

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792444

研究課題名(和文)咀嚼変化が脳内老化に及ぼす影響について

研究課題名(英文)The effects of masticated alteration on brain and aging

研究代表者

榎本 明子(ENOMOTO, AKIKO)

昭和大学・歯学部・普通研究生

研究者番号：60514982

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：咀嚼は最も重要な口腔機能の一つであり、離乳期以降の咀嚼獲得期は、脳神経の発達・成熟期と一致している。しかし、離乳後の咀嚼が脳発育に果たす役割については未だ不明な点が多い。本研究において我々は、マウスの網羅的行動試験、神経新生の解析、遺伝子発現解析を行い、離乳後の咀嚼が脳機能に与える影響について検討を行った。その結果、通常の硬食群に比べ軟食群に有意な行動異常(プレパルス抑制試験の低下)や、海馬の神経新生の抑制、神経栄養因子(BDNF)等の遺伝子発現量の低下が認められた。これらの結果から離乳後の軟食は海馬の組織・分子学的変化をもたらし、精神疾患に関係する行動に影響を与える可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Mastication is one of the most important oral functions, and the period during which mastication is acquired overlaps with the term of rapid development and maturation of the neural systems. However, the roles of mastication during this period for brain development remain largely unknown. Therefore, we used a series of standard behavioral analyses, assessment of hippocampal cell proliferation, and the gene expression analysis of mice to investigate the effects of post-weaning mastication on brain function. Compared to mice fed a hard diet (HDM), soft-diet mice (SDM) showed behavioral impairment in pre-pulse inhibition, significantly decreased hippocampal cell proliferation and brain-derived neurotrophic factor(BDNF) gene expression. These results were similar to those observed in mouse models of schizophrenia. A soft diet after weaning may have resulted in histological and molecular changes in the hippocampus and influenced outcomes of behavioral tests related to mental disorders.

研究分野：脳神経

科研費の分科・細目：矯正・小児系歯学

キーワード：脳機能 咀嚼 老化 行動解析 遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

近年、食生活の軟食化が問題視されている。現代人は、咀嚼回数が著しく減少していると云われている。また、咀嚼回数の減少は、顎の発育低下、肥満や痴呆などとの関連性があると指摘されている。一方で、軟食が脳機能にどのような影響を与えているのかについて記憶や海馬等に関する研究は散見される (Occlusion and brain function:mastication as a prevention of cognitive dysfunction. Ono Y.J. Oral Rehabil.2010.37(8):624-40) が、それ以外の脳機能に関しては、殆ど報告がない。そこで我々は、精神疾患と成長発育期の軟食との関連に着目し検討を行ってきた。本研究では、さらに軟食が老化に及ぼす影響を脳機能の観点から比較検討を行う。

2. 研究の目的

本研究では、成長期からの咀嚼習慣(食べ物の硬さ)が脳の成長発育ならびに老化に大きな変化をもたらすと仮説を立て、マウス行動解析を用いた脳の機能的評価、脳の組織学的評価、および遺伝子発現変化について比較検討を行った。

3. 研究の方法

(1) 網羅的行動試験による生理学的評価

3週齢 C57BL系マウスを用い実験群を、以下の3群(各群10匹)に分類する。
 HDM: 通常の硬いペレット飼料を与えた群
 SDM: 軟餌飼料を与えた群
 SHDM: 軟餌飼料を4週間与え、その後通常飼料に変更した群

上記のように分類したマウスを各群、以下5項目の行動試験を行った。

- 網羅的行動試験
- Home cage activity test
- Open field test
- プレパルス抑制試験
- Tail suspension test

(2) 海馬における神経新生の評価

3週齢 C57BL系マウスを用い実験群を、以下の5群(各群5匹)に分類する。
 HD7W: 通常の硬いペレット飼料を4週間与えた群
 SD7W: 軟餌飼料を4週間与えた群
 HD14W: 通常の硬いペレット飼料を11週間与えた群
 SD14W: 軟餌飼料を11週間与えた群
 SHD14W: 軟餌飼料を4週間与え、その後ペレット飼料に変更し7週間与えた群

上記のように分類したマウスを各群、組織学的に海馬神経新生の評価を行った。BrdU 標識を行ったマウスを還流固定後、海

馬を取り出し凍結切片を作成した。一次抗体として抗 BrdU 抗体、二次抗体として lexa fluor 488 goat anti-mouse IgG を使用し免疫染色を行い、増殖した神経細胞のカウント試験を行った。

(3) 海馬、前頭葉皮質における定量的遺伝子発現量の比較

3週齢 C57BL系マウスを用い実験群を、(2)と同様に各5群(各群5匹)に分類した。Real-time PCR を用い、各部位での遺伝子発現量について比較検討を行った。遺伝子の種類は行動実験での生理学的評価と海馬神経新生での組織学的評価で得られた結果から選択し実施した。

4. 研究成果

(1) 行動実験の結果

網羅的行動試験

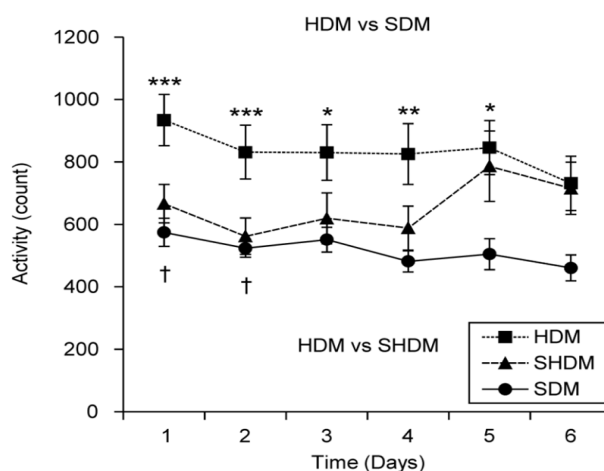
~ の試験以外に体重測定、記憶・学習試験、認知試験、運動能力試験を行った。

	HDM	SHDM	SDM
7w	21.29 ± 0.42	—	22.51 ± 0.31
14w	25.45 ± 0.47	25.84 ± 0.27	27.43 ± 0.30**

体重測定において、HDM に比べ SDM で有意に体重が増加した。(p<0.001)

Home cage activity test

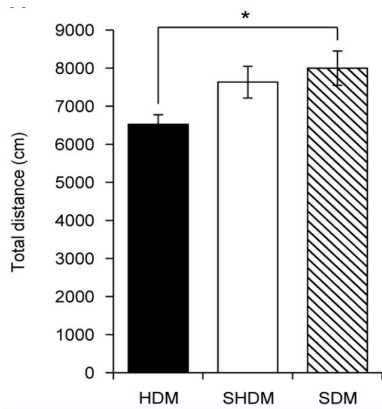
本試験は、固体の情動性など基本的な活動性を反映している。



SDM は HDM に比べ 5 日間で有意に活動量の低下が認められた(p<0.001)。SHDM は HDM に比べ 2 日間で有意に活動量の低下が認められた(p<0.05)。

Open field test

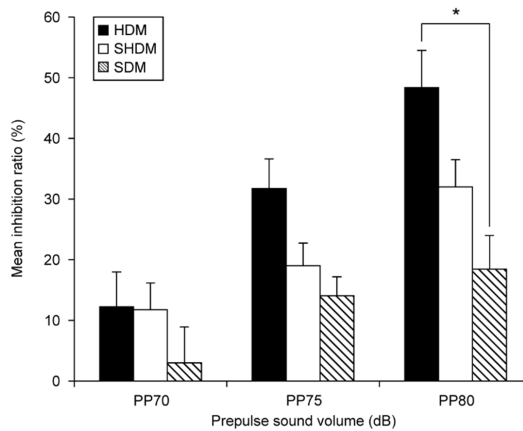
本試験は新規環境での活動性を計測し、個体の情動性の指標となる。



SDM は HDM に比べ有意に新規環境での活動量の増加が認められた ($p < 0.05$)。

プレパルス抑制試験

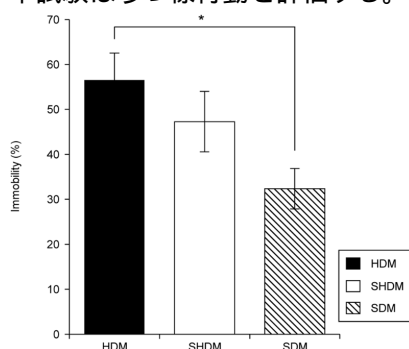
本試験は感覚フィルター機能を数値化し評価する生理学的検査。



SDM が HDM に比べ有意にプレパルス抑制試験の低下が認められた。 ($p < 0.05$)

Tail suspension

本試験はうつ様行動を評価する。

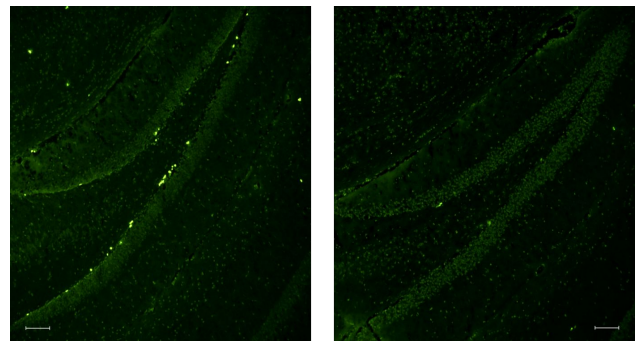


SDM が HDM に比べ有意に無動時間の短縮が認められた。 ($p < 0.05$)

(2)海馬における神経新生の評価

HD14W

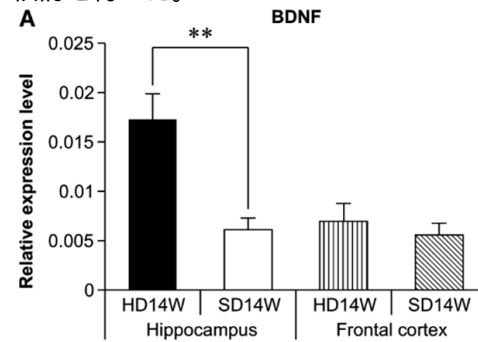
SD14W



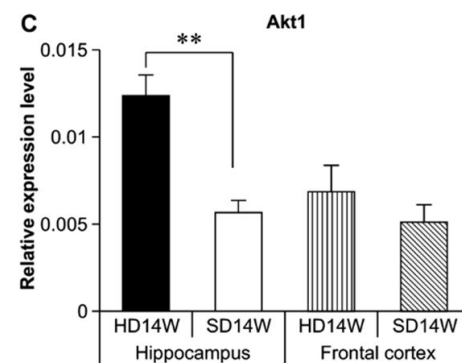
神経細胞数のカウント試験において HD14W に比較し SD14W で、有意に神経新生の低下が認められた。 ($p < 0.001$)

(3)海馬、前頭葉皮質における定量的遺伝子発現量の比較

Real-time PCR を用い、各部位における遺伝子発現について数種の遺伝子を選択し比較検討を行った。



海馬において HDM14W に比べ SDM14W で BDNF 遺伝子発現量の有意な低下が認められた ($p < 0.01$)。



海馬において HDM14W に比べ SDM14W で Akt1 遺伝子発現量の有意な低下が認められた ($p < 0.01$)。

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 1 件)

Nose-Ishibashi K, Watahiki J, Yamada

K, Maekawa M, Watanabe A, Yamamoto G, Enomoto A, Matsuba Y, Nampo T, Taguchi T, Ichikawa Y, Saito TC, Mishima K, Yamaguchi Y, Yoshikawa T, Maki K
Soft-diet feeding after weaning affects behavior in mice: potential increase in vulnerability to mental disorders
Neuroscience 263 (2014) 257-268
Accepted 31 December 2013

〔学会発表〕(計 5 件)

野瀬佳奈、綿引淳一、山本剛、市川雄大、山田一之、前川素子、榎本明子、南保友樹、田口智博、小野美樹、美島健二、吉川武男、榎宏太郎
成長発育期の軟食と精神疾患発症との関連性について(第二報)
第 71 回日本矯正歯科学会学術大会プログラム抄録集, 32, 2012

Junichi Watahiki, Kana Nose, Tomohiro Taguchi, Gou Yamamoto, Akiko Enomoto, Kazuyuki Yamada, Motoko Maekawa, Tomoki Nampo, Yuta Ichikawa, Miki Ono, Kenji Mishima, Takeo Yoshikawa, Koutaro Maki
Soft-diet feeding immediately after weaning results in a deficit of prepulse inhibition and causes changes in the gene expression profile in the brain of mice
第 35 回 日本神経科学学会;(2012 年 9 月 18 日~21 日)

野瀬佳奈、綿引淳一、山本剛、市川雄大、前川素子、榎本明子、南保友樹、美島健二、吉川武男、榎宏太郎
離乳時からの軟食は精神疾患の発症リスクを高める可能性がある
第 54 回歯科基礎医学会学術大会学術集会プログラム抄録集, 114, 2012

Kana Ishibashi-Nose, Junichi Watahiki, Gou Yamamoto, Kazuyuki Yamada, Yuta Ichikawa, Motoko Maekawa, Akiko Enomoto, Tomoki Nampo, Tomohiro Taguchi, Miki Ono, Takeo Yoshikawa, Koutaro Maki
Soft-diet feeding during development may increase vulnerability to mental disorders in mice
Dental Medicine Research, 32(3): 245, 2012

Kana Ishibashi-Nose, Junichi Watahiki, Motoko Maekawa, Akiko Watanabe, Akiko Enomoto, Tomoki Nampo, Tomohiro Taguchi, Yuta Ichikawa, Miki Ono, Koutaro Maki
Influence of Soft-diet Feeding on Hippocampal Neurogenesis in Young Mice after Weaning.
Dental Medicine Research, 32(1): 42-43,

2012

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榎本 明子(ENOMOTO AKIKO)

昭和大学・歯学部・歯科矯正学教室・普通研究生

研究者番号: 60514982

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: