

論文内容要旨

受付番号	① 乙	第 351 号	氏名	森 大輔
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学教授 藤原 周 (副 査) 朝日大学歯学教授 江尻 貞一 (副 査) 朝日大学歯学教授 都尾 元宣			
論文題目	咬合挙上が海馬歯状回における新生細胞に与える影響			
<p>【目的】 これまでに老化促進モデルマウス(SAMP8)を用いて、咬合挙上が慢性ストレスとして作用し海馬の機能的および器質的障害を引き起こすことが報告されてきた。また最新の研究は海馬歯状回では一生涯を通じ細胞の新生が継続されていること、この細胞増殖は海馬機能維持に重要な役割を演じていること、さらに細胞新生はストレスや学習行動等の外的刺激の影響を極めて受けやすいことなどを報告している。そこで、咬合挙上が海馬歯状回での細胞新生に与える影響を検討した。</p> <p>【方法】 実験には3.5及び9か月齢のSAMP8を用いた。SAMP8にペントバルビタール麻酔下にて歯科用光重合レジンを用い、レジンを上顎臼歯部に添加し咬合を挙上した。咬合挙上が新生細胞に与える加齢的影響を検討するため、各月齢での咬合挙上後のBrdU陽性細胞の計測を行った。BrdUは分裂期の細胞のDNAにのみ選択的に取り込まれる新生細胞のマーカである。挙上後14日後にBrdUの腹腔内投与を行い投与翌日に灌流固定をおこなった。その後切片を作成しHClにてDNA変性処理を行った後に抗BrdU抗体を用いABC法により免疫染色を施し、BrdU陽性細胞を定量的に計測した。この実験の結果から、以下の実験には9か月齢マウスのみを用いた。</p> <p>咬合挙上が新生細胞の生存期間と新生細胞の細胞分化に与える影響を検索するため、BrdUを投与した翌日に挙上処置を行い、21日後に灌流固定を行った後、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、抗BrdU抗体と抗NeuN抗体、抗GFAP抗体を用いた免疫蛍光二重染色を行い、神経細胞数とグリア細胞数を定量的に計測した。</p> <p>咬合挙上が海馬の細胞新生におよぼす経時的な影響を調べるため、挙上処置直前、挙上1日、3日、7日、10日、14日後に各マウスにBrdUの投与を行い、投与翌日に灌流固定しBrdU陽性細胞数を定量的に計測した。</p> <p>咬合挙上が空間認知能とそれにリンクした細胞新生に与える影響を検討した。空間認知能の検索のため挙上処置7日後から7日間連続でMorris水迷路学習テストを実施した。水迷路開始から5.6.7日目の学習テストの開始直前にそれぞれBrdUの投与を行い、水迷路終了後に灌流固定しBrdU陽性細胞数を定量的に計測した。</p>				

【結果】 9 か月齢咬合挙上マウス群の術後 14 日後の BrdU 陽性細胞数はコントロールマウス群と比較して有意に減少していた($P < 0.05$). これに対し, 3.5 か月齢咬合挙上マウス群とコントロール群の間で BrdU 陽性細胞数に有意な差は認められなかった.

咬合挙上群では新生細胞の 21 日後の生存率はコントロール群と比較して有意に低下していた($P < 0.05$). 一方, 新生細胞の神経細胞への分化率は咬合挙上群とコントロール群間で顕著な差は認められなかった.

咬合挙上後の BrdU 陽性細胞数は処置後減少傾向を示し, 3 日目に最も低値を示し, その後回復傾向を見せたが 14 日経過してもコントロール群のレベルまでは回復しなかった.

Morris 水経路テストの結果, 咬合挙上群はコントロール群と比較してプラットホームへの到達時間の短縮ペースが有意に低下していた. また, コントロール群では学習行動により BrdU 陽性細胞の有意な増加が認められた($P < 0.05$). これに対し, 咬合挙上群では学習行動により BrdU 陽性細胞数は増加しなかった.

【考察】 老齢マウスにおいて, 咬合挙上処置 14 日後の BrdU 陽性細胞数が低下したことから, 咬合挙上は加齢に伴い減少すると言われている細胞新生の減少をさらに加速させる可能性が示唆された.

老齢マウスにおける咬合挙上処置 21 日後の BrdU 陽性細胞の生存数と細胞分化の変化から, 咬合挙上は海馬における新生細胞の生存期間を短縮させるが, 神経細胞への分化率には影響を及ぼさないことがわかった.

老齢マウスにおける BrdU 陽性細胞数の咬合挙上処置後の経時的な変化から, 咬合挙上は処置直後には急性ストレスとして作用し, 14 日後は慢性ストレスとして作用している可能性が示唆された.

老齢マウスにおける水迷路テストやそれにリンクした BrdU 陽性細胞数の変化から, 咬合挙上は加齢による空間認知能の低下を加速するとともに, 学習行動による海馬での細胞新生の増加を障害している可能性が示唆された.

【結論】 咬合挙上は老齢マウスにおいて慢性ストレスとして作用し, 海馬歯状回における細胞増殖と学習にリンクした細胞新生を障害するとともに新生細胞の生存期間を短縮させるため, 海馬歯状回から CA3 への苔状線維が減少し, 結果として海馬内での神経回路網の構築および維持を障害することが示唆された. 咬合挙上によるこの障害により空間認知能の低下が引き起こされていると考えられた.