

## 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 5 月 18 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390521

研究課題名（和文）咀嚼機能が脳梗塞後遺障害の回復に及ぼす影響

研究課題名（英文）The effect of recovery from residual disability after cerebral infarct induced masticatory ability.

研究代表者

越野 寿 (KOSHINO HISASHI)

北海道医療大学・歯学部・教授

研究者番号：90186669

研究成果の概要（和文）：

本研究では、咀嚼機能が脳梗塞の後遺障害の改善に有効か否かを検討するため、脳梗塞モデルラットを人工的に作製し、咀嚼動態を変化させることによる影響を行動科学および免疫組織学的に検討した。

本研究の結果より、固形飼料飼育による咀嚼機能の促進は、脳機能に与える脳梗塞後遺障害のうち、短期記憶障害の回復に有効であり、代償性機能を向上させる役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We investigated whether solid feeding or liquid feeding was associated with functional recovery from learning/memory dysfunction, induced by cerebral infarction, among infarct model rats. In solid feed group, short term memory was recovered, and then expression of neurotrophin and promotion of proliferation were detected in hippocampus of unaffected side. This study suggests that the mastication required by a solid diet could contribute to the rehabilitation of short term memory dysfunction.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2010 年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2011 年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：歯科補綴学一般、咬合、咀嚼、糖代謝、脳梗塞、モデルラット、学習記憶機能、Y-maze 試験、咀嚼機能、組織学的検討

## 1、研究開始当初の背景

高齢者が質の高い生活（QOL）を送るためには、なるべく自立した生活を確保し、自らの持てる力を維持・回復することが必要であるとされており、適正な咀嚼機能を含む顎口腔系機能の維持・回復を目的とする歯科補

綴学と、この学理に則った補綴歯科治療、特に義歯補綴治療の役割はさらに重要性を増すと考えられる。本講座では、これまでに高週齢ラットにおける臼歯切除とそれに伴う粉末飼料飼育が脳皮質や海馬におけるアセチルコリンやドーパミンのニューロン数

の減少や濃度の低下を惹起すること、さらに記憶保持能力を低下させることを免疫組織化学的・生化学的手法や行動学実験によって確認し、咀嚼機能と全身の健康との関連性を示唆する論文が多数報告されてきている。

既に「超高齢社会」へ突入したわが国において、高齢者が要介護状態に陥る原因となりうる重篤な疾患の一つに脳卒中がある。リハビリテーション分野においては、急性期を外科処置後の数日間ととらえ、術後可及的に早期の段階での経口摂食が望ましいリハビリテーション効果をもたらすことが示唆されている。しかしながら、その効果や回復過程についての詳細は明らかとなっていない。

咀嚼機能が脳機能を賦活化する可能性が示唆されていることから、脳梗塞後の回復過程への建設的な作用を有するか否かを検討する価値があると考えられる。

## 2、研究の目的

本研究の目的は、積極的な咀嚼機能が脳梗塞の後遺障害の回復過程に及ぼす影響を検討することである。

脳梗塞による後遺障害の改善を目的とした歯科界初の実験系であり、安定した症状を呈する脳梗塞モデルラットの製作が不可欠である。

本研究では、脳梗塞の後遺障害の改善を定量的に評価するためのパラメータとして、感覚運動能および学習記憶能について検討し、さらに脳の組織学的、生化学的、免疫学的検討を進める。これらを検討することで、咀嚼機能が脳梗塞の後遺障害の回復に及ぼすメカニズムを解明する。

## 3、研究の方法

### (1) 脳梗塞モデルラットの作製

Longaらの方法(1989)に従い、右側中大脳動脈を永久的に梗塞するPermanent Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO)手術を行う。

### (2) 飼育条件の設定および体重変化

脳梗塞の術後2週間が経過した時点で飼料変更を行い、固形飼育飼料を給餌するMCAO固形群、引き続き液体飼料を給餌するMCAO液体群および偽手術後に固形飼料を給餌するSham固形群、引き続き液体飼料を給餌するSham液体群の4群を設定する。

術後2週間は栄養状態の改善のため、液体飼育飼料を与え、その後、固形飼育飼料および液体飼育飼料を与える。

### (3) 感覚運動能評価および学習行動評価

感覚運動能としてLimb Placement Test、学習記憶能力の長期記憶の評価として受動的回避学習試験、短期記憶の評価としてY-maze試験を設定し、飼料変更後5週目から開始する。

### (4) 脳の組織学的、生化学的、免疫学的検討

免疫組織化学的検討においては、海馬歯状回における細胞増殖活性を評価するため5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 標識細胞の検索を行う。さらに、脳内のBDNF遺伝子発現量をmRNA発現量から定量的に評価する。

また、脳梗塞体積についてはTTC (2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride) 染色を行って評価する。

## 4、研究成果

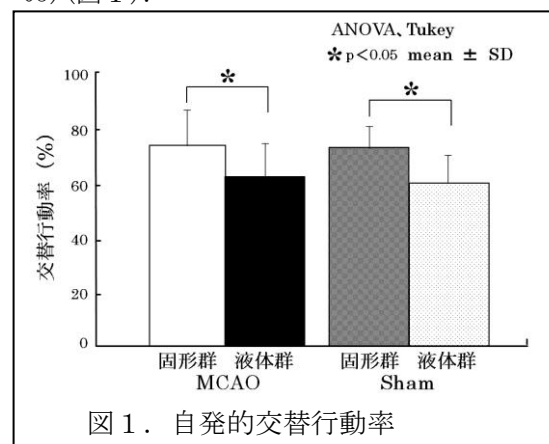
(1) 脳梗塞モデルラットは安定的に作製することが可能となり、研究を遂行するのに、必要最低限の条件が確立できた。

(2) MCAO手術後は一時的な体重減少が認められたが、MCAO後1週目よりわずかながら回復傾向が認められた。飼料変更後、MCAO固形群は再び体重が減少したが、飼料変更1週目からは、再び増加傾向を示し、術後6週目までは4群すべてにおいて増加傾向を示した。

### (3) 感覚運動能

MCAO手術後は感覚運動能の大幅な低下が認められたが、その後、緩やかな回復傾向が認められた。また、術後4週目において、MCAO固形群はMCAO液体群と比較して有意に高い値が認められた。

Y字型迷路試験の総アーム進入回数では、MCAO固形群とSham両群との間、またMCAO液体群とSham両群との間に有意な差が認められた( $p < 0.05$ )。また、自発的交替行動率では、MCAO固形群はMCAO液体群と比較して有意に高い値が認められた( $p < 0.05$ )。Sham群においても同様の結果が得られた( $p < 0.05$ ) (図1)。



### (4) 脳内におけるBDNF遺伝子の相対的発現量の変化

脳組織を健常側と梗塞側の2つに分割し、健常側におけるBDNF遺伝子の相対的発現量をMCAO液体群とMCAO固形群との間で比較したところMCAO固形群において有意に高い値が認められた( $p < 0.05$ )。しかしながら、梗

塞側においては、両群間に有意な差は認められなかった。さらに、各群における健常側と梗塞側との間で比較したところ、MCAO 固形群においては梗塞側に比較して健常側で有意に高い値が認められた ( $p < 0.05$ )。

海馬歯状回における細胞増殖能の変化については、脳組織を健常側と梗塞側の2つに分割し、健常側における BrdU 標識細胞率を MCAO 両群間で比較したところ、MCAO 液体群に比して MCAO 固形群で有意に高い値が認められた ( $p < 0.05$ )。また、各群における健常側と梗塞側との間で比較したところ、MCAO 固形群においては梗塞側に比較して健常側で高い傾向が認められた (図2、3)。

前頭断切片の TTC 染色の結果から、MCAO 両群において、右側大脳半球の大脳皮質および線条体に梗塞巣が確認された。一方、海馬での梗塞は認められなかった、梗塞部の体積の平均値については、MCAO 両群間に有意差は認められなかった。

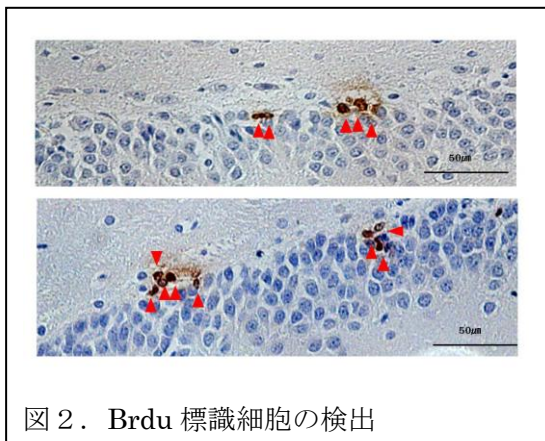


図2. Brdu 標識細胞の検出

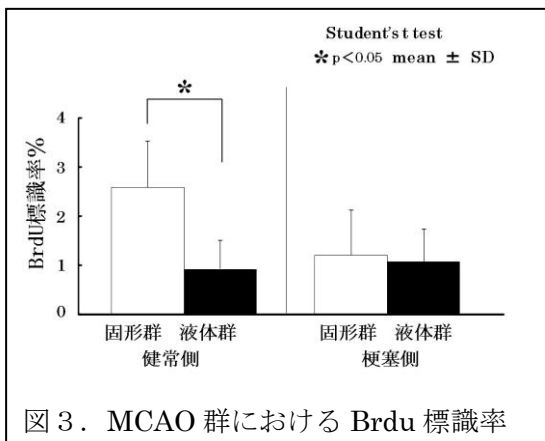


図3. MCAO 群における Brdu 標識率

## 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6件)

①Moriya S, Tei K, Toyoshita Y, Koshino H, Inoue N, Miura H, Relationship between

periodontal status and intellectual function among community-dwelling elderly persons, Gerodontology, 2011, in press,

②豊下祥史、会田康史、額 諭史、川西克弥、會田英紀、池田和博、守屋信吾、越野 寿、特定高齢者候補者の咀嚼機能と基本チェックリストの各因子との相関、日本補綴歯科学会誌、査読有、4 (1)、2011、49-58、

③Kawanishi K、Koshino H、Toyoshita Y、Tanaka M、Hirai T、Effect of Mastication on Functional Recoveries after Permanent Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats, Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases、査読有、19、2010、398-403、

④Hirai T、Kang Y、Koshino H、Kawanishi K、Toyoshita Y、Ikeda Y、Saito M、Occlusal-masticatory function and learning and memory: Immunohistochemical, biochemical, behavioral and electrophysiological studies in rats, Japanese Dental Science Review、査読有、46、2010、143-149、

⑤平井敏博、越野 寿、池田和博、川西克弥、噛むことと健康・長寿—高齢者の咀嚼を考える—、北海道歯科医師会雑誌、査読無、65、2010、15-29、

⑥越野 寿、川西克弥、平井敏博、咀嚼が脳梗塞モデルラットの学習・記憶機能の回復に及ぼす影響、文部科学省 私立大学学術研究高度化推進事業 ハイテク・リサーチ・センター整備事業 平成20年度研究成果報告書、査読無、2009、32-33、

[学会発表] (計10件)

①佐々木みづほ、豊下祥史、渡部真也、川西克弥、會田英紀、橋川美子、小西洋次、伊東由紀夫、越野 寿、平井敏博、脳梗塞モデルラットにおける神経栄養因子発現への咀嚼の効果、日本補綴歯科学会第120回記念学術大会、2011、5、広島

②佐々木みづほ、豊下祥史、川西克弥、河野舞、會田英紀、越野 寿、脳梗塞モデルラットにおける後遺障害の回復に咀嚼が及ぼす影響、口腔先端応用医科学研究会第3回学術会議、2011、1、東京

③佐々木みづほ、豊下祥史、川西克弥、會田英紀、越野 寿、平井敏博、脳梗塞モデルラットにおける短期および長期記憶の形成に咀嚼が及ぼす影響、第21回日本咀嚼学会学術大会、2010、10、東京

④Sasaki M, Kawanishi K, Toyoshita Y, Aita H, Koshino H, Hirai T, Mastication Accelerates Rehabilitation of Brain Function after Cerebral Infarction, IADR 88th General Session, 2010, 7, Barcelona

⑤佐々木みづほ、川西克弥、越野 寿、豊下祥史、會田英紀、平井敏博、咀嚼の学習・記憶障害の回復へ対する効果 - 脳梗塞モデルラットの観察から -、第 20 回日本咀嚼学会学術大会、2009、10、福岡

⑥Toyoshita Y, Kawanishi K, Koshino H, Hirai T, Mastication Promotes Recovery Of Memory And Learning Dysfunction By Middle Cerebral Artery Occlusion In Rats, ICP 13th Biennial Meeting, 2009, 9, Cape Town

⑦川西克弥、越野 寿、豊下祥史、佐々木みづほ、會田英紀、平井敏博、咀嚼機能が脳梗塞発症後の経過に及ぼす影響、第 20 回日本老年歯科医学会学術大会、2009、6、横浜

⑧川西克弥、越野 寿、豊下祥史、佐々木みづほ、平井敏博、咀嚼機能が脳梗塞モデルラットの学習・記憶機能の回復に及ぼす影響、第 118 回日本歯科補綴学会学術大会、2009、6、京都

⑨Kawanishi K, Koshino H, Toyoshita Y, Aita H, Hirai T, Effect of Mastication on Functional Recoveries after the Permanent Middle Cerebral Artery Occlusion Using the Intraluminal Suture Technique in Rat, The 6th Meeting of Asisn Academy of Prosthodontics(AAP), 2009, 4, Seoul

⑩佐々木みづほ、越野 寿、川西克弥、豊下祥史、鈴木裕仁、岩崎一生、平井敏博、咀嚼機能に関する研究のための「一過性脳梗塞モデルラット」の作製、北海道医療大学歯学会第 27 回学術大会、2009、3、札幌

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

## 6、研究組織

### (1) 研究代表者

越野 寿 (HISASHI KOSHINO)  
北海道医療大学・歯学部・教授  
研究者番号：90186669

### (2) 研究分担者

平井 敏博 (TOSHIHIRO HIRAI)  
北海道医療大学・個体差医療科学センター・教授  
研究者番号：80014273

會田 英紀 (HIDEKI AITA)  
北海道医療大学・歯学部・准教授  
研究者番号：10301011

豊下 祥史 (YOSHIFUMI TOYOSHITA)  
北海道医療大学・歯学部・講師  
研究者番号：20399900

川西 克弥 (KATSUYA KAWANISHI)  
北海道医療大学・歯学部・助教  
研究者番号：10438377

河野 舞 (MAI KONO)  
北海道医療大学・歯学部・助教  
研究者番号：90586926

### (3) 連携研究者

なし