

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3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23792512

研究課題名（和文） 咬合異常とアルツハイマー病との関連性

研究課題名（英文） Relationship between occlusal disharmony and Alzheimer's disease

研究代表者

江國 大輔（EKUNI DAISUKE）

岡山大学・岡山大学病院・講師

研究者番号：70346443

研究成果の概要（和文）：ラット海馬のアミロイドβの蓄積および認知障害に対して、アポリポ蛋白E欠損および咬合異常がどのような影響を与えるかを調べることを目的とした。8週齢SD系雄性ラット（ワイルドタイプ）、および同系のアポリポ蛋白E欠損ラットを用いた。迷路実験では、正答数においてそれぞれの種の咬合異常群で対照群より有意に少なかった。咬合異常群の海馬には、対照群に比べてアミロイドβの蓄積が有意に多かった。アミロイドβ42のみ種による差がみられた。ラット海馬のアミロイドβの蓄積および認知障害に対して、アポリポ蛋白E欠損よりも咬合異常による影響の方が大きかった。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the present study was to investigate the effects of apolipoprotein E (apoE) deficiency and occlusal disharmony on Amyloid-β (Aβ) production and spatial memory. Wild-type (WT) (n = 12) and apoE-deficient [ApoE(-/-)] (n = 12) rats (Sprague-Dawley; 8 weeks old) were used. In both genotypes of rats, significant differences in the reference memory and Aβ42 production were observed between the control and occlusal disharmony groups. However, no significant differences in these parameters were found between the two genotypes with occlusal disharmony. In conclusion, occlusal disharmony induces cognitive dysfunction and Aβ accumulation in the rat hippocampus, and occlusal disharmony abolishes the differences between genotypes.

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	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：予防歯科学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：歯学・アルツハイマー病・咬合異常・アミロイドβ

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病は、脳を構成している神

経細胞が通常の老化よりも急速かつ病的に減少することによって、認知症に至り、QOLの低下を招く。40歳頃から90歳に至るまで

広い範囲で発病するが、特に高齢者で多く発病する。高齢者の認知症の患者のうち約45%がアルツハイマー病といわれており、近年徐々にアルツハイマー病の割合が増加している。神経変性を伴う病気の中では一番数が多いものであり、高齢社会においてはますます重要な病気である。原因は不明であるが、アミロイドβの蓄積・タウタンパクのリン酸化・酸化ストレス・アポリポ蛋白Eが関与すると考えられている。一方、アルツハイマー病の患者は血管性の認知障害の患者より歯の喪失が多いことがいわれているが、その詳細なメカニズムは不明である。

咬合異常は、ストレスや認知障害に関連していると考えられる。申請者のグループは、ヒトにおける疫学調査で咬合異常がストレスを引き起こす可能性を報告した。動物モデルにおいては、咬合異常がストレスホルモンの上昇や認知障害を引き起こすことがわかっている。例えば、老化モデルマウスの歯牙を喪失させると血液中の cortisol が上昇し、迷路テストの正答率が悪化する。しかし、咬合異常とアルツハイマー病との関連を検討した報告は皆無に等しい。高齢社会となったわが国において、多くの高齢者が抱えるアルツハイマー病の原因を歯科領域からも追究することは意義が大きい。すなわち、咬合異常の予防や早期発見・早期治療がQOLの向上につながることを期待される。

以上のことから、動物咬合異常モデルにおいてアルツハイマー病との関連を検討することに着目した。

申請者のグループは、これまでに動物モデルの開発・応用について研究してきた。具体的には以下の研究成果があり、この研究分野に豊富な経験を持ち、数多くの論文・発表を行っている。

(1) ラット歯周炎モデルにおける歯周炎による肝臓への障害作用および酸化ストレスの関与

(2) 高脂血症モデルにおける歯周病の改善に対するビタミンC(抗酸化作用)の有効性

(3) アテローム性動脈硬化初期病変モデルにおけるインスリン抵抗性・酸化ストレスの関与

(4) 口臭モデルにおける揮発性硫黄化合物の歯槽骨への異害作用

そこで、これまでの動物モデルの研究を進展させ、咬合異常とアルツハイマー病との関連を調べ、そのメカニズムを検討することにした。

アポリポ蛋白Eは、アルツハイマー病に重要な役割を担っている。そのため、本研究では、アルツハイマー病との関連を検討するために、アポリポ蛋白E欠損ラットを用いることにした。

2. 研究の目的

ラット海馬のアミロイドβの蓄積および認知障害に対して、アポリポ蛋白E欠損および咬合異常がどのような影響を与えるかを調べることを目的とした。

3. 研究の方法

8週齢SD系雄性ラット(ワイルドタイプ)12匹、および同系のアポリポ蛋白E欠損ラット12匹を、各2群の計4群(各6匹)に分けた。それぞれの種の咬合異常群では、ベースライン時に上顎臼歯の咬頭を削合して8週間飼育した。対照群では無処置で通常飼育した。

ベースライン・4週目・8週目に8方向放射状迷路実験を行い、認知障害について調べた。実験期間終了後、血液と海馬を採取した。ストレスマーカーとして血液中の cortisol 濃度をELISA法で測定した。

海馬からベータアミロイド濃度(ELISA法)、ベータアミロイド産生酵素ベータセクレターゼの遺伝子発現(Real time PCR法)、および断片化カスパーゼ3(アポトーシスの指標)のタンパク濃度(ウェスタンブロット法)を調べた。

統計分析にはt検定(Bonferroniの補正)(有意水準0.0125)を用いた。

4. 研究成果

迷路実験では、正答数においてそれぞれの種の咬合異常群で対照群より有意に少なかった($P < 0.0125$)(図1)。エラー回数および費やした時間においては、4群間で差はなかった。

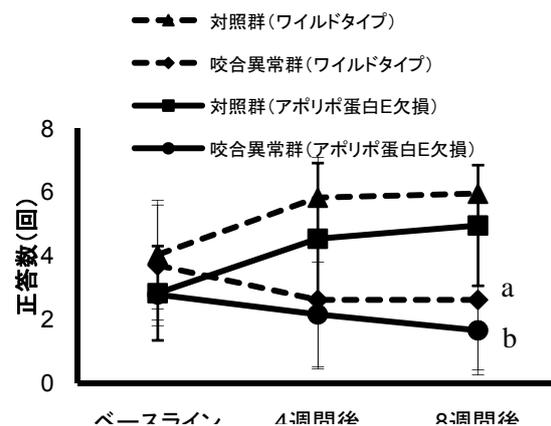


図1: 迷路実験における正答数の変化
*a: 対照群(ワイルドタイプ)との差
b: 対照群(アポリポ蛋白E欠損)との差

これらの咬合異常による認知障害の結果は、過去の研究と同様であった。ヒトにおいても、咬合異常が認知障害と関連する可能性が示唆された。

血液中のコルチコステロン濃度は、それぞれの種において咬合異常群で対照群より有意に高くなった(図2)。咬合異常によりストレスが誘導されていることがわかった。今回新たに、アポリポ蛋白E欠損ラットでもこの現象が確認された。

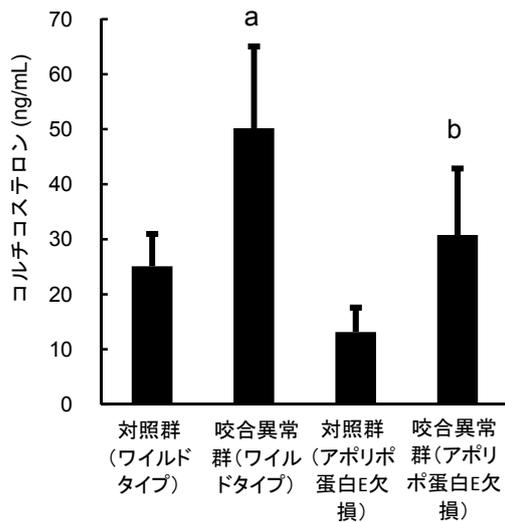


図2 血中コルチコステロンの比較

*a: 対照群 (ワイルドタイプ) との差

b: 対照群 (アポリポ蛋白E欠損) との差

咬合異常群の海馬には、対照群に比べてベータアミロイド42の蓄積、断片化カスパーゼ3の発現、およびベータセクレターゼの遺伝子発現が有意に多かった。アミロイドβ42のみ種による差がみられた(図3)。

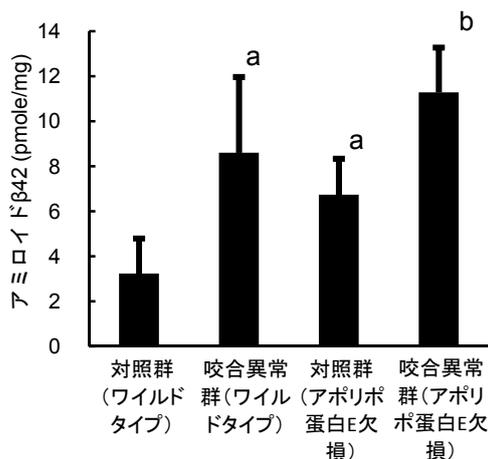


図3 アミロイドβ42の比較

*a: 対照群 (ワイルドタイプ) との差

b: 対照群 (アポリポ蛋白E欠損) との差

以上の結果より、ラット海馬のアミロイド

βの蓄積および認知障害に対して、アポリポ蛋白E欠損よりも咬合異常による影響の方が大きいことが新たにわかった。

本研究の成果は、咬合異常の予防や早期発見・早期治療が口腔機能の改善だけでなく、脳の健康やQOLの向上につながることを示唆しており、その社会的意義は大きい。

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)

① Ekuni D, Tomofuji T, Irie K, Azuma T, Endo Y, Kasuyama K, Morita M, Occlusal disharmony increases amyloid-β in the rat hippocampus, *Neuromolecular Med*, 査読有, 13巻, 2011, 197-203

[学会発表] (計2件)

① 江國大輔, 遠藤康正, 友藤孝明, 東哲司, 入江浩一郎, 粕山健太, 米田俊樹, 森田学, アポリポ蛋白E欠損と咬合異常によるラット海馬および認知障害への影響, 第62回日本口腔衛生学会・総会, H25年5月15-17日, 松本市

② 江國大輔, 友藤孝明, 入江浩一郎, 東哲司, 遠藤康正, 粕山健太, 森田学, 咬合異常はラット海馬におけるβアミロイド量を増加させる, 口腔衛生学会 近畿・中国・四国地方会総会, H23年10月2日, 徳島

[その他]

ホームページ等

http://www.cc.okayama-u.ac.jp/~preventive_dentistry/top.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江國 大輔 (EKUNI DAISUKE)
岡山大学・岡山大学病院・講師
研究者番号: 70346443

(2) 研究協力者

① 森田 学 (MORITA MANABU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 40157904

②友藤 孝明 (TOMOFUJI TAKAAKI)
岡山大学・岡山大学病院・講師
研究者番号：80335629

③東 哲司 (AZUMA TETSUJI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：80432649

④遠藤 康正 (ENDO YASUMASA)
岡山大学・岡山大学病院・医員
研究者番号：50580213

⑤入江 浩一郎 (IRIE KOICHIRO)
岡山大学・岡山大学病院・医員
研究者番号：50509594