

学位論文内容の要旨

論文提出者	倉田知香
論文審査委員	(主査) 田村康夫 (副査) 江尻貞一 (副査) 藤原周
論文題目	歯の早期喪失が海馬神経細胞のネットワークに及ぼす影響
論文内容の要旨	<p>〈目的〉</p> <p>これまでに老化促進モデルマウス (SAMP8) を用いて、歯の萌出直後に上顎臼歯を抜歯する (早期喪失群) と加齢に伴う空間認知能の低下と海馬神経細胞の減少が加速されることを明らかにしてきた。一方、最近の研究により、生体でも限られた脳の部位 (海馬歯状回と側脳室下層) で神経幹細胞が存在し、神経細胞の誕生が続いていることが明らかとなっている。このため、海馬における細胞新生は、海馬機能維持に極めて重大な役割を演じているとともに、この細胞増殖はストレス等の影響を受けやすいことが報告されている。他方、中枢神経におけるシナプス形成は情報入力の影響を受けることから加齢に伴いその量が減少することが分かっている。本研究では歯の早期喪失が海馬歯状回における細胞新生と中枢神経におけるシナプス形成に及ぼす影響を解析し、歯の早期喪失に伴う空間認知能低下の原因を検討した。</p> <p>〈対象および方法〉</p> <p>実験には1ヶ月齢 (若齢期) の雄の SAMP8 を用いた。ネンブタール麻酔下でマウスの上顎臼歯を抜歯した後、通常の方法でマウスを飼育した (早期喪失群)。生化学的、行動学および組織学的検索には、処置後1週間 (若齢期群)、4ヶ月間 (成熟期群) および8ヶ月間 (老齢期群) 経過したマウスを用いた。</p> <p>まず初めに、歯の喪失が慢性ストレスとして作用しているかどうかを調べるため、血中のコルチコステロン (CO) 濃度をラジオイムノアッセイ法により測定した。</p> <p>次いで、若齢期群は処置後8日目から、成熟期群は4ヶ月後から、老齢期群は8ヶ月後から、Morris 水迷路学習テストを1日に4回ずつ1週間連続して実施し、歯の早期喪失が海馬の空間認知能に与える影響を検討した。</p> <p>次に、水迷路学習テスト5、6、7日目、新生細胞のマーカーである BrdU を腹腔内投与し、水迷路終了日 4%パラホルムアルデヒド溶液でマウスを灌流固定し、速やかに脳を摘出した。摘出した脳を 40 μm に薄切片し、DNA 切断処理後、抗 BrdU 抗体を用いて ABC 法で免疫染色を施し、海馬歯状回における BrdU 陽性細胞数を定量的に計測した。また、新生細胞の神経細胞とグリア細胞への分化率を検索するため、老齢期群に BrdU 投与し21日後</p>

灌流固定し、抗 BrdU 抗体と抗 NeuN 抗体、抗 GFAP 抗体を用いて免疫蛍光二重染色を行った。

最後に、脳内シナプスの量を計測するためシナプスのマーカーであるシナプトフィジンの発現量を免疫染色法とウエスタンブロット法により検討した。

〈結果〉

成熟期群と老齢期群の血中 CO 濃度は、同齢のコントロール群に比較して有意に上昇していた ($P < 0.01$)。しかし、若齢期群では両群の間に有意差な差は認められなかった。

Morris 水迷路学習テストでは、コントロール群と歯の早期喪失群ともに日を経るに従ってプラットフォームへの到達時間が短縮 ($P < 0.001$) するとともに、加齢にともないプラットフォームへの到達時間が有意に延長した ($P < 0.001$)。また、歯の早期喪失群の到達時間は、コントロール群に比較して有意に延長していた ($P < 0.001$)。

早期喪失群の海馬歯状回における BrdU 陽性細胞数は若齢期群では両群の間で差は認められなかったが、成熟期群、老齢期群の早期喪失群ではコントロール群に比較して有意に減少していた ($P < 0.01$)。また、コントロール群では Morris 水迷路学習テストによって BrdU 陽性細胞数が顕著に増加した ($P < 0.01$) が、早期喪失群では学習テストを行っても BrdU 陽性細胞数は増加しなかった。さらに、新生細胞の神経細胞への分化率は、早期喪失群とコントロール群の間で顕著な差は認められなかった。

免疫染色とウエスタンブロット法の結果から、シナプトフィジンの発現量はコントロール群に比べて早期喪失老齢マウスで有意に減少していた ($P < 0.05$)。

〈考察〉

早期に抜歯した成熟期マウスと老齢期マウスでは、海馬歯状回での細胞新生数が顕著に減少したことから、歯の早期喪失は海馬での加齢にともなう細胞新生機能の減衰をさらに加速させるものと考えられた。早期喪失老齢マウスでは、探索行動にリンクした海馬での細胞新生の増加がみられなかったことを考え合わせれば、歯の早期喪失は海馬への神経細胞供給機能を障害し、海馬内の神経ネットワーク構築を障害しているものと考えられた。また、シナプス前器官のマーカーであるシナプトフィジンの発現量が早期喪失老齢マウスの海馬で顕著に減少していたことから、歯の早期喪失は海馬への情報入力量を減少させるものと考えられた。さらに、早期喪失成熟マウスと老齢マウスでは血中コルチコステロン濃度の上昇が見られたことから、歯の早期喪失はこれらのマウスで慢性ストレスとして作用している可能性が示唆された。

〈結論〉

以上の結果から、歯の早期喪失は慢性ストレスとして作用するだけではなく、海馬への情報入力を減少させる結果、海馬での神経細胞供給量を減少させ、空間認知能を低下させるものと考えられた。