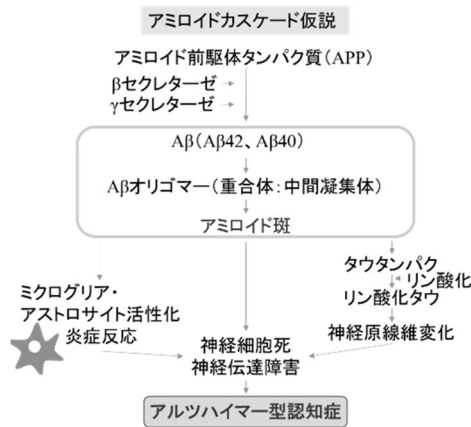


図2 アミロイドカスケード仮説

## 2. 研究の目的

本研究では、第三世代ADモデルマウス（*App<sup>NL-G-F</sup>* KIマウス）を用い、ADの主要因であるAβの蓄積開始前に歯を抜去することにより、歯の早期喪失がどのようにAD発症に関与するかを、ストレス状態、空間認知能、アミロイド斑とそれに伴う神経炎症、タウタンパクのリン酸化、シナプトフィジン形成量の解析を行うことにより、明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

理化学研究所より無償供与を受けた雄の*App<sup>NL-G-F</sup>* KIマウスを用いて行った。1か月齢において3種混合麻酔下で上顎両側臼歯部の抜歯を行った早期喪失群と抜歯を行わなかったコントロール群の2群に分類し、6か月齢まで通常飼育する。6か月齢で行動学試験および血液と脳のサンプル採取を行ない以下の解析項目を2群間で比較検討を行った。

### ストレス状態

心臓から採取した血液を用いて、血中コルチコステロン濃度（ng/ml）をELISA法により計測した。これによりマウスの生体におけるストレス負荷を測定した。

### 空間認知能

Morris水迷路学習テストを行い、1週間のプラットフォームへの到達時間を測定し、マウスの空間認知能を抽出した。

### アミロイド斑とそれに伴う神経炎症

脳薄切切片を作製し、Aβの特異抗体（82E1）、ミクログリアマーカー（Iba1）およびアストロサイトマーカー（Glial Fibrillary Acidic Protein: GFAP）を用いて、蛍光免疫三重染色を行い、海馬および大脳皮質におけるそれぞれの陽性面積の占有率（%）をImageJ®を用いて計測した。これによりアミロイド斑の蓄積に伴う神経炎症の発現量を抽出した。また、RT-PCR法を用いて、海馬および大脳皮質における神経炎症を誘発する炎症サイトカインであるIL-1β、TNF-αのmRNA発現量を抽出した。

### タウタンパクのリン酸化

ウエスタンブロット法を用いて、海馬および大脳皮質におけるリン酸化タウの発現量を抽出した。

#### シナプトフィジン形成量

ウエスタンブロット法を用いて、海馬および大脳皮質におけるシナプトフィジンの発現量の計測を行った。これによりシナプス形成量を抽出した。

上記解析項目に加え、2群間での平均寿命においても比較検討した。

#### 4. 研究成果

早期喪失群はコントロール群と比較し、血中コルチコステロン濃度の上昇、アミロイド斑とリン酸化タウタンパクの蓄積の増加、ミクログリアとアストロサイトの増加、炎症性サイトカインの増加、海馬と大脳皮質におけるシナプトフィジンの発現低下が認められた。Moriss 水迷路学習テストでは、早期喪失群はコントロール群と比較し、プラットフォームへの到達時間が有意に長くなった。さらに、早期喪失群の平均寿命はコントロール群と比較し有意に短くなった。

この結果は、早期の歯の喪失が慢性的なストレスとして作用し、コルチコステロンの過剰分泌を引き起こすことを示唆している。早期の歯の喪失は、アミロイド斑の形成に関与するミクログリアやアストロサイトに関連した神経炎症を引き起こし、認知障害を引き起こし、結果として *App*<sup>NL-G-F</sup> KI モデルマウスにおける AD の発症と進行を促進する可能性があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ochi Suzuko, Yamada Kumiko, Saito Takashi, Saido Takaomi C., Inuma Mitsuo, Azuma Kagaku, Kubo Kin-Ya	4. 巻 16
2. 論文標題 Effects of early tooth loss on chronic stress and progression of neuropathogenesis of Alzheimer's disease in adult Alzheimer's model AppNL-G-F mice	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1361847
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnagi.2024.1361847	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 越智鈴子, 梶本京子, 津金裕子, 斉藤貴志, 西道隆臣, 田村康夫, 飯沼光生, 齊藤一誠, 東 華岳, 久保金弥
2. 発表標題 Involvement of early tooth loss in the neuropathogenesis of Alzheimer's disease model mice
3. 学会等名 第29回国際小児歯科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 梶本京子, 越智鈴子, 津金裕子, 飯沼光生, 齊藤一誠, 東 華岳, 久保金弥
2. 発表標題 妊娠期ストレス中の母獣の顎運動が胎盤バリア機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第61回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 越智鈴子, 吉川英里, 鈴木あゆみ, 飯沼光生, 東華岳, 久保金弥
2. 発表標題 Effects of masticatory movements during prenatal stress on hippocampal dendrites
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 NEURO2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 越智鈴子, 吉川英里, 梶本京子, 津金裕子, 飯沼光生, 齊藤一誠, 東華岳, 久保金弥
2. 発表標題 歯の早期喪失がアルツハイマー病の発症に及ぼす影響 第三世代アルツハイマー病モデルマウスを用いて
3. 学会等名 第60回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梶本京子, 杉本勘太, 久田智詠, 越智鈴子, 津金裕子, 飯沼光生, 齊藤一誠, 東華岳, 久保金弥
2. 発表標題 母マウスの咀嚼運動が仔の海馬のミクログリアに及ぼす影響
3. 学会等名 第60回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 越智鈴子, 小倉英稔, 生野伸一, 井葉野夏実, 鈴木あゆみ, 飯沼光生, 齊藤一誠, 東華岳, 久保金弥
2. 発表標題 歯の早期喪失がアルツハイマー病の発症に及ぼす影響 : AppNL-G-F KIマウスでの解析
3. 学会等名 第59回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Suzuko Ochi, Takahashi Saitoh, Takaomi C. Saido, Mitsuo Inuma, Kagaku Azuma, Kin-ya Kubo
2. 発表標題 The potential role of early tooth loss in the pathogenesis of the App knock-in mouse model
3. 学会等名 第44回神経科学学会
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
---------	---------