

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26463088

研究課題名(和文)空間認知記憶能力と海馬神経細胞の再生を指標とする矯正治療最適時期の決定

研究課題名(英文) Spatial memory recognition and regeneration of hippocampal neurons as an indicator to determine optimum timing of orthodontic treatment.

研究代表者

石田 宝義 (ISHIDA, Takayoshi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：90549966

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、成長期に咀嚼に伴うメカニカルストレスが低下した咀嚼環境および咀嚼環境が阻害された咀嚼環境を作成し違いがあるのかを明らかにし、空間認知記憶能力と海馬神経細胞を指標に咀嚼環境の意義を明らかにすることを研究目的とした。12週齢にて記憶の形成に重要な役割を示す海馬を評価するため、通常に従い脳を固定、パラフィン包埋し、3ミクロン厚の海馬連続切片を作製後、組織学的に検討した。また記憶関連因子の一つであるNMDA受容体の免疫染色を行った。12週齢において両実験群における海馬の細胞密度は低下し、NMDR受容体については液状飼料群、咬合拳上群において、有意に密度の減少が認められた。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we clarified whether there are differences between the masticatory environment in which mechanical stress during mastication decreases in the growth period and the impaired masticatory environment created artificially. The aim of this study was to elucidate the significance of masticatory environment with spatial cognitive function and hippocampal neurons as an indicator.

The brain tissues were fixed with formalin and embedded in paraffin. The hippocampus tissue was sliced into 3µm thick continuous section and histological examination was performed. Immunohistochemical staining of NMDA receptors, an important factor for controlling memory function, was also performed. We found a significant reduction of hippocampal neuronal density in both two experimental groups at 12 weeks old. The density of NMDA receptors was significantly decreased in both liquid-diet group and bite-raised group.

研究分野：矯正

キーワード：空間認知 咀嚼環境

1. 研究開始当初の背景

我が国では人口の超高齢化に伴い、高齢者の認知症が大きな社会問題として注目されている。我が国の認知症患者はごく軽度のもを含めると約 200 万人いると報告されており、さらに増加の一途をたどっている。また、近年注目を浴びているのが若年性の認知症であり、老若の世代を問わず認知記憶に関して深い関心が持たれている。認知症の寄与因子として加齢、性、遺伝、環境、生活習慣などが知られている。

歯科の領域においても高齢者認知症患者には残存歯が少ないことから、咀嚼に付随するメカニカルストレスと空間認知記憶能力に関する研究が広く行われ、不適切な咀嚼環境が空間認知記憶能力の低下、および脳細胞への悪影響を惹起するとの報告がなされてきた。しかし成長期に関する報告は少なかった。

成長期において不正咬合のような、適切な咬合刺激が発揮されない咀嚼環境を、是正すべきか否か、また治療最適時期はいつかという議論は古くから行われてきた。またさらに治療による機能回復の可能性の有無、治療最適時期を明らかにするため、咀嚼環境を整える時期を変化させることで同様に評価し、その結果、口腔内末梢受容器において、成長期早期(上下顎骨成長期)に咀嚼環境を整えることで、一度変性した口腔内末梢受容器の機能も再生しうることを発見した。

前回の科研よりそのターゲットを口腔内末梢受容器から中枢に移し、成長期咀嚼環境が空間認知記憶能力に与える影響を調べた。その結果空間認知記憶の低下を惹起すること、空間認知記憶に重要な器官である海馬(CA1, CA3, DG 領域)が変性し、シナプス間隙における変性を発見し、報告した。哺乳類において多くの脳細胞は生前に形成され、海馬においても同様である。さらに、加齢、ストレス、血流、ホルモンなど様々な因子により

海馬のニューロンが変性するとの報告が多数なされてきた。一度変性した脳細胞の再生は難しく脳梗塞モデルにおいてはCA1領域において胎児中脳細胞の移植や細胞性因子投与など限られた方法でのみ再生が認められることから生後は一端神経変性すると外的な補助を加えなければ再生は難しい。

2. 研究の目的

本研究では、成長期に咀嚼に伴うメカニカルストレスが低下した咀嚼環境および咀嚼環境が阻害された咀嚼環境を作成し違いがあるのかを明らかにし、空間認知記憶能力と海馬神経細胞を指標に咀嚼環境の意義を明らかにすることを研究目的とした。

申請者らは成長期不正咬合の病態を明らかにするため、口腔内末梢受容器を中心に神経生理学的手法を用い評価し、その結果口腔内末梢受容器が機能変性することを報告してきた。

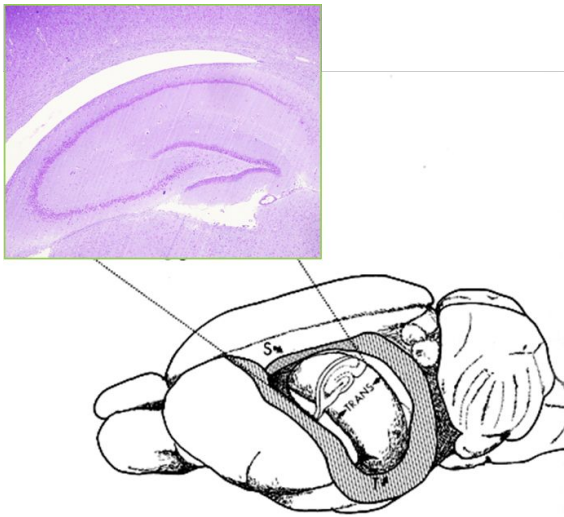
3. 研究の方法

離乳直後(3週齢)のWistar系雄性ラット(n=4)を、固形飼料飼育群(対照群:n=4)、液状飼料飼育群(実験群 1:n=4)、咬合拳上群(実験群 2:n=4)の3群に分け飼育し8方向放射状迷路を用いて記憶学習能力を評価した。4週齢にて装置に対する馴化を行い、5、6、7、8、9、10、11週齢にて報酬位置固定型課題(Fixed-position reward task; FPRT)を行う。ビデオキャプチャリングシステムにて記録し、行動解析を行った。解析項目として、短期記憶を示す作業記憶エラー、長期記憶を示す参照記憶エラーおよび包括的記憶を示す正選択数を設定した。行動実験終了後12週齢にて記憶の形成に重要な役割を示す海馬を評価するため、通法に従い脳を固定、パラフィン包埋し、3ミクロン厚の海馬連続切片を作製後、組織学的に検討した。また記憶関連因子の一つであるNMDA受容体の免疫染色を行った。

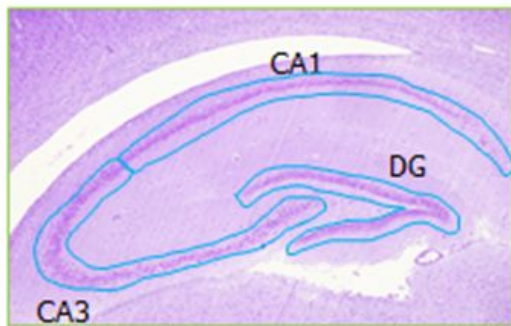
CA1、CA3、DG の神経細胞数、密度を 3 次元的に計測する。

組織学的解析

Nissl 染色



領域



免疫染色



8 方向放射状迷路

行動学的解析(set-up)

8 方向放射状迷路

装置馴化・・・5日間 (1回/日)

- ①10分間・1ケージ毎×2日間
迷宮装置に馴化する
- ②10分間・1匹ずつ×3日間
アームの先端に報酬があることに馴化

テスト試行・・・FPR (fixed-position reward) 課題(1回/週)

毎回同じ4本にのみ報酬を置き、報酬のあるアームを学習させる課題
報酬をすべて獲得するか、10分経過するまで記録する

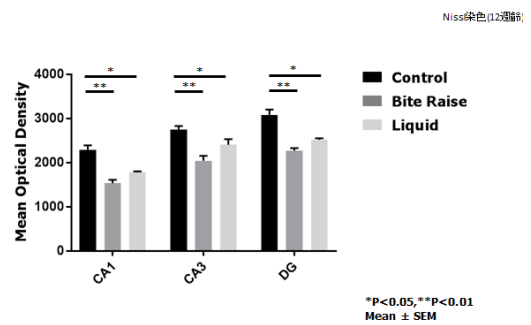
行動学的解析(記録)

ビデオキャプチャリングシステム

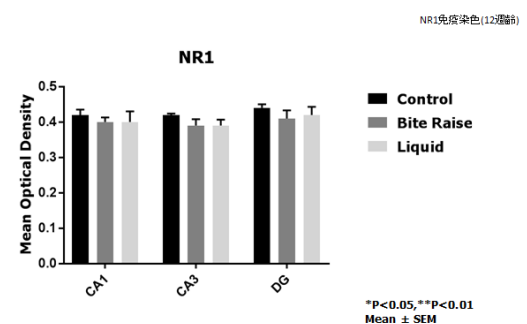
- ①作業記憶エラー (Working memory error)
試行内に一度既に進入したアームに再び進入した回数
- ②参照記憶エラー (Reference memory error)
報酬の置かれていないアームを選択した回数
- ③正選択数 (Correct choice)
初めの4回の選択のうち、報酬のあるアームを選択した回数

4 . 研究成果

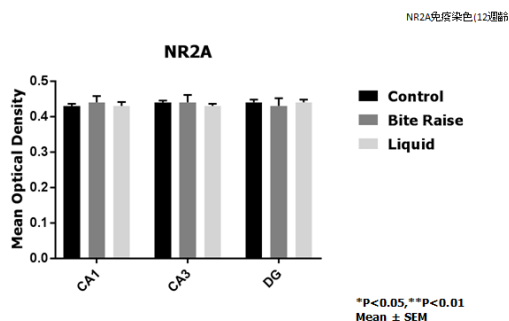
Nissl 染色



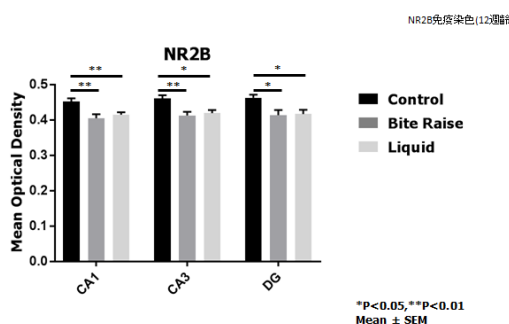
NR1



NR2A



NR2B



12 週齢において両実験群における海馬の細胞密度は低下し、NMDR 受容体(NR2B)については液状飼料群、咬合拳上群において、有意に密度の減少が認められた。

NR1 および NR2A においては有意に密度の減少が認められなかった。

成長期における咀嚼環境が 12 週齢において阻害されると空間認知記憶を司る重要器官の一つである海馬において細胞の局在が変化する。

今後は、8 方向放射状迷路だけではなく、さらに行動生理学的な手法、解析を増やし解析を行う必要があると考えられる。

成長期における咀嚼環境が海馬神経組織に偏性を引き起こすことが示された。

よって成長期早期に咀嚼環境を適切な環境へ改善することが重要であると考えられる。

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 0 件)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 宝義 (ISHIDA, Takayoshi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号: 90549966

(2) 研究分担者

小野 卓史 (ONO, Takashi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号: 30221857

清水 康広 (SHIMIZU, Yasuhiro)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号: 60631968