

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14731

研究課題名(和文)咀嚼による肝臓・消化器機能の制御と生活習慣病予防に関する分子栄養学

研究課題名(英文)Effect of chewing on lipid metabolism in rat liver and small intestine

研究代表者

小田 裕昭(Oda, Hiroaki)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：20204208

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：現代社会において、咀嚼の回数が大きく減少し、咀嚼の低下が健康状態を悪化させることが経験的に知られている。しかし、動物実験モデルが存在しないため、体の中で何が起きているかなど分子生物学的研究は全くされていない。私たちは、ラットにヒトの仮歯用の樹脂により前歯を固める方法により咀嚼抑制動物モデルを初めて開発した。本研究では、咀嚼における歯、筋肉の機械的運動だけでなく、成長因子を含有する唾液に注目して、咀嚼の栄養学的意義を明らかにする。咀嚼によって制御される肝臓・消化管の細胞増殖能や脂質代謝の悪化を遺伝子レベルで解析して、本咀嚼抑制動物モデルを確立する。

研究成果の概要(英文)：It has been known that the number of chewing decreases greatly in modern society, and the decrease in chewing is thought to exacerbate our health condition. Because there is no animal experiment model, no molecular biological research such as what is happening in the body has been done at all. We developed for the first time a chewing suppression animal model by a method of covering anterior teeth with a resin for human temporary teeth in rats. In this study, we focus on not only the mechanical movement of teeth and muscles in mastication but also saliva containing growth factors, and clarify the nutritional significance of chewing. We analyze the cell proliferative capacity and the deterioration of lipid metabolism in the liver/gastrointestinal tract controlled by chewing at the molecular level to establish this chewing suppression animal model.

研究分野：分子栄養学

キーワード：咀嚼 生活習慣病 肝機能 脂質代謝 消化器機能

1. 研究開始当初の背景

現代社会において、咀嚼の回数が大きく減少し、咀嚼の低下が健康状態を悪化させることが経験的に知られている。例えば、咀嚼が神経系を介して脳を刺激して、認知症を予防する可能性がある。また、スポーツ選手では、咀嚼は集中力を高めると考えられている。

ヒトでは、特に高齢者において歯を失うことや嚥下障害がその人の健康を大きく損なうことが分かっていた。このような人では、経口摂取が劇的に患者を元気にする。ところが、そのメカニズムは全くわかっていない。一方実験動物では、ラットの奥歯を全部抜く方法が咀嚼の影響を検討する実験方法として考案されているが、ラットに対するストレスが大きく、手術は決して容易ではない。つまり、動物を用いた場合でも咀嚼検討動物モデルは皆無であった。

私は、ラットにヒトの仮歯用の樹脂により前歯を固める方法により咀嚼抑制動物モデルを初めて開発した。咀嚼抑制動物モデルの確立は、咀嚼の代謝へ与えるメカニズムを生化学的、分子生物学的研究を可能にし、始めて、咀嚼行動を分子レベルで語る事ができる。そして、「食べ方」の分子栄養学が確立できる。

2. 研究の目的

研究では、咀嚼における歯、筋肉の機械的運動だけでなく、成長因子を含有する唾液に注目して、咀嚼の栄養学的意義を明らかにする。咀嚼によって制御される肝臓・消化管の細胞増殖能や脂質代謝の悪化を遺伝子レベルで解析して、本咀嚼抑制動物モデルを確立する。そして本研究を通して、よりよい咀嚼を実現する健康的な食べ方の提案と食品成分の物性などを提案できると考えている。また、咀嚼の制御により若年、中高年の人では生活習慣病予防が期待できる。さらに高齢者には「生活の質 (QOL)」の改善と健康寿命の延長を目指して、咀嚼の重要性を明らかにする。

3. 研究の方法

ヒトの歯科用の仮歯樹脂で前歯を固める方法で、ラットに大きなストレスなく咀嚼を抑制することが可能になった。この咀嚼抑制動物モデルでは臼歯で咀嚼ができないが、同じ量の粉末飼料食することができ、ストレスがほとんどない。本モデルを用いることで咀嚼の生化学、分子生物学的メカニズム解析が可能になる。咀嚼の効果のうち、唾液の効果に焦点をあてるため唾液腺の切除術も行った。この場合には仮歯樹脂による咀嚼抑制はせずに行った。今回の研究では予備実験にとどまり、結果を出すところまで行かなかったが、今後検討を行っていく。

この咀嚼抑制モデルを用いて、高コレステロール食、生体異物食、急性アルコール障害を与え、血清脂質ならびに肝臓遺伝子発現を検討する。

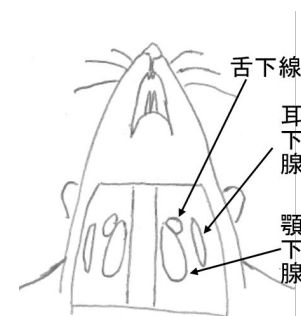
血清脂質ならびに血清酵素活性は、市販のキットを用いた。肝臓と精巣上体脂肪組織から RNA を抽出し、RNA アナライザーを用いてその質を検討した後、リアルタイム PCR 法により mRNA 量を検討した。



左図：正常ラットの前歯 中央図、右図：上下の前歯を固め、奥歯（臼歯）でかめない咀嚼抑制ラットモデル（粉末食をなめるようにして食べる）



左図：横からからの写真、奥歯（臼歯）ではかめない。前歯ではかめても、奥歯でかむことができない。右図：ラットの奥歯。舌の奥に見える。上前歯のみ固定されている。



唾液腺の場所の概略図

4. 研究成果

先ず初年度にこの咀嚼抑制ラットを用いて、マイルドな肝障害を与え、咀嚼が及ぼす影響を検討した。マイルドな肝障害を起こす目的で食餌に生体異物であるクロレトンを

加えた。クロレトンは、防腐剤として用いられる薬剤であるが、ラット肝臓でCYP2B1/2B2などの薬物代謝第1相を誘導することが知られている。そのため、肝臓に脂質が蓄積し、マイルドではあるが、ALT、ASTの活性が上昇して、肝障害を誘導する。これまでの研究で十分肝障害が起きる濃度であったが、本実験では薬物性肝障害が起きなかった。そのため、次年度に咀嚼制御をしていない動物でクロレトンによる薬物性肝障害を再度確認した。つまり、クロレトン自身が効かなかったためではないと考えた。先の実験において、肝障害が起きなかった原因は不明であるが、咀嚼抑制のための処置と関係があるかもしれないため、次の咀嚼抑制の実験ではクロレトンの濃度を増加させることにした。

次に胃上皮細胞ならびに肝細胞への障害を与える目的で、アルコール性肝障害モデルを用いた。アルコール性肝障害モデルには、慢性肝障害モデルと急性肝障害モデルがあるが、慢性アルコール性肝障害モデルは作製が必ずしも容易ではないことなどの理由から、本研究では、ゾンデを用いて投与する急性アルコール性肝障害モデルを用いた。急性アルコール性肝障害をラットに起こそうとした場合、必ずしも肝障害が起きないことも知られている。これまで経験でラットの系統が重要であるため、いくつかの系統を用いて急性アルコール投与を行った。そうしたところドンリュウラットで顕著な影響が観察された。そのためドンリュウラットを用いて、咀嚼抑制をして飼育したドンリュウラットに急性アルコール毒性を確認することとした。

実験計画の時点では、アルコール性胃潰瘍モデルラットを用いて行う予定であったが、今回そこまで行くことはできなかった。

最後に、咀嚼抑制モデルラットに高コレステロール食を与えて血清脂質代謝を検討した。予備実験で観察されていたように咀嚼の抑制によって、血清コレステロール濃度の増加傾向が観察された。一方、血清中性脂肪濃度、血清グルコース濃度は、咀嚼抑制群で低下傾向が見られた。そのラットの肝臓からRNAを抽出してコレステロール代謝関連遺伝子に与える影響を検討した。一般に血清コレステロール濃度が上昇した場合、肝臓コレステロール異化代謝が抑制されることが多い。しかし今回の実験では、肝臓CYP7A1、CYP8B1などの遺伝子発現はむしろ咀嚼抑制群で増加傾向が見られた。つまり、本咀嚼抑制モデルで見られる血清コレステロール濃度の増加はコレステロール異化代謝の阻害によるものでないことが分かった。肝臓における脂肪酸合成系酵素の遺伝子発現を検討したところ、咀嚼抑制群で影響は見られなかった。一方、解糖系酵素の遺伝子発現は咀嚼抑制群で低下していた。また、糖新生系酵素の遺伝

子発現は影響を受けていなかった。

咀嚼抑制ラットの精巣上体脂肪組織からRNAを抽出し遺伝子発現についても検討を行った。脂肪酸合成系酵素の遺伝子発現には影響がなかった。一方、アディポネクチン遺伝子発現はむしろ咀嚼抑制群で増加していた。この増加をどのように解釈するかについては今後の検討が必要であるが、精巣上体脂肪組織重量が咀嚼抑制群で有意に低下していたことが原因ではないかと推測している。むしろ、咀嚼抑制群で精巣上体脂肪組織の重量がなぜ低下したのかが今後の課題である。これは、他の臓器、たとえば肝臓重量には影響は見られていないので、脂肪組織に特異的に現れた現象である。

本件研究で、私たちは新たに咀嚼抑制ラットモデルを開発した。ここまでの研究は、必ずしも順調ではないが、一定の成果を得てきた。しかし、今回研究を進める中で、本咀嚼抑制モデルラットの問題点も明らかになってきた。ヒトの前歯と異なり、ラットの前歯は固いものを噛むことを前提としているため、通常削れても良いように少しずつ成長するようになっている。したがって、仮歯樹脂で固定すると削れないまま前歯が成長することになり、だんだん長くなっていくってしまう。そこまでは推測の範囲であったが、長期の実験をすると長くなった前歯に圧力がかかると折れることが一定の頻度であることが分かった。これにより、ラットはまた咀嚼ができるようになってしまい当初の目的が果たせなくなることが分かった。このため、折れた前歯に改めて仮歯樹脂で固定することが必要になった。さらに、前歯が折れることと再度仮歯樹脂で固定することがストレスとなり、一過性に体重減少が起きることも大きな問題であった。体重減少は、食餌摂取量の減少が大きな原因であるため脂質代謝は大きく動いてしまい、研究目的が果たせなくなる重大な問題であることが分かった。今後の対策として、定期的に前歯の先端をヤスリ等で削る必要があるかもしれない。

今後この咀嚼抑制モデル動物を用いて、まだ途中になっている、肝障害、消化器障害に与える影響を検討する必要がある。咀嚼にはそれぞれの負荷への抵抗作用があると推測しているので、それを検討していく。つまり咀嚼は、肝臓を含めた消化器系の、特に上皮細胞の機能を密接に関わっていると考えられるため、咀嚼のもつ一般的効力を明らかにしていく予定である。

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)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小田裕昭 (ODA, Hiroaki)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授

研究者番号：20204208