

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	片野雅久
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部教授 飯沼 光生 (副 査) 朝日大学歯学部教授 江尻 貞一 (副 査) 朝日大学歯学部教授 永山 元彦
論文題目	歯の早期喪失が老化促進モデルマウス(SAMP8)海馬の微細構造に及ぼす影響
<p><u>論文内容の要旨</u></p> <p>【目的】</p> <p>認知症は、記憶の喪失、認知機能の障害による QOL の低下を特徴とする、加齢性神経疾患の 1 つである。現在、世界中で 4,700 万人が認知症を患っており、2030 年までにはその数は 7,500 万人に増加すると言われている。このため、認知症の病因を理解することは、新しい治療戦略の開発を促進すると考えられる。</p> <p>2016 年の歯科疾患実態調査によると、歯を喪失した者の割合は加齢により上昇している。また、これまでの我々の研究では、歯の早期喪失は慢性ストレスを誘発し、老化の促進、海馬における神経細胞数の減少、神経細胞新生の抑制、加齢に伴う海馬依存性認知障害に関連していることを明らかにした。しかし、海馬神経細胞の微細構造に対する影響は検討していない。</p> <p>ATP 産生など細胞の機能を維持するために必要な細胞小器官であるミトコンドリアの機能障害は、活性酸素を異常産生し、酸化ストレスにより ATP 産生量を減少させる。この障害は神経変性疾患の一般的な特徴である。また、高齢動物に多く観察されるリポフスチンは加齢マーカーと考えられる。酸化ストレスを誘発するカイニン酸を老化促進モデルマウス SAMP8 マウスに投与した実験では、正常老化を示す SAMR1 と比較して海馬 CA3 領域神経細胞にリポフスチンの沈着が多数認められ、酸化ストレスが老化に関連していることが報告されている。</p> <p>有髄神経の伝導に関わるミエリン鞘の構造変性は、神経伝導の低下に関連し、海馬依存性認知障害を惹起すると考えられる。さらに、シナプスは神経伝達に不可欠で、長期増強の誘導に関連するシナプス後肥厚部 (PSD) の長さは、シナプス可塑性と神経活動の評価に有効である。</p> <p>本研究では、透過型電子顕微鏡を用いて、歯の早期喪失により老化促進モデルマウス (SAMP8) における海馬 CA3 領域の神経細胞、ミエリン鞘、PSD の微細構造への影響を検討した。</p> <p>【材料および方法】</p> <p>1 か月齢雄性 SAMP8 マウスをコントロール群と早期喪失群 (各群 n=7) に分け実験を実施した。早期喪失群は、三種混合麻酔下にて上顎左右臼歯部の抜去を行い、その後通常の方法で飼育した。コントロール群は、抜歯以外実験群と同様の処置を施した。抜歯による摂食の影響を調べるため、毎月摂取量と体重量の測定を行った。9 か月齢まで飼育し、慢性ストレスの影響を調べるため血中コルチコステロン濃度をラジオイムノアッセイにより測定した。次いで、三種混合麻</p>	

酔下にて2%パラホルムアルデヒドと2.5%グルタルアルデヒド混合固定液により灌流固定を行い、海馬を摘出し、一晚同固定液にて後固定を行った。海馬をエポン包埋した後に、ウルトラミクロトームにて厚さ100nmの超薄切切片を作製し、酢酸ウラニルと鉛塩にて染色を行った。透過電子顕微鏡を用いて海馬CA3領域における神経細胞の超微細構造、神経細胞におけるミトコンドリアの体積密度とリポフスチンの体積密度・数、ミエリン鞘構造、ミエリン鞘のG-ratio、PSDの構造を比較検討した。

統計処理は、反復測定分散分析またはt検定を用いて行い、危険率5%以下を有意と判定した。

なお、この実験は朝日大学歯学部動物実験専門委員会の承認を得ている（承認番号：19-007）。

【結果および考察】

平均食物摂取量、体重量は早期喪失群とコントロール群では有意差は認められなかった。血中コルチコステロン濃度は早期喪失群においてコントロール群と比較して有意に上昇した。神経細胞の超微細構造では、早期喪失群においてミトコンドリア内部のATP合成の場であるクリステが喪失しているものが多く観察され、早期喪失群細胞質中におけるリポフスチンの体積密度・数はコントロール群と比較して有意に上昇した。ミトコンドリアの体積密度はコントロール群と早期喪失群において有意な差は認められなかった。また、早期喪失群はコントロール群と比較して海馬CA3領域におけるミエリン鞘は菲薄化し、PSDの長さも有意な低値を示した。

本実験結果から、歯の早期喪失が慢性ストレスとして働き、海馬CA3領域神経細胞において神経変性疾患の特徴である活性酸素の上昇によるミトコンドリアの形態異常と代謝異常によりATP産生能が低下すると考えられた。また、加齢マーカーと考えられるリポフスチンの蓄積の増加から、活性酸素の上昇による酸化ストレスは老化を促進していると考えられた。ミトコンドリアの機能障害は、ミエリン鞘形成障害による神経伝導の低下やシナプス形成障害によるシナプス可塑性およびPSDの長さの短縮によるシグナル伝達の抑制を惹起する可能性が示された。

【結 論】

以上の結果から、歯の早期喪失が海馬神経細胞、ミエリン鞘、シナプスの超微細構造を変性させ、加齢を伴う海馬依存性認知障害に関連することが示唆された。