

研究者：近藤 裕子（所属：朝日大学口腔構造機能発育学講座小児歯科学分野）

研究題目：母マウスの咬合障害による子マウス海馬機能障害への生後の養育環境の効果

目的：

妊娠中のストレスと出生後の統合失調症など神経認知機能障害との関連が強く指摘されている。また咬合障害がストレスになることを我々は明らかにしたが、母獣の咬合障害が出生後のマウスに及ぼす影響は不明である。また幼少時の養育環境により神経認知機能に影響が及ぶという報告がある。そこで本研究は母獣の咬合障害が子獣の記憶・情動、脳機能に及ぼす影響と、その影響が養育環境を良くする（Environment Enrichment EE）ことで改善されるのか、老化が抑制されるのかを明らかにする。

対象および方法：

妊娠した母マウスの臼歯部を挙上することにより妊娠マウスにストレスを与え、そこから生まれたマウスを用いる。コントロールは咬合挙上させてないマウスとする。

妊娠中の母マウスをペントバルビタール麻酔かで、臼歯部を光重合型コンポジットレジンにて咬合挙上をおこない、その母マウスから生まれた仔マウスを挙上群とする。またコントロール群は臼歯部を挙上していない母マウスから生まれた仔マウスとする。

仔マウスを通常のゲージ（24cm × 17cm × 13cm）でマウスを飼育した群を Standard Environment（SE）、走行車輪とアクリル製のトンネルなどの玩具を配置した大きいゲージ（60cm × 40cm × 17cm）で飼育し、豊かな環境で飼育した群を Enriched Environment（EE）とした。両分類の組み合わせでコントロール + SE 群、挙上 + SE 群、コントロール + EE 群、挙上 + EE 群の 4 群に区分し実験を行った。4 か月齢の仔マウスに 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、飼育環境が空間認知能に与える影響を検討した。次いで、海馬における新生細胞の増殖数、生存数、分化率を調べるため、3 時間おきに 5 回 BrdU をマウスの腹腔内に投与した後、抗 BrdU 抗体を用いて ABC 法により免疫染色を施した。また、抗 BrdU 抗体と抗 NeuN 抗体、もしくは抗 GFAP 抗体を用いて免疫蛍光二重染色を行い、新生細胞から神経細胞やアストロサイトへの分化率を解析した。

結果および考察：

挙上 + SE 群の空間認知能はコントロール + SE 群と比較して有意に延長したが、挙上 + EE 群の空間認知能は挙上 + SE 群と比べて有意に短縮した。コントロール + EE 群では空間認知能の顕著な改善はみられなかった。海馬歯状回における新生細胞の増殖数（Proliferation）、生存数（Survival）および分化率（Differentiation）は挙上 + SE 群ではコントロール + SE 群と比較して有意に減少したが、挙上 + EE 群では挙上 + SE 群と比べて有意に増加した。コントロール + EE 群ではコントロール + SE 群に比較して、新生細胞の増殖数及び生存数が有意に増加し

たが、分化率には両群で差はみられなかった。海馬のBDNFタンパクの発現量は挙上+SE群ではコントロール+SE群と比較して有意に減少したが、挙上+EE群では挙上+SE群と比べて有意に増加した。

咬合障害のある母マウスから生まれた仔マウスを通常飼育すると空間認知能の低下がみられ、海馬歯状回における神経細胞新生機構が障害された。これらの結果はこれまでの様々な慢性ストレス下での研究報告や咬合挙上が慢性ストレスとして作用するという報告と一致している。一方、咬合障害のある母マウスから生まれた仔マウスを豊かな環境で飼育すると、空間認知能の改善がみられ、海馬歯状回における神経細胞障害も改善された。コントロール群を豊かな環境下で飼育しても新生細胞の増殖数、生存数に変化がみられたが、空間認知能や神経細胞への分化率の大きな改善は確認できなかった。慢性ストレスが負荷されると血中コルチコステロン濃度が上昇し、その結果海馬歯状回の神経細胞新生機構が抑制されるだけでなく、この状態が長期におよぶと海馬の神経細胞死が惹起される。咬合障害は慢性ストレスとして作用することが報告されていることから、挙上群ではコルチコイドが上昇し、その結果神経細胞新生機構が障害され空間認知能が低下したものと考えられる。

成果発表：(予定を含めて口頭発表，学術雑誌など)

日本小児歯科学会，日本神経科学大会 予定