

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K20634

研究課題名(和文)咀嚼機能の向上は代謝性疾患治療の基盤となる

研究課題名(英文)Improving masticatory function is the basis for treatment of metabolic diseases

研究代表者

土谷 忍 (TSUCHIYA, SHINOBU)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：90547267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、咀嚼機能の低下によって誘引された軟食傾向といった食生活の質的低下が、肝臓を刺激し、糖代謝機構の恒常性を障害するメカニズム明らかとする。

軟食摂取の長期的影響を検討するために、マウスに粉末食あるいは固形食を与えて4か月飼育すると粉末食群では平常時のインスリン濃度の低下、平常時血糖値の上昇が認められた。血糖値の動態については、両群にて有意な差はなかったが、糖負荷時に血中インスリン濃度が有意に増加した。粉末食群で血清中カテコールアミン濃度の上昇による心臓血管機能への影響を調べたところ、両群の心拍数には差がなかったが、粉末食群では拡張期血圧と平均動脈圧が有意に高いことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Soft foodやfast foodといった食生活の崩壊と肥満や生活習慣病との関連が示され、食生活の質的劣化は深刻な問題となっている。しかしながら、食生活の質的劣化が咀嚼機能の低下に起因するものあっても歯科治療を選択するケースは少ない。それは、咀嚼機能の低下が代謝性疾患の危険因子であるとの認識が低いからと考えられる。本研究により代謝性疾患に関するNetwork Medicineの中に「咀嚼」という新たな視点を加えることで、歯科の代謝性疾患の治療マネジメントへの介入と治療基盤の構築を行えることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to clarify the mechanism by which the deterioration in eating habits, such as soft food, induced by a decrease in masticatory function stimulates the liver and impairs the homeostasis of the glucose metabolism mechanism. To examine the long-term effects of soft food intake, the mice were fed a powdered or solid diet for 4 months. Normal insulin concentration was decreased and normal blood glucose increased in the powdered diet group. There was no significant difference in the blood glucose level between the two groups, but the blood insulin level increased significantly when glucose was loaded. The influence of the increase in serum catecholamine level on cardiovascular function in the powdered diet group was examined. There was no difference in heart rate between the two groups, but it was revealed that diastolic blood pressure and mean arterial pressure were significantly higher in the powdered diet group.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：咀嚼 筋 糖代謝

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Soft food や fast food といった食生活の崩壊と生活習慣病との関連が示され「食生活の悪化」は深刻な社会問題となっている。しかしながら、食生活の悪化が咀嚼機能の低下に起因するものであっても、治療の選択肢に歯科治療が求められるケースは少ない。その理由として、咀嚼機能の低下が代謝性疾患の危険因子との認識が低いことがあげられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、咀嚼機能の減退に伴い、咀嚼筋の IL-6 産生が低下し、肝臓内 IL-6 シグナリングが減弱し、その結果として肝臓の糖代謝機構の恒常性の破綻が引き起こされることを明らかにする。歯牙喪失や加齢などに起因する咀嚼機能の低下は慢性的な食生活の問題を惹起し、代謝機構の恒常性に大きな負担となることから発症基盤であることは明白である。しかしながら、本研究のように咀嚼機能と代謝の主要器官である、肝臓との関係に着目して直接的な関与について検討された研究は現在まで皆無である。その点において、本研究は世界的にも類を見ない、新規性に富んだ研究といえる。

それにくわえて、代謝性疾患に関する Network Medicine の中に「咀嚼」という新たな視点を加えることで、歯科の代謝性疾患の治療マネジメントへの介入と治療基盤の構築を行うという最終目標からも、本研究は非常にチャレンジングな研究提案である。

### 3. 研究の方法

粉末飼料によりマウスを長期飼育し、肝臓における糖代謝について生化学的手法を用いて検討する。糖代謝に差が確認された週齢を対象とし、採取した肝臓、血液について分子生物学的手法を用いて、糖代謝関連分子、および IL-6 シグナリング分子の動態について検討する。以上の結果から、軟食化傾向な食習慣は咀嚼活動による IL-6 産生を低下させ、肝臓の糖代謝機構の恒常性を破綻させることで代謝性疾患の発症基盤となることを示す。

・動物: Balb/c マウス (オス, 5 週齢),

IL-6 遺伝子欠損マウス (IL-6KO マウス Jackson Lab より入手筋由来の IL-6 の作用について検証するため必須) を用いる。

・食餌: 基本的には通常食餌 (CRF-1: ペレット型, オリエンタル酵母工業) の硬度を調整して使用する。特に、オートクレーブ処理 (硬) と粉末 (軟) の間には糖尿病の発症, および症状の改善に関して有意な差が報告されている。

(1) 長期飼育: コントロール群 (オートクレーブ処理食餌を供給), 軟性食餌群 (コントロールを粉末化した食餌を供給) の2群に分け, 2週齢より12ヶ月齢までの長期飼育を行い, その期間に以下の解析を行う。

\* 一般的な解析項目 (2 回/週): 食事摂取量, 体重, 血糖値 (Accu-Chek, Roche)

\* 生化学的検査項目 (1 回/3 カ月): 眼底動脈より採血し, 中性脂肪値 (triglyceride E test, Wako), コレステロール値 (Cholesterol E test, Wako), 血中インスリン濃度 (ultrasensitive mouse/rat insulin ELISA kit, Mercodia AB 社) を測定する。

\* 肝臓の糖代謝機能: 3 カ月毎に空腹時ブドウ糖負荷テスト (GTT) およびインスリン負荷テスト (ITT) を行う。尾静脈より採血された末梢血の血糖値を測定する。

・GTT: 12 時間絶食して空腹時血糖を測定した後, 2g glucose/kg body weight を経口投与し, 15 分, 30 分, 60 分, 90 分後に血糖値を測定する。

・ITT: 摂食時血糖値を測定後, インスリン (シグマ) をマウスの腹腔内に投与 (0.75 mU/g BW) し, 15 分, 30 分, 60 分, 90 分後の血糖値を測定。

以上の結果を参考として, マウスから肝臓組織をサンプリングする時期を決定し, (2) ~ (4) に使用する。

(2) 肝臓組織内のグリコーゲンおよび脂質の定量: (1) より得た組織を利用

\* 肝臓組織内グリコーゲンおよび脂質 (長鎖脂肪酸, 中性脂肪) の定量; 肝臓グリコーゲンは加水分解法 (KOH による組織消化後, HCl を用いて加水分解し, グルコースとする, 肝中脂質は Folch 法 (Folch 液による抽出後にアルカリ鹼化を行い, 遊離脂肪酸とする) と (1) で使用するキットを用いることで定量する。

\* 肝臓組織の組織学的検討：4%PFA 固定した組織サンプルより凍結切片を作製し，PAS 染色（グリコーゲン染色）および Oil-red-O 染色（脂肪染色）を施す．

（3）肝臓組織内の IL-6 シグナリングの検討：軟性食餌飼育により，肝臓組織内の IL-6 シグナリング関連分子の発現が低下していることを明らかとする．

\* Western blotting：p-STAT3(Cell Signaling)

\* 定量 RT-PCR：SOCS-3，PEPCK/Pck1 など<sup>2)</sup>

（4）免疫組織化学染色法による検討：抗 p-STAT3 抗体を用いて，軟性食餌飼育群の肝臓における発現の低下を示す．肝臓組織内の p-STAT3 核陽性細胞数をカウントして定量的な解析を行う．

（5）肝臓糖代謝への筋由来 IL-6 の役割の証明：IL-6KO マウスでは，軟性食餌による肝臓の糖代謝機構の崩壊が早期に起こることが予想される．軟性食餌による長期飼育を行い（1）～（4）の実験を行う．

以上の結果から，食餌の質的低下は IL-6 の発現量減少に直結し，肝臓の糖代謝機能の恒常性の崩壊が起こることを示し，『食生活を維持するうえで咀嚼機能系は重要であり，その維持が生活習慣病の発症予防の効果を持つ』ということを実証するものである．

#### 4．研究成果

（1）3週齢より20週齢まで長期飼育を行ったところ，軟性食餌群ではコントロール群と比較して，平常時血糖値の有意な上昇が認められた．また，平常時血中インスリンレベルが有意に低いことも確認された．

（2）ブドウ糖負荷（1g/kg）の30分後の血中インスリンレベルは軟性食餌群で有意に高かった．

（3）軟性食餌群では平常時の血清中のアドレナリン，ノルアドレナリン，コルチコステロン量も有意に高い傾向があった．しかしながら，ドーパミン量に関しては，両群間に差は認められなかった．

（4）両群間の心拍数および収縮期血圧には差は認められないが，拡張期血圧および平均動脈圧が軟性食餌群では有意に高いことが明らかとなった．

（5）Liraglutide（2型糖尿病治療薬）を投与し，血糖値の改善による変化について検討を行った．Liraglutide の投与により軟性食餌群の血糖値に改善が認められた．軟性食餌群で観察された拡張期血圧の上昇は，血糖値の改善により低下した．

本研究では，マウスへの粉末食給餌による糖代謝機構への影響について，以下の結果が得られた．

軟食は摂食前後の血糖値の動態が大きく，これらの慢性的な負荷は随時血糖値とその調節ホルモンにも影響を与える．

軟食による長期飼育は糖代謝機構への影響を介して，血圧などにも影響する．

すなわち，軟性食餌飼育では消化・吸収の差に伴う血糖値の動態が慢性的な負荷となり，内分泌系を中心とした糖代謝機構を障害することが示された．

近年，インスリン抵抗性に伴う糖尿病や肥満など，代謝性障害による生活習慣病の増加が世界的に問題となっている．原因として成長期における不規則な食生活の問題が示唆されており，社会的に『食育』への関心が高まってきている．小腸から吸収された栄養分は門脈系を介して肝臓に必ず集められるため，肝臓を中心とした代謝機構は食生活の質に直接的に影響を受ける．本研究では，栄養分の消化・吸収が簡易である軟性食を利用し，食生活が直接的に肝臓の糖代謝機構の発達過程に影響することを，糖代謝，血糖値調整因子の血清レベルを指標として明らかとした．すなわち，食生活の質的低下が個体の健康に大きく影響を及ぼす環境因子であることが明らかとされ，特に成長発育期における『食育』の役割を更に明確に示したものであるといえる．

本研究では，食習慣の質的低下が，成長期における肝臓を中心とした糖代謝機能の発達を障害することを明らかとし，発達期における適切な食習慣が肝機能の発達を介して個体の成長発育の重要な環境因子となることを明らかとした．咀嚼機能は他の運動機能よりも早期に発達するだけでなく，加齢に伴う低下が少ない特徴的な運動機能である．また，歯数の減少などは咀嚼機能に代表される口腔機能を低下させ，軟食化といった食習慣の質的低下に直結する．すなわち，

口腔機能の低下は食生活の破綻を介して生活習慣病の発症基盤となることが示唆された。くわえて、予備力・適応力の低い高齢者にとってはその影響は更に大きなものとなることが推測され、予防・治療の意義を支持する結果であった。

本研究の結果からも咀嚼という行為が生活習慣病の予防の鍵となる可能性を秘めていることは明らかであり、1日3回、食事ごとに全身的な代謝を賦活化する『咀嚼』という運動は、世代を問わず生活習慣病を改善する習慣的なエクササイズとなる可能性を有しており、非常に魅力的なツールとなるものと考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tsuchiya S, Tsuchiya M, Momma H, Koseki T, Igarashi K, Nagatomi R, Arima T, Yaegashi N, Japan Environment, Children's Study Group	4. 巻 19
2. 論文標題 Association of Cleft Lip and Palate on Mother-to-Infant Bonding: a Cross-Sectional Study in the Japan Environment and Children's Study (JECS).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Pediatrics	6. 最初と最後の頁 505
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12887-019-1877-9	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 -
1. 著者名 島田 栄理遣, 土谷 忍, 布村 陽平, 佐藤 顕光, 今井 啓道, 五十嵐 薫	4. 巻 27
2. 論文標題 骨格性 級の片側性唇顎口蓋裂患者に対する矯正歯科治療の長期経過—東北大学病院における口唇口蓋裂患者に対するチーム医療—	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 東北矯正歯科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 37-49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tsuchiya S, Tsuchiya M, Momma H, Sekiguchi T, Kuroki K, Kanazawa K, Koseki T, Igarashi K, Nagatomi R, Hagiwara Y.	4. 巻 17
2. 論文標題 Factors associated with sports-related dental injuries among young athletes: a cross-sectional study in Miyagi prefecture.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Oral Health.	6. 最初と最後の頁 168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12903-017-0466-2.	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 該当する
1. 著者名 Tsuchiya S, Chiba M, Kishimoto KN, Nakamura H, Tsuchiya M, Hayashi H.	4. 巻 74
2. 論文標題 Transfer of the bone morphogenetic protein 4 gene into rat periodontal ligament by in vivo electroporation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Arch Oral Biol.	6. 最初と最後の頁 123-132.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.archoralbio.2016.11.013.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 土谷忍、土谷昌広、渡邊誠、佐々木啓一
2. 発表標題 粉末食を用いた長期飼育がマウスの糖代謝機構へ及ぼす影響
3. 学会等名 第71回 日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 土谷 昌広, 吉田 新一郎, 萩原 嘉廣, 篠田 雅路, 小出 将志, 畠山 裕康, チャウイワンナコン・チャヤニ, 矢野 利尚, 曾木 靖仁, 板谷 信行, 関口 拓矢, 矢部 裕, 土谷 忍, 佐々木 啓一, 神崎 展, 井樋 栄二
2. 発表標題 マウス筋機械痛覚過敏に対するIL-18の関与
3. 学会等名 日本疼痛学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八百板富紀枝, 宮澤将之, 土谷昌広, 土谷忍, 神崎展
2. 発表標題 長期粉末食飼育マウスにおける結腸機能と免疫細胞の関連性
3. 学会等名 日本薬理学会北部会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----