

令和元年6月7日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20607

研究課題名(和文)咀嚼刺激によるストレス緩和作用：オキシトシンの働きの検証

研究課題名(英文)Stress relieving action by chewing, suppresses : verification of the function of oxytocin

研究代表者

山下 雅子 (yamashita, masako)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：70569946

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)：ストレス負荷と同時に咀嚼器官を活性化させることで、視床下部と扁桃体の酸素分圧と血流量が上昇することから、ストレス応答のマーカーとしてリン酸化細胞外シグナル調節キナーゼ(pERK)の発現を免疫組織学的方法で検討した。

ストレス単独で視床下部室傍核で早期に陽性細胞が上昇し、それと同時に咀嚼器官の活性化で、有意に減少した。以上の結果から、ストレス負荷と同時に咀嚼器官を活性化させることで、脳内の血流を促進させるとともに、ストレス抑制性の何らかの機構が活性化されストレス応答が緩和される可能性示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳内における摂食による摂食抑制とストレス作用について生理学的に解明した研究で、摂食と咀嚼の関係についても明らかにするもので独自性があり、学術的意義あるだけでなく社会的にも価値が高い。

研究成果の概要(英文)：Hypothalamic and amygdaloidal blood flow and O₂ levels increased in rat brains during the chewing under immobilization stress. The expression of the stress-induced increase of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase(pERK) was examined by immunohistological as a marker of stress response. Stress increased the positive cells early in the hypothalamic the paraventricular hypothalamic nucleus. Chewing stress prevented the stress-induced increase of pERK immunoreactive cells in the paraventricular hypothalamic nucleus with statistical significances. Chewing stress prevented the stress-induced increase of pERK-immunoreactive cells in the Anterior cingulate cortex with statistical significances. Chewing stress would lead to increased blood flow, the activation of stress-suppressing cells may alleviate the stress response.

研究分野：口腔外科

キーワード：ストレス 咀嚼 pERK 視床下部 chewing

1. 研究開始当初の背景

咀嚼や摂食には始まりの信号に空腹シグナルと、摂食を終了させる満腹シグナルが存在する。そのうちの満腹シグナルについては、腸管から血中に放出されるコレシストキニンが担っている。腸管内に脂肪が入るとコレシストキニンは腸管の内分泌細胞から血中へと放出され、腹部迷走神経に作用する。そして、延髄弧の束路核のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンを活性化させる。この満腹シグナルは、視床下部の満腹中枢を刺激することで摂食を終了させると考えられている。申請者はこれまでに、摂食により延髄弧の束路核のプロラクチン放出ペプチド産生ニューロンを介し、オキシトシン産生ニューロンが活性化されることで摂食終了シグナルとして働くことを明らかにした (Yamashita et al. *J Neuroendocrinol* 2013)。

また、摂食にはストレスの緩和作用があるとされている。しかし、その神経機構は不明な点が多い。これまでにオキシトシンを投与することにより不安行動が減少すること、オキシトシン産生ニューロンの活性化が抗ストレス作用として働くことが報告されている。そして、この抗ストレス作用には、摂食を増加させ、過食することで肥満の要因にもなるとされている。

一方で、咀嚼刺激によって感覚や運動領域の活性化がおこり前頭前野において賦活化される。ストレスによって脳内の前頭前野や扁桃体で賦活化した反応が咀嚼刺激を与えることで抑制される、カテコールアミンや ACTH といったストレス関連物質も抑制されるといった報告がある。ストレスにより心負荷マーカーや血圧調節因子であるアンジオテンシンの分泌は増加するとされているが、咀嚼刺激によってこれらが抑制され全身性にストレスを緩和する働きも報告されている。これまでの報告からもあるように、咀嚼刺激にはストレス緩和を担う働きがある。

申請者の所属する研究グループにより、ストレス下における酸素分圧が咀嚼刺激時において増加され、視床下部と扁桃体においては血流量が増加することを明らかにした。さらに、このストレス負荷時の咀嚼刺激によってストレス反応を受けて活性化されるマーカーが減少することが分かった。

つまり、視床下部では摂食や咀嚼刺激がストレス緩和作用の一部を担っている可能性がある。また、摂食においては視床下部でオキシトシン産生ニューロンが活性化されることから咀嚼刺激においても同様にオキシトシン産生ニューロンを介してストレス緩和作用する可能性がある。

2. 研究の目的

摂食や咀嚼刺激によってストレスが緩和される。しかし、その神経機構は不明な点が多い。ストレス環境下における咀嚼器官の活性化は、視床下部をはじめとして、脳内の特定部位が活性化することで、ストレス反応を緩和するという仮説を構築した。

この目的のために、咀嚼をすることによりストレスが緩和される動物実験モデルを用いて、ストレス下における咀嚼器官の活性化をすることによってストレス反応が緩和されているか、という仮説を検証した。

3. 研究の方法

ストレス環境下における咀嚼器官の活性化は、視床下部をはじめとして脳内の特定部位が活性化することで、ストレス反応が緩和されるかを検証することを目的とした。

このため、まず、ラットの摂食・咀嚼の実験系を用いて検証した。まず、咀嚼をすることによりストレスが緩和される動物実験モデルとして、ラットに拘束ストレスを負荷させ、同時に咀嚼させる実験動物を作成した。この実験動物を用いて、咀嚼に比べてより脳内のストレス下における咀嚼器官が活性化することで、ストレス反応が緩和されているかを検証することを目的とした。ストレス下での咀嚼の刺激が脳内に伝達され、活性化される脳内の部位とニューロンの賦活化について検証した。

咀嚼刺激による活性化の検証

咀嚼刺激により全身性にストレスが緩和されるかどうかを明らかにする目的で、成体ラットの雄に2時間の拘束ストレス負荷を与えた。拘束ストレス咀嚼群として拘束ストレス負荷中に木製の棒を噛ませてストレス発散の手順を与えさせた。ストレス負荷後の血漿コルチコステロン濃度を測定した。

さらに、咀嚼刺激により脳内が活性化されるかを明らかにする目的で、成体ラットの扁桃体および視床下部において拘束ストレス負荷時にレーザードップラー流量計を用いて脳内の血流および酸素分圧を測定し咀嚼群と評価した。

咀嚼刺激により活性化される脳内部位の検証

咀嚼刺激を受けて活性化される脳内の特定部位を検証するためにストレス反応を受けて活性

化するマーカーの分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼであるリン酸化細胞外シグナル調節キナーゼ (pERK) の発現を検証した。

成体ラットの雄を用いて対照群、拘束ストレス群、拘束ストレス咀嚼群において島皮質と中脳中心灰白質、視床下部の室傍核での pERK の発現を検証した。また、脳を灌流固定後、帯状皮質の3領域である前部、中部および後部での pERK の発現を免疫組織学的に染色した。免疫組織学的に染色し、活性化された pERK の細胞数を検証した。

4. 研究成果

咀嚼刺激による全身性および中枢の活性化

拘束ストレス負荷中に咀嚼させることで拘束ストレス時の血漿コルチコステロン濃度と比較して有意に抑制されていることが明らかとなった。

さらに、ラットの扁桃体および視床下部において拘束ストレス負荷時では脳内の血流および酸素分圧は減少し、咀嚼させることで脳内の血流と酸素分圧の減少が回復した。

咀嚼刺激により活性化をうける脳内

咀嚼刺激を受けることで脳内は活性化することが明らかとなった。咀嚼刺激を受けて活性化される脳内の特定部位を検証するためにストレス反応を受けて活性化するマーカーの分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼであるリン酸化細胞外シグナル調節キナーゼ (pERK) の発現を検証したところ、拘束ストレス咀嚼群において島皮質と中脳中心灰白質、視床下部の室傍核での pERK の発現が有意に減少していた。

また、脳を灌流固定後、帯状皮質の前部、中部および後部での pERK の発現を免疫組織学的に染色し活性化された pERK の細胞数を検証したところ、帯状皮質では拘束ストレス下での咀嚼群において pERK の免疫反応性細胞の数は有意に増加していた。

これらのデータより、拘束ストレス負荷において咀嚼させることで血漿コルチコステロン濃度が抑制することで全身性のストレスが緩和されていることが明らかとなった。また、咀嚼によって扁桃体、視床下部において脳内の血流、酸素分圧は上昇していたことから視床下部においてはその抗ストレス作用の中核の一部を担っている可能性が示唆された。

咀嚼刺激によって島皮質と中脳中心灰白質、視床下部の室傍核での pERK の発現が有意に減少していた。視床下部の室傍核においてはストレス緩和に関連していると示唆された。

帯状皮質の前部、中部および後部での pERK の発現を免疫組織学的に染色し活性化された pERK の細胞数を検証したところ、前帯状皮質では拘束ストレス下での咀嚼群において pERK の免疫反応性細胞の数は有意に増加していた。これらは、帯状皮質においてストレスが咀嚼刺激を介することで抑制的に働くことが示唆された。

以上の結果より、咀嚼刺激は脳内の血流量を増加させ、酸素分圧を上昇させることで、視床下部の室傍核は活性化される。そして、島皮質や中脳中心灰白質の帯状皮質の脳領域と視床下部の室傍核が共有し、ストレス応答性細胞の増加を阻害することで抗ストレス作用としてストレス効果の減弱に関与しているということが検証された。また、摂食することで視床下部の室傍核からオキシトシン産生ニューロンが活性化することから、咀嚼刺激においても抗ストレス反応としてオキシトシンが活性化される可能性があることが示唆された。

<引用文献>

M Yamashita, Y Takayanagi, M Yoshida, K Nishimori, M Kusama, T Onaka. Involvement of prolactin-releasing peptide in the activation of oxytocin neurones in response to food intake. *Journal of Neuroendocrinology*. 25(5),2013,455-65

S Miyake, S Wada-Takahashi, H Honda, S Takahashi, K Sasaguri, S Sato, M Chang. Stress and chewing affect blood flow and oxygen levels in the rat brain. *Archives of Oral Biology*. 57(11),2012,1491-97

5. 主な発表論文等

〔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）

6 . 研究組織

(1)研究分担者

該当者なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：笹栗健一

ローマ字氏名：SASAGURI Kenichi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。