




# 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	齊藤尚則		
論文審査委員	(主査) 朝日大学歯学部教授	田村康夫	  
	(副査) 朝日大学歯学部教授	藤原周	
	(副査) 朝日大学歯学部教授	江尻貞一	
<p style="text-align: center;">論文題目</p> <p style="text-align: center;">老化促進モデルマウスにおける咬合挙上が海馬 dorsal 側および ventral 側の形態と機能に及ぼす影響</p>			
<p><b>【目的】</b></p> <p>中枢神経のなかで海馬はストレスや加齢の影響を最も受けやすい部分であるといわれている。近年、咬合不全が中枢を介して全身的なストレス応答を誘発し、ストレス疾患を引き起こす可能性を示唆する論文が多数報告されている。我々はこれまでに幼齢期および老齢期の老化促進モデルマウス (SAMP8) に咬合挙上を施し、海馬における行動学的及び形態学的検討を行った。その結果、咬合挙上群ではコントロール群と比較して大きなストレス反応を示した。これらの結果は、咬合不全が海馬から視床下部—下垂体—副腎皮質系 (HPA 軸) へのネガティブフィードバック機構を抑制しているために引き起こされるものと考えられた。また、海馬のなかでもその部位により影響が異なり、dorsal 側は ventral 側に比較してより学習の影響を受けやすい部位であると報告されている。しかしながら、咬合挙上による影響が海馬の dorsal 側と ventral 側で異なるかは明らかになっていない。そこで、今回我々は、咬合挙上が海馬の dorsal 側と ventral 側に及ぼす影響の違いについて検討した。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>実験には 9 か月齢の雄の老化促進モデルマウス (SAMP8) を用いた。マウスをコントロール群と咬合挙上群に分類し、咬合挙上群のマウスに咬合挙上処置を施した後、8 日目に、エーテル麻酔下で血液を採取し、ラジオイムノアッセイにより血中のコルチコステロン (CO) 濃度を測定した。また、他のマウスを用いて処置後 8 日目から、1 日に 4 回ずつ 1 週間、Morris 水迷路学習テストを行い、咬合状態と空間認知能との関係を検討した。</p> <p>水迷路テスト終了後、エーテル麻酔下で速やかに脳を取り出し、中性緩衝ホルマリン溶液にて 2 日間浸漬固定した。その後、Brogma の脳地図の -1.6 から -2.4 までを前方部分 dorsal 側、-2.5 から -3.1 を後方部分 ventral 側と定義し、前頭断で厚さ 15 <math>\mu</math>m の脳の切片を作製し、Nissl 染色を行い、海馬 3 領域 (CA1, CA3, dentrate gyrus (DG)) における神経細胞数を定量的に測定した。また、水迷路終了後、マウスをペントバルビタール麻酔下で灌流固定を行い、dorsal 側および ventral 側において、厚さ 40 <math>\mu</math>m の脳の切片を作製し、抗 glial fibrillary acid protein (GFAP) 抗体および抗グルココイドレセプター (GR) 抗体を用いて ABC 法による免疫染色を行なった。その後、GFAP 陽性細胞数、GR 陽性細胞数を海馬各領域ごとに定量的に計測した。</p> <p>これらの計測結果は分散分析後、多重比較検定により統計処理を行った。</p>			

**【結果】** 血中コルチコステロン濃度は、コントロール群と比較して咬合挙上群で有意な上昇が認められた( $p<0.05$ )。Morris 水迷路テストではコントロール群と咬合挙上群のどちらのマウスもプラットホームへの到達時間が経目的に短縮した( $p<0.0001$ )。また、咬合挙上群の到達時間はコントロール群と比較して有意に延長した( $p<0.0001$ )。海馬 3 領域における神経細胞数は、コントロール群と比較して咬合挙上群で細胞数の有意な減少が認められた( $p<0.05$ )。また、CA3 領域においてはコントロール群と咬合挙上群、dorsal 側と ventral 側で分散分析の結果、交互作用が認められたため Turkey 分析を行い、咬合挙上群の CA3 領域の dorsal 側、ventral 側ともコントロール群より少なく、その割合は dorsal 側 88%、ventral 側 84%であった。さらに、海馬の GFAP 陽性細胞数は海馬 3 領域でコントロール群と比較して咬合挙上群で有意に増加していた。CA3 領域では、コントロール群と咬合挙上群、dorsal 側と ventral 側で交互作用が認められたため Turkey 分析を行った結果、咬合挙上群の CA3 領域の dorsal 側ではコントロール群より多く、その割合は 116%であった。GR 陽性細胞は CA 1 と DG の両部位ともコントロール群と比較して咬合挙上群で有意に減少していた。また、CA1 と DG 両領域において、コントロール群と咬合挙上群、dorsal 側と ventral 側で交互作用が認められたため、Turkey 分析を行った結果、咬合挙上群はコントロール群より CA1 領域の dorsal 側で 23%、ventral 側で 9%、DG 領域で dorsal 側で 17%、ventral 側で 9%減少していた。また DG 領域において、dorsal 側は ventral 側より有意に GR 陽性細胞数が減少していた。

**【考察及び結論】** 老齢期の SAMP8 マウスでは咬合挙上により血中の CO 濃度が上昇し、海馬の dorsal 側・ventral 側の両領域ともに海馬神経細胞の減少、GFAP 陽性細胞の増加、GR 陽性細胞数の減少を引き起こした。その結果、海馬から HPA 軸へのネガティブフィードバックが作用しなくなり、さらに上昇した CO レベルにより海馬神経組織への障害が増強され、空間認知能が低下する可能性が示唆された。また、咬合不全が海馬機能に及ぼす影響は dorsal 側の方がやや大きいことが明らかとなった。