

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月14日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659900

研究課題名（和文） アルツハイマー病と歯の喪失・咬合の関連メカニズムの分子基盤

研究課題名（英文） The molecular basis of association mechanism between Alzheimer's disease and tooth loss

研究代表者

赤川 安正 (AKAGAWA YASUMASA)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究院・教授

研究者番号：00127599

研究成果の概要（和文）：

アルツハイマー病と歯の喪失との関連を明らかにするために、アルツハイマー病モデルマウスを用いて抜歯群と非抜歯群を比較した。その結果、 $A\beta$ 沈着に有意差は認められなかったが、非抜歯群に比較して抜歯群の錐体細胞は有意に減少しており、行動実験の結果が劣っていた。歯の喪失はアルツハイマー病の原因分子である $A\beta$ に影響を及ぼさない経路でアルツハイマー病の発症・憎悪に関わっていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

To elucidate the association between tooth loss and Alzheimer's disease, we compared tooth extracted group with tooth intact group using Alzheimer's model mice. As a result, we found that tooth loss did not influence the accumulation of  $A\beta$ . However, the number of pyramidal cell of tooth extracted group is decreased compared with tooth intact group. And, the results of behavioral test revealed that tooth loss deteriorates the learning and memory ability. We could suggest that tooth loss affect the AD pathogenesis or AD onset through another pathway of well-known amyloid cascade.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：歯の喪失，アルツハイマー病，アミロイド $\beta$ 

## 1. 研究開始当初の背景

これまでの疫学研究から、歯の喪失がアルツハイマー病の発症を2.89倍高める危険因子とされているが、この詳細はほとんど明らかにされていない。そこで、アルツハイマー病の原因分子であるアミロイド $\beta$ 蛋白の動態を指標として、アルツハイマー病と歯の喪失の関連メカニズムを分子生物学的に明らかにしたいと着想した。

## 2. 研究の目的

本研究では、アルツハイマー病と歯の喪失との関連メカニズムを分子生物学的及び生化学的に解明する第一歩として、まず、アルツハイマー病を実験的に起させるAPPトランスジェニックマウスを用いて、歯の喪失や咬合状態を実験的に改変した状態での脳内 $A\beta$ の動態を解析する。さらに、APPトランス

ジェニックマウスの学習・記憶・認知機能の低下も迷路行動実験にて評価する。これらにより、歯の喪失がアルツハイマー病発症につながる分子基盤を明らかにしたい。

### 3. 研究の方法

実験動物には、年齢依存的に脳内にアミロイドβ蛋白 (Aβ) 沈着が生じてAD病態を呈するADモデルマウスの雌性APPトランスジェニックマウス (J20, 6ヵ月齢) 21匹を用いた。6ヵ月齢の時点で、上顎両側臼歯を抜歯して歯の喪失を起こさせた臼歯喪失群 (n=11) と抜歯処置を施さない対照群 (n=10) の2群に分けた。6ヵ月齢と10ヵ月齢の各時点で、体重および血糖値の測定を行って歯の喪失による全身への影響を評価するとともに、行動実験による学習・記憶能の評価を行った。行動実験にはステップスルー型受動的回避試験(図1)を用い、6ヵ月齢の時点でマウスに嫌悪刺激記憶を獲得させ、その4ヵ月後の10ヵ月齢の時点における学習・記憶能を評価した。この結果に基づいて、マウスを学習・記憶能が低下しているもの(機能低下群)と同機能を維持しているもの(機能維持群)に分けた。加えて、10ヵ月齢の時点で血中コルチコステロン濃度を測定して歯の喪失によるストレスの影響も評価した。先の評価が終了した後マウスを屠殺、脳を摘出し矢状方向で半切した。神経病理学的検討には右側脳を用い、免疫組織化学染色による海馬領域のAβ沈着の面積を算出するとともに、ニッスル染色による海馬CA1およびCA3領域の特定後、それぞれにおける錐体細胞数および同細胞面積を測定した。生化学的検討には左側脳を用い、老人斑の形成に関与するAβ40およびAβ42の2種類のAβ濃度をELISAにて測定した。これらのデータはStudentのt検定およびFisherの正確確率検定を用いて、危険率5%で統計学的に検討した。

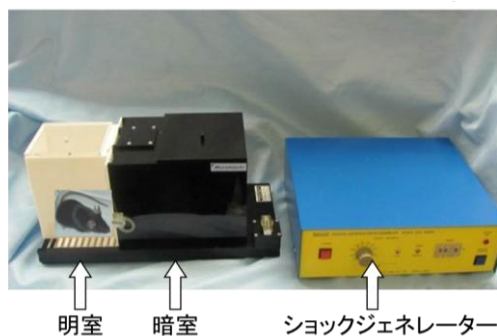


図1. ステップスルー型受動的回避試験装置

### 4. 研究成果

観察期間中に4匹のマウスが死亡したため、2観察時点での実際の研究対象は臼歯喪失群10匹、対照群7匹となった。6ヵ月齢と10

ヵ月齢の各時点での両群間の体重および血糖値には有意差はなかった。10ヵ月齢の時点で行ったステップスルー型受動的回避試験の結果、臼歯喪失群は機能低下群6匹と機能維持群4匹に分類され、一方で対照群は機能低下群0匹、機能維持群7匹であったことから、臼歯喪失群は対照群に比較して学習・記憶能が低下するマウスの割合が有意に高かった。10ヵ月齢の時点での血中コルチコステロン濃度には両群間で有意差はなかった。Aβ沈着の面積は臼歯喪失群と対照群でそれぞれ  $295.6 \pm 48.4 \mu\text{m}^2$ ,  $308.0 \pm 89.4 \mu\text{m}^2$  であり、有意差は認められなかった(図2)。ELISAによるAβ40およびAβ42の各濃度も両群間に有意の差はなかった。錐体細胞数をみたところ、CA1とCA3領域ともに臼歯喪失群(CA1:  $89.1 \pm 4.0$ , CA3:  $69.4 \pm 3.5$ )は対照群(CA1:  $101.0 \pm 3.9$ , CA3:  $92.4 \pm 4.9$ )に比較して有意に少なかった。一方、錐体細胞の面積には有意な差はみられなかった(図3, 4)。次いで、臼歯喪失群の中の機能低下群(6匹)と機能維持群(4匹)についてさらに検討したところ、Aβ沈着の面積およびAβ40, Aβ42の各濃度に関して、いずれも両群間で有意差はみられなかった。錐体細胞数をみると機能低下群と機能維持群で有意差はなかったものの、錐体細胞面積はCA1とCA3領域ともに機能低下群が機能維持群に比較して有意に小さかった。これらの結果から、歯の喪失は脳内のAβの分子病態には影響を及ぼさない一方で、海馬CA1およびCA3領域における錐体細胞数および同細胞面積の減少により、学習・記憶能の低下を引き起こしていることが判明した。

以上の結果から、歯の喪失はアミロイド・カスケード仮説とは異なるメカニズムでADの分子病態に影響を及ぼすことが強く示唆され、歯の喪失とAD発症との関連を解明するうえで有益な所見を集積することができた。

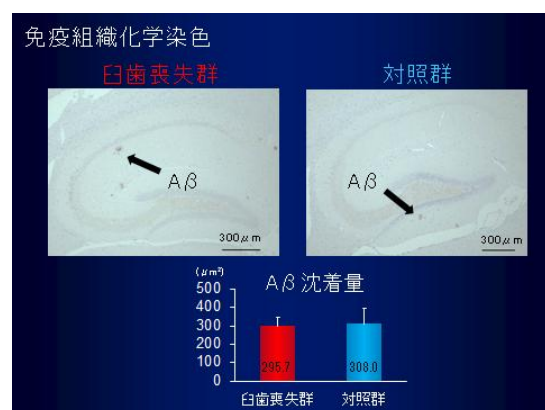


図2. 臼歯喪失群と対照群の免疫組織化学染色像およびAβ沈着の面積の結果

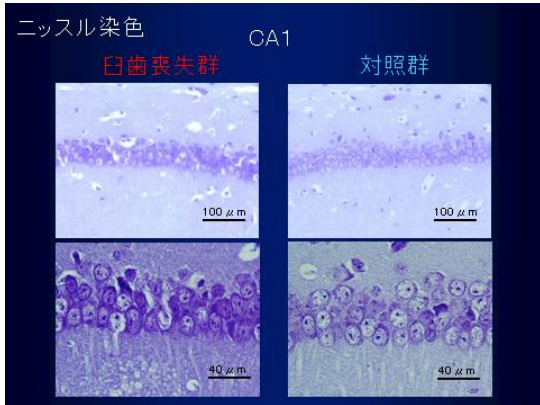


図3. 海馬 CA1 領域における白歯喪失群および対照群のニッスル染色像の弱拡大および強拡大

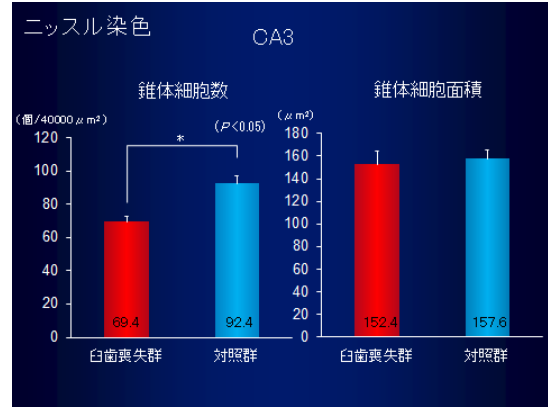


図6. 海馬 CA3 領域における白歯喪失群および対照群の錐体細胞数および錐体細胞面積

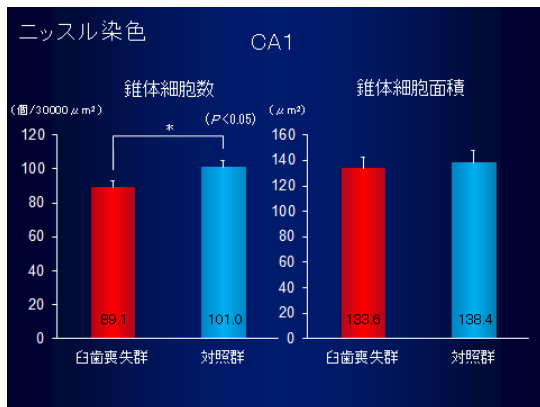


図4. 海馬 CA1 領域における白歯喪失群および対照群の錐体細胞数および錐体細胞面積

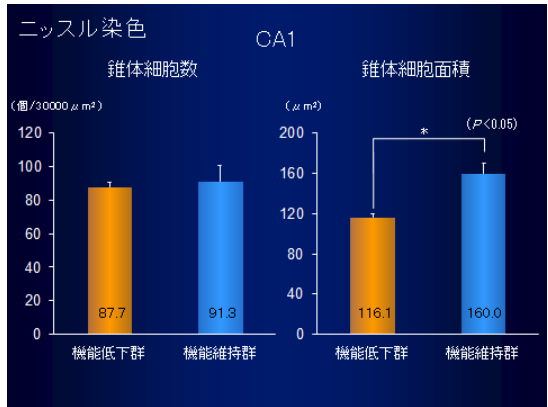


図7. 海馬 CA1 領域における機能低下群および機能維持群の錐体細胞数および錐体細胞面積

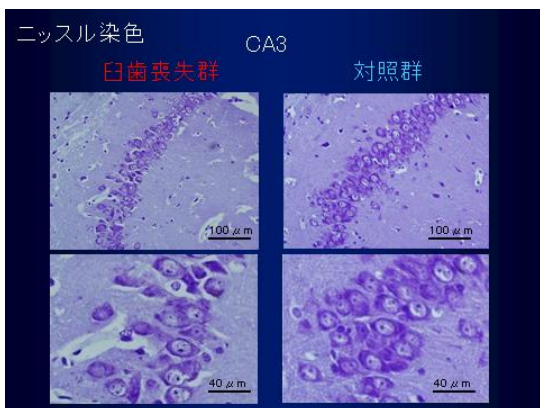


図5. 海馬 CA3 領域における白歯喪失群および対照群の錐体細胞数および錐体細胞面積

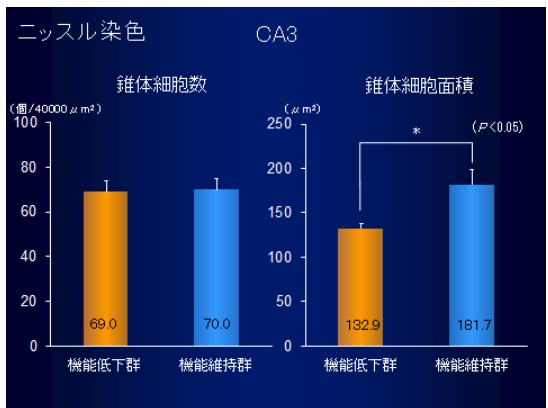


図8. 海馬 CA3 領域における機能低下群および機能維持群の錐体細胞数および錐体細胞面積

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1件)

1. Oue Hiroshi, Yasunari Miyamoto, Shinsuke Okada, Katsunori Koretake, Yasumasa Akagawa. Tooth loss induces memory impairment and neuronal cell loss. 91th IADR, 20-23 Mar 2013, Seattle U.S.A

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤川 安正 (AKAGAWA YASUMASA)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究院・教授

研究者番号：00127599

(2) 研究分担者

道川 誠 (MICHIKAWA MAKOTO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40270912

(3) 連携研究者

宮本 泰成 (MIYAMOTO YASUNARI)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究院・助教

研究者番号：00555146