

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：33915

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15761

研究課題名(和文) 母親の咀嚼運動による子供の糖尿病発症抑制機序の解明

研究課題名(英文) Effects of chewing during prenatal stress on diabetes onset in mouse offspring

研究代表者

久保 金弥 (Kubo, Kin-ya)

名古屋女子大学・家政学部・教授

研究者番号：00329492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠中ストレスに曝された胎児は、出生後に糖尿病などの成人病を発症するといわれている。本研究ではストレス負荷中の妊娠母体の咀嚼運動が仔の糖尿病発症に及ぼす影響を検討とした。ストレス中に積極的に咀嚼させた母マウスから生まれた仔マウスでは、ストレスによって惹起されるエネルギー代謝異常が正常化し、糖尿病の発症が抑制されることが分かった。ストレス下の妊娠母体の咀嚼運動で仔の糖尿病発症を抑制できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Maternal stress induces decreased birth weights and glucose intolerance, leading to diabetes in the pups. We examined the effects of chewing during maternal restraint stress on changes in weight, blood glucose levels, and energy metabolism-related materials in the pup. Pregnant mice were exposed to restraint stress. Half of dams were given a wooden stick to chew during restraint stress. Restraint stress during pregnancy increased body weight, amount of food ingested, blood glucose levels, insulin resistance, plasma leptin levels and NPY mRNA expression, and decreased blood adiponectin levels in the adult pups. Adult offspring of dams allowed to chew during restraint stress exhibited decreased in body weight, amount of food ingested, blood glucose levels, insulin resistance, plasma leptin levels and NPY mRNA expression, and increased blood adiponectin levels. These findings suggest that maternal chewing ameliorates maternal stress-induced diabetes in the adult offspring.

研究分野：神経科学

キーワード：prenatal stress chewing diabetes mellitus adiposeness fat insullin resistance

1. 研究開始当初の背景

我が国は糖尿病大国で、糖尿病とその予備軍を合わせると1,070万人(2011年)成人人口の約10%にも達する。厚生労働省は糖尿病の予防対策として、肥満の回避、身体的活動の増加、適正な食事などの生活習慣の改善を推進してきたが、糖尿病罹患者数の減少の兆しが見えず、増加の一途を辿っている。

近年、妊娠中のダイエットやストレス暴露により仔に糖尿病をはじめとする成人病素因が形成され、低出生体重児で生まれ将来的に糖尿病を発症するリスクが格段に高まるということが解明された(成人病胎児期発症説)(Barker D, et al, Luncet, 577-580, 1989)。

最近、申請者らはヒトを用いた研究により、ガムチューイングを行うことで、ストレスに対して最初に反応する大脳辺縁系の扁桃体の活動が抑制され、ストレスが発散されることを明らかにし(Sato S, et al, Novel Trends in Brain Science, 183-200, 2008, Springer) 国の内外から注目された。さらに、このガムチューイングが、糖尿病因子であるヘモグロビンA1cを減少させるだけでなく、体重や中性脂肪の減少、動脈硬化を防止するアディポネクチンの分泌を増加させるという事実(小野塚實, 噛むと脳が若返る, PHP研究所, 2011)から、チューイングと糖尿病との関連が強く示唆された。一方、我々はストレスを負荷した妊娠マウスに木の棒を噛ませると、生まれた仔の母胎ストレス性の認知障害や神経発達障害が抑制されることを明らかにした(Onishi M, et al, Neuroscience Letters, 560:77-80, 2014)。以上のことから、胎児期に形成される糖尿病素因に対する母体の咀嚼運動の影響を解析し、世代を超えた仔の糖尿病を母体の咀嚼運動によって予防しようという着想に至った。

2. 研究の目的

胎児期(妊娠中)にストレスに曝された胎児には成人病素因が形成され、出生後に糖尿病などの成人病が発症するという「成人病(生活習慣病)胎児期発症説」が注目されている。これまでに我々は母体のストレス暴露で発症する子供の母体性認知障害が母体への咬合咀嚼刺激により予防できることを明らかにした。そこで本研究では、ストレス暴露下において、棒を噛ませた妊娠マウスと噛ませなかった妊娠マウスのストレス関連因子の解析、またこれらの母マウスから生まれた仔マウスにおいて、摂食量、内臓脂肪量や体重の測定、血糖値およびインスリン抵抗性、および中枢性や末梢性のエネルギー代謝関連物質の定量分析を経時的に行い、母体の咬合咀嚼刺激(チューイング)による胎児期糖尿病素因の形成抑制機構を解明する。

3. 研究の方法

本研究目的を達成するために、拘束ストレス下(妊娠12日目から出産日まで)で木の

棒を噛ませた(チューイング)妊娠マウスと噛ませなかった妊娠マウス、拘束ストレスを負荷しなかった妊娠マウス(コントロール群)およびこれらの3群の母体から生まれた仔マウスを用い、母マウスではストレス関連因子の測定から咬合咀嚼刺激による母体のストレス緩和効果を解析する。次いで、仔マウスでは摂食量、体重、内臓脂肪量、血糖値、インスリン抵抗性の測定を行い、糖尿病発症の予測を行う。さらに、糖尿病の危険因子である肥満にもターゲットを当て、脳(ニューロペプチドY, NPY)および脂肪組織から分泌される(レプチン、アディポネクチン)エネルギー代謝関連物質の定量解析を行い糖尿病の危険因子に対する咬合咀嚼刺激の効果を系統的に抽出し、仔の糖尿病素因の形成解除機構に果たす母体の咬合咀嚼刺激の有用性を神経科学的に解明する。具体的には、NPYは*in situ* hybridization法により視床下部弓状核でのmRNAの発現量を検出し、レプチンおよびアディポネクチンについてはELISA法により血中濃度を解析した。

4. 研究成果

(1) 血中グルココルチコイド濃度(妊娠母体)

ストレスを負荷した妊娠マウスでは血中コルチコステロン濃度が顕著に上昇したが、ストレス負荷中に木の棒を噛ませた妊娠マウスでは血中コルチコステロン濃度の上昇がみられず、コントロール群との間で有意差が認められなかった。チューイングによって、妊娠母体のストレスが緩和されることが示唆された。

(2) 摂食量、内臓脂肪量と体重の変化(仔マウス)

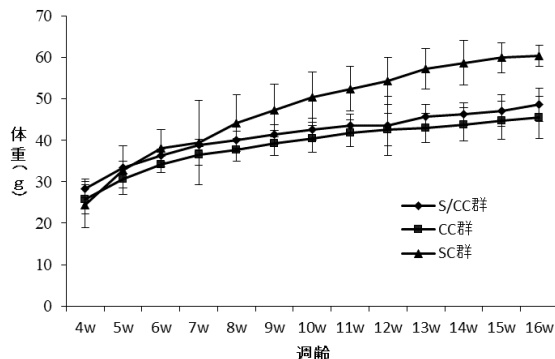
ストレスを負荷した妊娠マウスから生まれた仔マウスでは、摂食量が他の2群に比べて増加傾向を示し、これに伴い腹膜や精巣周囲の内臓脂肪量が増加し、体重も経時的に増加して、他の2群と比べ明らかな肥満傾向を示した。一方、ストレス中に木の棒を噛ませた母マウスから生まれた仔マウスでは、摂食量、内臓脂肪量、体重ともにコントロール群とほぼ同じ傾向を示し、両群間に有意差が認められなかった(図1)。妊娠ストレス下のチューイングは仔の摂食量を抑え、内臓脂肪の蓄積や肥満を抑制することが示唆された。

(3) 血糖値とインスリン抵抗性の変化(仔マウス)

ストレスを負荷した妊娠マウスから生まれた4か月齢のマウスでは、血糖値が他の2群に比べて有意に高値を示し、インスリン抵抗性が認められた。これに対して、ストレス中に木の棒を噛ませた母マウスから生まれたマウスでは、血糖値はコントロール群とほぼ同程度で、コントロール群同様インスリン抵抗性が観察されなかった。妊娠ストレス下

の母体のチューイングが、生まれてきた仔の糖尿病の発症を抑制することが示唆された。

図 1



S/CC 群: ストレス負荷中に木の棒を噛ませた母体から生まれた仔

CC 群: ストレスを負荷されなかった母体から生まれた仔

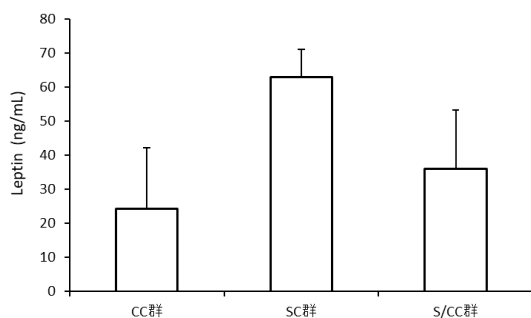
SC 群: ストレスを負荷された母体から生まれた仔

(4) 脂肪組織由来エネルギー代謝関連物質の変化 (仔マウス)

レプチン

ストレスを負荷した妊娠マウスから生まれた4か月齢のマウスでは、血中レプチン量の有意な上昇がみられたが、ストレス中に木の棒を噛ませた母マウスから生まれたマウスでは、血中レプチン量が低値でコントロール群と有意差が認められなかった(図2)。レプチンは脂肪細胞から分泌され、摂食抑制作用やエネルギー消費亢進をもたらすため、肥満抑制に働く。しかし、肥満者ではレプチンの分泌量が顕著に増加するにもかかわらず、レプチン抵抗性が生じるため、食欲が抑えられないといわれている。妊娠ストレス下のチューイングは、仔のレプチンの過剰分泌を抑え、摂食亢進を抑える結果、内臓脂肪量の減少や肥満抑制につながることが示唆された。

図 2



アディポネクチン量

ストレスを負荷した妊娠マウスから生まれた4か月齢のマウスでは、血中アディポネクチン量の有意な低下がみられたが、ストレス中に木の棒を噛ませた母マウスから生まれたマウスでは、血中アディポネクチン量が増加し、コントロール群との間で有意差が認められなかった。アディポネクチンは脂肪組

織から分泌され、糖質の取り込み促進、脂肪の燃焼、インスリンの感受性を高めるなどの作用を有している。妊娠ストレス下の母体のチューイングは、仔のアディポネクチンの分泌量を増加させ、エネルギー代謝効率を高め、インスリン感受性を高める結果、肥満や糖尿病の発症抑制につながることが示唆された。

(5) 脳のエネルギー代謝関連物質の変化 (仔マウス)

NPY

ストレスを負荷した妊娠マウスから生まれた4か月齢のマウスでは、視床下部弓状核における NPY mRNA の発現量が他の2群と比較して有意に増加した。一方、ストレス中に木の棒を噛ませた母マウスから生まれたマウスでは、NPY mRNA の発現量がコントロール群とほぼ同程度で、両者間に有意差はみられなかった。NPY は摂食亢進効果を有しているため、妊娠ストレス下の母体のチューイングは、仔の脳での NPY の発現量の増加を抑え、摂食量を減少させ、肥満や糖尿病の発症を抑制することが示唆された。

(6) まとめ

以上の結果から、ストレス下の妊娠母体のチューイングは、ストレスによって惹起される仔のエネルギー代謝調節機構の障害を抑え、糖尿病の発症を抑制する可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Barker D, et al, Weight in infancy and death from ischemic heart disease, *Lancet*, 9:2(8663):577-580, 1989

Sato S, et al, Bruxism and stress relief, 183-200, 2008, *Novel trends in Brain Science* (eds) Onozuka M & Yen CT, Springer

小野塚實, 噛めば脳が若返る, 1-188, PHPサイエンス・ワールド新書

Onishi M, et al, Learning deficits and suppression of the cell proliferation in the hippocampal dentate gyrus of offspring are attenuated by maternal chewing during prenatal stress, *Neuroscience Letters*, 560:77-80, 2014

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

Ayumi Suzuki, Mitsuo Iinuma, Sakurako Hayashi, Yuichi Sato, Kagaku Azuma, Kin-ya Kubo, Maternal chewing during prenatal stress ameliorates stress-induced hypomyelination, synaptic alterations, and learning impairment in mouse offspring, *Brain research*, 36-43, 2016,

<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.20>

[16.09.007](#)

Kagaku Azuma, Minori Ogura, Hiroko Kondo, Ayumi Suzuki, Sakurako Hayashi, Mitsuo Iinuma, Minoru Onozuka, Kin-ya Kubo, Maternal active mastication during prenatal stress ameliorates prenatal stress-induced lower bone mass in adult mouse offspring, International Journal of Medical Science, 14(4):348-355, 2017, doi:107150/ijms.18298

Kagaku Azuma, Qian Zhou, Masami Niwa, Kun-ya Kubo, Association between mastication, the hippocampus, and the HPA axis: a comprehensive review, International Journal of Molecular Science, 2017, doi:10.3390/ijms18081687

Kin-ya Kubo, Mika Kotachi, Ayumi Suzuki, Mitsuo Iinuma, Kagaku Azuma, Chewing during prenatal stress prevents prenatal stress-induced suppression of neurogenesis, anxiety-like behavior and learning deficits in mouse offspring, International Journal of Medical Science, 15(9):849-858, 2018, doi:10.7150/ijms.25281

〔学会発表〕(計2件)

林櫻子, 生野伸一, 林寿男, 吉川英里, 越智鈴子, 久田智詠, 梶本京子, 飯沼光生, 東華岳, 久保金弥, ストレス下の妊娠母体のチューイングは生まれてくる子の肥満を抑制する, 第36回日本小児歯科学会中部地方会, 2017年

Sakura Hayashi, Yuko Kondo, Ayumi Suzuki, Kyoko Kajimoto, Masahisa Katano, Kumiko Yamada, Yuichi Sato, Mitsuo Iinuma, Kagaku Azuma, Kin-ya Kubo, Maternal chewing during prenatal stress ameliorates stress-induced diabetes in adult offspring, The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2018

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保 金弥 (KUBO, Kin-ya)
名古屋女子大学・家政学部・教授
研究者番号: 0032492

(2) 研究分担者

飯沼 光生 (IINUMA, Mitsuo)
朝日大学・歯学部・教授
研究者番号: 70184364

東 華岳 (AZUMA, Kagaku)
産業医科大学・医学部・教授

研究者番号: 20273146

笹栗 健一 (SASAGURI, Kenichi)
自治医科大学・医学部・講師
研究者番号: 10235286

小野塚 実 (ONOZUKA, Minoru)
日本体育大学・保健医療学部・教授
研究者番号: 90084780