

令和元年5月18日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05506

研究課題名(和文)咀嚼・運動と高次機能の連関クロストークの解明

研究課題名(英文)Biological crosstalk of between mastication and brain function

研究代表者

中島 友紀(Nakashima, Tomoki)

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：00346959

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：記憶・学習は高度な知的活動を司り、食物摂取や危険回避など生命の維持活動に直結する重要な機能であるが、加齢や口腔疾患に伴う歯の脱落・喪失は、咀嚼機能を破綻させ認知症や記憶障害をはじめ様々な疾患の病因となる。これらの知見を我々は経験的に理解しているが、咀嚼・運動機能と高次機能の連関した制御機構は、いまだ十分に理解されていない。本研究では、咀嚼・運動機能の不全・亢進を呈する新規マウスモデルの構築と網羅的な遺伝子発現解析から、高齢化社会の亢進に伴い大きな社会問題である咀嚼・運動機能と高次機能の連関クロストークの実態に迫り、その統合的な理解と破綻メカニズムの解明を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

咀嚼・運動機能と学習・記憶形成など高次機能の連関クロストークの実態に迫り、その制御機構を理解するためには、これまでにない新規モデル動物の開発と制御分子の網羅的解析が、ブレイクスルーポイントになった。本研究では、咀嚼機能の破綻や寝たきり状態を生体レベルで再現するためモデルマウスを構築・解析することで、咀嚼・運動機能の変動と高次機能の連関を司る遺伝子の基盤情報を得た。本研究から導かれる成果は、認知症や記憶障害をはじめ、統合失調症やうつ病など様々な高次機能疾患の発症機構の解明と革新的な治療戦略の提示、早期診断マーカーへの応用など、医療現場に直結する基盤技術の確立に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Cognitive dysfunction is a public health issue, which is one of the main contributing factors for need-of-care, afflicting patients and their caretakers. It is well accepted that physical activity is in close relationship with brain function. Accumulating data has indicated that exercise training, crosstalk the muscle and skeletal system, can improve brain functions both directly and indirectly via the alleviation of the diseases underlying. Recently, mechanisms bridging brain functions and physical exercises have been clarified. We have investigate the biological crosstalk the muscle and skeletal system through approach combined with comprehensive analysis and sophisticated genetically modified mouse system. This project will not only enable a better understanding of the regulatory system of higher biological functions of neuropsychiatric diseases, but also provide a molecular basis for developing new therapeutic strategies and effective exercise therapy for these diseases.

研究分野：骨生物学、運動器科学

キーワード：咀嚼・運動機能 高次脳機能 記憶・学習 遺伝子改変マウス

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えつつある我が国では、2050年には高齢化率が約40%に達する。国民生活基礎調査によると要介護原因の第1位は脳血管障害であるが、骨粗鬆症などに起因する大腿骨・椎体の骨折や関節疾患もまた、ほぼ同じ割合の要介護率を占めている。また、高齢による衰弱には、サルコペニアなどの筋力・運動能力の低下が含まれることから、総合的に鑑みると運動器障害が、要介護の最大の原因であることが窺える。運動機能の低下は自立した生活を障害し寝たきり生活へと繋がり、生命予後を決定するため、現在、大きな社会問題となっている。

運動器の主な構成要素である骨と筋肉は、ヒト組織重量の約70%を占める臓器であり、動的な恒常性を維持しながら統合的な運動機能を実現している。顎骨には歯牙が植立していることから、咀嚼筋を介した力学的な負荷に加え、歯を介した咬合力が、顎骨に直接影響を与えることで、その骨量や構造の変化に深く関わっている。このため、加齢や歯周病などの口腔疾患を起因とする歯の脱落・喪失は、力学的負荷を失い廃用性の咀嚼筋委縮や顎骨骨粗鬆症を誘導する。さらに、歯の脱落・喪失に伴う咀嚼機能の破綻は、認知症や記憶障害をはじめ様々な疾患を発症することが知られており、老化に伴う運動機能の低下による寝たきり状態もまた、記憶や学習能力に影響を与えていることを、我々は経験的に理解している。

筋肉は、筋細胞が成長した筋線維の筋束集合体で、身体能力を規定する重要な臓器であり、中枢からの指令を介して筋収縮と弛緩を制御し運動機能を実現するだけでなく、様々な因子を産生しエネルギー代謝の中心的な役割も担っている。一方、骨は豊富なサイトカインや成長因子を含む細胞外骨基質と骨構成細胞(骨芽細胞、破骨細胞、骨細胞)からなり、骨構成細胞による“骨リモデリング”と呼ばれる再構築によって動的な恒常性を保ちながら生まれ変わっている。

これまで骨は様々な臓器や細胞が産生するホルモンやサイトカインなどの因子により、制御される受動的な臓器であると考えられてきた。しかし、骨が産生する分子FGF23が腎臓や腸管を遠隔制御しミネラル代謝に連環していることや心臓の肥大化に関与していることが見出された。さらに骨産生因子オステオカルシンがエネルギー代謝に関与することや脳の発達と機能に影響を与えていることも見出されている。また、最近、若年マウス血清中に老年マウスの記憶障害を回復させる機能があることが明らかにされた。これらの報告は、骨や筋肉など運動器と他臓器の間に、生体の動的な恒常性を保つ機能的な連関クロストークが存在することを示唆しており、運動器が神経系支配と異なる遠隔制御因子の産生臓器として、能動的に機能することを推測させる。

記憶・学習は、高度な知的活動を司る重要な役割を担うだけでなく、食物摂取や危険回避などすべての動物において生命の維持活動に直結する重要な高次機能である。これまで、高次機能と運動器は、個々が独立した基礎医学系分野を形成し発展してきた。その制御機構として、サイトカインやホルモン、神経系などの関与が、個別に明らかにされてきたが、統合的な運動器と高次脳機能の連関システムが存在し、その破綻が様々な疾患に繋がっているのかについては、いまだ明確な解答は得られていない。

2. 研究の目的

記憶・学習は高度な知的活動を司り、食物摂取や危険回避など生命の維持活動に直結する重要な機能であるが、加齢や口腔疾患に伴う歯の脱落・喪失は、咀嚼機能を破綻させ認知症や記憶障害をはじめ様々な疾患の病因となる。また、老化に伴う運動機能の低下で寝たきり状態になると学習能力や記憶障害に大きな影響を与える。これらの知見を我々は経験的に理解しているが、咀嚼・運動機能と高次機能の連関した制御機構は、いまだ十分に理解されていない。

本研究では、咀嚼・運動機能の不全を呈する新規マウスモデルの構築と網羅的な遺伝子発現解析から、高齢化社会の亢進に伴い大きな社会問題である咀嚼・運動機能と高次機能の連関クロストークの実態に迫り、その統合的な理解と破綻メカニズムを解明し、顎口腔機能に関連する疾患の制圧・予防を目指した革新的な分子基盤の確立を試みる。

3. 研究の方法

本研究では、運動機能と高次機能の連関クロストークの解明するため、咀嚼機能の破綻状態や寝たきりを再現する無歯顎骨モデルや廃用性運動機能低下モデルを新規に構築した。また、運動・咀嚼機能亢進状態を示す力学的負荷モデルも構築した。さらに、これらのモデルにおける運動器と脳のサンプルを獲得し、網羅的なトランスクリプトーム解析によって、運動器の変動と学習・記憶形成の連関を司る遺伝子の基盤情報をプラットフォームに候補分子を選抜した。さらに、細胞・臓器特異的な遺伝子改変マウスの作成・解析から、咀嚼・運動機能の評価や高次機能の連関システムの評価を試みた。分子生物学と遺伝子工学を融合したアプローチから、細胞・生体レベルでの咀嚼・運動機能と高次機能の連関クロストークの全貌を解明に取り組んだ。

4. 研究成果

4-1) 運動機能と高次脳機能の連関クロストークの解明するため、咀嚼機能の破綻状態や寝たきりを再現する新規モデルを構築・解析に取り組んだ。遺伝子改変システムによる無歯顎骨モデルや廃用性運動機能低下モデルに加え、自発的な食事による咀嚼メカニカルストレスを免荷

した新規咀嚼機能低下モデルの構築・解析を試みた。特筆すべきは、新規咀嚼機能低下モデルの構築にある。本モデルでは全身の骨や筋肉量など運動器に影響を与えないが、咀嚼筋量の低下や顎骨骨粗鬆症を呈する(図1)。

そして、Passive avoidance testやObject location testなどの学習・記憶の実験系構築から、咀嚼機能の低下が高次脳機能の抑制に働いていることが見出された(図2A,B)。

このメカニズムとして、神経細胞の発生・生存、そして、活性化が強く関係しているも明らかになった。さらに、記憶・学習を司る脳領域である海馬の解析したところ、咀嚼刺激の低下が神経活動やシナプス形成、脳由来神経栄養因子(BDNF)の発現を低下させ、神経細胞が減少することを明らかになった(図3)。

本研究から成長期における咀嚼刺激の低下は、顎骨および咀嚼筋の成長を抑制し、海馬をはじめとする脳神経系の発達を妨げることで認知学習機能を障害することが示された。本成果は、記憶・学習機能障害や認知症の予防において咀嚼機能の維持または強化が有効であることを示唆しており、記憶・学習機能障害の新たな治療法や予防法の分子基盤の確立に繋がることを期待される(図4: *J Dent Res* 2017)。

図3:咀嚼・運動不全による神経細胞の形成・機能低下



図1:咀嚼・運動不全モデルの構築

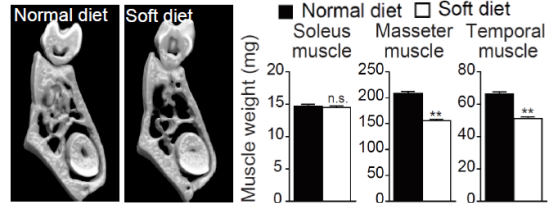


図2:咀嚼・運動不全と高次脳機能の連関

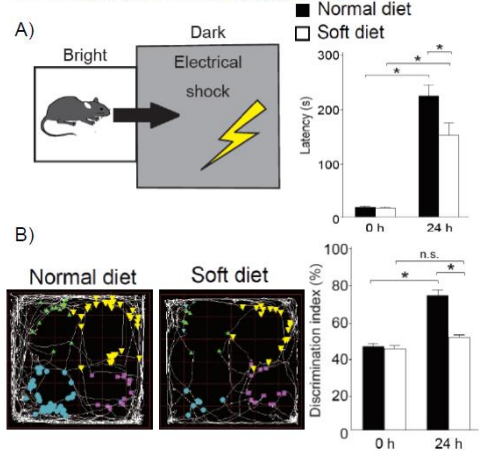
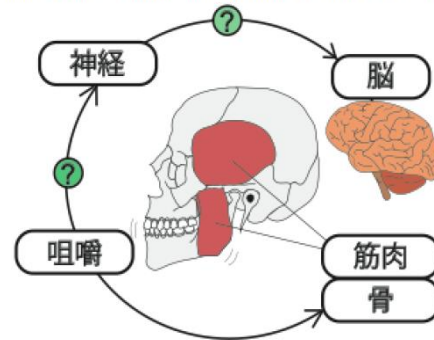


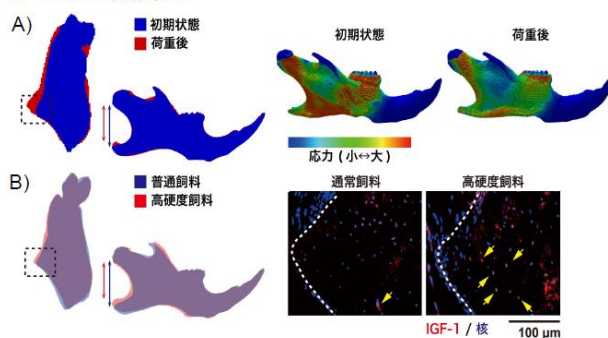
図4:咀嚼・運動機能と高次脳機能の連関システムの解明



4-2) 新規咀嚼機能強化モデルおよび運動機能亢進モデルを確立にも成功した。これまでの既存研究では、栄養成分を変更することなく、餌の硬度を変化させることは難しかった。しかしながら、本研究では栄養成分の変更なく餌の硬度だけを上昇させる新規方法を確立し、咀嚼回数、咀嚼筋量と顎骨骨量の増加を呈するモデルを確立した。

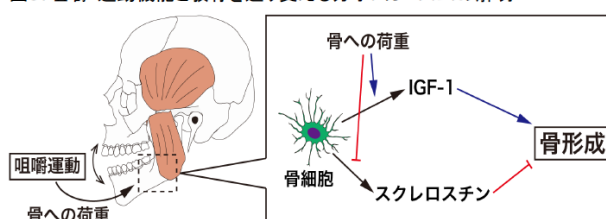
本モデルでは栄養成分に変化ないため、全身の骨や筋肉量など運動器に影響を与えない理想的な解析デバイスであると考えられる。また、数理予測を基盤にしたシミュレーションモデルの構築から、力学的負荷の変化が顎骨に与える影響とそのメカニズムを解析した。コンピューターシミュレーションで予測された顎骨の骨形成の変化率と咀嚼機能亢進モデルマウスの顎骨 uCT 解析の骨変化の評価は、極めて類似の形態を呈することが見出された(図5A,B)。

図5:力に伴う骨構造変化のシミュレーション予測と咀嚼強化モデルマウスの顎骨解析



さらに、骨形成の部分の骨細胞ではIGF-1の発現が上昇し、スクレロスタチンの発現が低下していることが観察された。細胞培養実験から、力学的な負荷によって骨細胞からのIGF-1産生が増加し、腱から採取した細胞の骨芽細胞への分化を促進することが明らかになった(図6: *Sci Rep* 2019)。

図6:咀嚼・運動機能と顎骨を造り変える分子メカニズムの解明



さらなる研究の加速・発展を目指し、骨・咀嚼筋や顎骨などの運動器と脳のサンプルの獲得から、網羅的な遺伝子発現解析を試み、運動器の変動と学習・記憶形成の連関を司る遺伝子情報をプラットフォームに候補分子の選抜に取り組んだ。

4-3) 咀嚼機能の向上を目指しマウスの歯牙に力学的な負荷を継続的に加えるヒト矯正治療の疑似化したモデルを構築した。また、世界に先駆けた顎骨構成細胞の新規単離法も確立し、これまで不明であった顎骨における破骨細胞分化因子 RANKL の発現細胞が骨細胞であることを同定した(図 7)。

さらに、骨細胞特異的 RANKL 欠損マウスの作成・解析から、力学的な負荷に伴う破骨細胞の出現メカニズムを骨細胞が制御していることを実証した。また、中和抗体を用いた新たな矯正治療の分子基盤の確立にも成功した (図 8 : *Sci Rep* 2017)

図7: 骨メカノ・レスポンス分子RANKLの機能解析

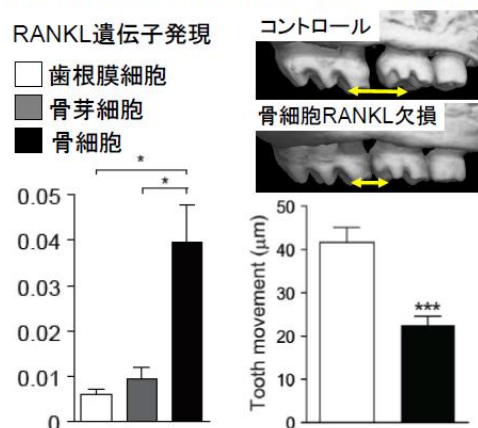
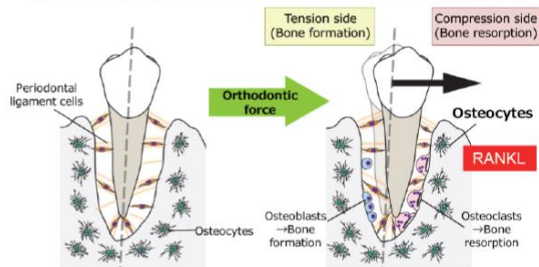


図8: 力学的負荷による顎骨リモデリングの制御機構の解明



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 34 件)

- Hayashi M, ***Nakashima T**, Yoshimura N, Okamoto K, Tanaka S, Takayanagi H. Autoregulation of osteocyte Sema3A orchestrates estrogen action and prevents bone ageing. *Cell Metab* 29(3):627-637 (2019) * Corresponding author (査読有)
- Inoue M, Ono T, Kameo Y, Sasaki F, Ono T, Adachi T, ***Nakashima T**. Forceful mastication activates osteocytes and builds a stout jawbone. *Sci Rep* 9(1):4404. (2019). * Corresponding author (査読有)
- Kim Y, Hayashi M, Ono T, Yoda T, Takayanagi H, ***Nakashima T**. Suppression of hematopoietic cell kinase ameliorates the bone destruction associated with inflammation. *Mod Rheumatol* 1-17 (2018). * Corresponding author (査読有)
- Inoue M, Okamura T, Terashima A, Nitta T, Muro R, Negishi-Koga T, Kitamura T, **Nakashima T**, Takayanagi H. Arginine methylation controls the strength of γ c family cytokine signaling for T cell maintenance. *Nat Immunol* 19(11):1265-1276 (2018) (査読有)
- Tsukasaki M, Komatsu N, Nagashima K, Nitta T, Pluemsakunthai W, Shukunami C, Iwakura Y, **Nakashima T**, Okamoto K, Takayanagi H. Host defense against oral microbiota by bone-damaging T cells. *Nat Commun* 9(1):701.(2018) (査読有)
- Ono T, ***Nakashima T**. Recent advances in osteoclast biology. *Histochem Cell Biol* 149(4), 325-341 (2018) * Corresponding author (査読有)
- Nagashima K, Sawa S, Nitta T, Prados A, Koliarakis V, Kollias G, **Nakashima T**, Takayanagi H. Targeted deletion of RANKL in M cell inducer cells by the Col6a1-Cre driver. *Biochem Biophys Res Commun*. 493(1) 437-443 (2017) (査読有)
- Shoji-Matsunaga A, Ono T, Hayashi M, Takayanagi H, Moriyama K, ***Nakashima T**. Osteocyte regulation of orthodontic force-mediated tooth movement via RANKL expression. *Sci Rep* 7(1):8753 (2017) * Corresponding author (査読有)
- Fukushima-Nakayama Y, Ono T, Hayashi M, Inoue M, Wake H, Ono T, ***Nakashima T**. Reduced mastication impairs memory function. *J Dent Res* 96(9):1058-1066 (2017). * Corresponding author (査読有)
- Nagashima K, Sawa S, Nitta T, Tsutsumi M, Okamura T, Penninger JM, **Nakashima T**, Takayanagi H. Identification of subepithelial mesenchymal cells that induce IgA and diversify gut microbiota. *Nat Immunol* 18(6):675-82 (2017) (査読有)
- Okamoto K, **Nakashima T**, Shinohara M, Negishi-Koga T, Komatsu N, Terashima A, Sawa S, Nitta T, Takayanagi H. Osteoimmunology: the conceptual framework unifying the immune and skeletal systems. *Physiol Rev* 97, 1295-1349 (2017)
- Terashima A, Okamoto K, **Nakashima T**, Akira S, Ikuta K, Takayanagi H. Osteoblasts mediate

- immunosuppression in sepsis. *Immunity* 44(6):1434-43. (2016) (査読有)
- 13) Iida A, Xing W, Docx MK, **Nakashima T**, Wang Z, Kimizuka M, Van Hul W, Rating D, Spranger J, Ohashi H, Miyake N, Matsumoto N, Mohan S, Nishimura G, Mortier G, Ikegawa S. Identification of biallelic LRRK1 mutations in osteosclerotic metaphyseal dysplasia and evidence for locus heterogeneity. *J Med Genet.* 53(8):568-74 (2016) (査読有)
 - 14) Ono T, Okamoto T, **Nakashima T**, Nitta T, Hori S, Iwakura Y, Takayanagi H. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells enhance bone regeneration. *Nat Commun* 11;7:10928. (2016) (査読有)
 - 15) Guerrini MM, Okamoto K, Komatsu N, Danks L, **Nakashima T**, Takayanagi H. Inhibition of the TNF family cytokine RANKL prevents autoimmune inflammation in the central nervous system. *Immunity* 43, 1174-85 (2015) (査読有)
 - 16) **中島友紀**、小野岳人、林幹人：運動器産生分子がつなぐ臓器連環と動的恒常性 *実験医学 (増刊)* 37 (7)141-148 (2019) (査読無)
 - 17) **中島友紀**、松本俊夫：巻頭言：Wntシグナルが紡ぎ出す骨生物学とその医療応用 *CLINICAL CALCIUM* 29 (3)275-276 (2019) (査読無)
 - 18) 林幹人、**中島友紀**：骨とWntシグナル：オーバービュー *CLINICAL CALCIUM* 29 (3)277-282 (2019) (査読無)
 - 19) **中島友紀**：骨と筋肉の恒常性と全身性制御 *実験医学 (増刊)* 36 (7)1205-11 (2018) (査読無)
 - 20) **中島友紀**：骨代謝の分子メカニズムと治療戦略 *CLINICAL CALCIUM* 28 (3)52 -60 (2018) (査読無)
 - 21) 小野岳人、**中島友紀**：運動と脳機能 *CLINICAL CALCIUM* 28 (1) 57-64 (2018) (査読無)
 - 22) 権藤理夢、**中島友紀**：骨細胞：骨代謝の司令塔 *分子リウマチ治療* 11(1) 29-32 (2017) (査読無)
 - 23) **中島友紀**：骨恒常性とメカノバイオロジー *VIVA ORTHO* 90 8 (2017) (査読無)
 - 24) **中島友紀**：巻頭言：RANKL Biology-骨研究を越えて！ *腎と骨代謝* 30(3) 165-166 (2017) (査読無)
 - 25) **中島友紀**：Myostatinによる破骨細胞分化と関節炎症への関与 *リウマチ科* 57 (2) 195-198 (2017) (査読無)
 - 26) **中島友紀**：巻頭言：メカノバイオロジーとライフサイエンスの融合が紡ぎ出す“力の科学と医療”～ *CLINICAL CALCIUM* 26 (12) 7-8 (2016) **特集ゲスト編集**(査読無)
 - 27) **中島友紀**：骨代謝とメカノバイオロジー *CLINICAL CALCIUM* 26 (12) 35-45 (2016) (査読無)
 - 28) **中島友紀**：メカニカルストレスによる骨恒常性制御 *実験医学 (増刊)*34 (17)2836-43 (2016) (査読無)
 - 29) 林幹人、**中島友紀**：セマフォリンと骨粗鬆症 *CLINICAL CALCIUM* 26 (10)1419-1427 (2016) (査読無)
 - 30) **中島友紀**：RANKLとオステオネットワーク *CLINICAL CALCIUM* 26 (8)1135-1142 (2016) (査読無)
 - 31) **中島友紀**：骨粗鬆症～骨の恒常性と破綻～ *医学のあゆみ* 257 (10) 985-991 (2016) (査読無)
 - 32) 林幹人、**中島友紀**：セマフォリンシグナルによる骨リモデリング制御 *THE BONE* 30(2) 151-156 (2016) (査読無)
 - 33) **中島友紀**：巻頭言：骨免疫学～境界を越えて～ *CLINICAL CALCIUM* 26 (5) 7 (2016) **特集ゲスト編集**(査読無)
 - 34) **中島友紀**：RANKL/OPGの産生細胞 *ファーマナビゲーター 抗RANKL抗体編* (メディカルレビュー社) 60-69 (2016) (査読無)

[学会発表] (計 22 件)

- 1) **中島友紀** ステロイド性骨粗鬆症の発症メカニズム 第20回日本骨粗鬆症学会 長崎 10月27日2018年 (招待講演)
- 2) **中島友紀** 骨細胞による骨リモデリングの制御 第60回歯科基礎医学会 福岡 9月6日2018年 (招待講演)
- 3) **中島友紀** RANKL Biology-骨代謝研究を越えて- 第39回 日本炎症・再生医学会 東京 7月12日2018年 (招待講演)
- 4) **中島友紀** 骨恒常性の制御機構 第16回 ナノ学会 東京 5月10日2018年 (招待講演)
- 5) **Tomoki Nakashima** Bone homeostasis and mechanomedicine 第95回 日本生理学会 高松 3月29日2018年 (招待講演)
- 6) **中島友紀** 骨リモデリングの制御機構 第15回線維化病態研究会 東京 2月19日2018年 (招待講演)
- 7) **中島友紀** 骨細胞による骨代謝制御 第5回臨床骨ネットワーク研究会 東京 2月18日2018年 (招待講演)
- 8) **中島友紀** RANKL Biology-骨研究を越えて- 抗RANKL抗体 Up to Date in Saitama 埼玉 2月7日2018年 (招待講演)

- 9) **中島友紀** 骨細胞による骨リモデリングの制御機構 第59回歯科基礎医学会アップデートシンポジウム 松本 9月16日2017年 (招待講演)
- 10) **中島友紀** RANKL Biology -骨研究を越えて- Rheumatology Bone Seminar 東京 9月5日2017年 (招待講演)
- 11) **中島友紀** 骨恒常性のバイオロジー 第3回日本筋学会 東京 8月5日2017年 (招待講演)
- 12) **中島友紀** マウスジェネティクスを基盤とした骨疾患解析 New Insights of Molecular Genetics on Growth Disorders 東京 7月1日2017年 (招待講演)
- 13) **中島友紀** RANKL Biology -骨研究を越えて- Rheumatology Bone Seminar in Okayama 岡山 6月1日2017年 (招待講演)
- 14) **中島友紀** 骨恒常性とメカノバイオロジー 第56回日本生体医工学会 仙台 5月4日2017年 (招待講演)
- 15) **Tomoki Nakashima** Bone homeostasis and mechano-biology 第94回日本生理学会 浜松 3月28日2017年 (招待講演)
- 16) **中島友紀** RANKL Biology -骨破壊から新たな制御システムまで- JCR(日本リウマチ学会)全国中央教育研修会大阪大会 大阪 12月4日2016年 (招待講演)
- 17) **中島友紀** 骨細胞による骨リモデリングの制御 第43回日本臨床バイオメカニクス学会札幌 10月8日2016年 (招待講演)
- 18) **中島友紀** RANKL Biology -骨破壊から新たな制御システムまで- JCR(日本リウマチ学会)全国中央教育研修会東京大会 東京 8月28日2016年 (招待講演)
- 19) **中島友紀** RANKL を標的とした治療戦略 第34回日本骨代謝学会 日本リウマチ学会合同シンポジウム 大阪 7月22日2016年 (招待講演)
- 20) **中島友紀** 骨リモデリングの制御機構 第2回日本骨免疫学会 沖縄 7月8日2016年 (招待講演)
- 21) **中島友紀** RANKL Biology -骨破壊から新たな制御システムまで- 第60回日本リウマチ学会総会 アニュアルコースレクチャー 横浜 4月24日2016年 (招待講演)
- 22) **中島友紀** セマフォリンによる骨リモデリングの制御 第89回日本薬理学会年会 横浜 3月9日2016年 (招待講演)

[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]

ホームページ等

<http://bonebiology.jimdo.com/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者 該当なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：小野岳人、林幹人

ローマ字氏名：Takehito Ono Mikhito Hayashi