

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	小 笠 原 章 文
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 齊 藤 一 誠 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 永 山 元 彦 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 藤 原 周
論文題目 <p style="text-align: center;">Environmental enrichment improves hypomyelination, synaptic alterations, and memory deficits caused by tooth loss in aged SAMP8 mice</p> <p style="text-align: center;">環境強化は高齢の SAMP8 マウスにおいて歯の喪失によって引き起こされる髄鞘形成不全, シナプスの変化, 記憶障害を改善する</p>	
<p>【目 的】</p> <p>歯の喪失による軽度のストレスが続くと海馬の形態的および機能的変化が生じ, 高齢の動物では認知記憶障害が生じる. 一方, 運動, 感覚, 認知的かつ社会的な刺激を受ける豊かな飼育環境は認知機能の向上や海馬歯状回での神経細胞新生の増加が起こるとされている. さらに, 歯の喪失が脳由来神経栄養因子の発現量を増加させ, 歯の喪失により惹起された海馬の神経細胞新生の減少を抑制させ, ストレスによって誘発される海馬依存の認知障害を改善することも明らかになっている. しかし, 飼育環境と歯の喪失により海馬の形態的および機能的変化に関する基本的メカニズムは不明である.</p> <p>そこで今回, 老齢期の老化促進モデルマウス (SAM)P8 を用いてマウスの上顎臼歯の喪失によるミエリン鞘形成不全, シナプス変性および記憶障害に対する豊かな飼育環境の効果を検討することを目的とし行動学的分析および組織学的分析を行った.</p> <p>【材料および方法】</p> <p>8 か月齢の雄の SAMP8 マウスを用いた. 三種混合麻酔下でマウスの上顎両側臼歯の抜去を行い (歯の喪失群), コントロールマウスには歯の抜去以外同様の処置を施した (コントロール群).</p> <p>飼育環境の設定は, 通常飼育は一般に用いられる長さ 33cm×幅 22cm×高さ 13cm のケージを用い, 豊かな飼育環境 (エンリッチ群) は走行車輪とアクリル製のトンネルなどのおもちゃを配置した長さ 60cm×幅 40cm×高さ 17cm の大きめのケージを用い, 1 ケージ 5 匹のマウスを飼育した. 処置前までの 8 か月間はコントロール群, エンリッチ群とも通常ケージで飼育した. 歯の抜去処置の有無と処置後の飼育環境の組合せで, コントロール群, 歯の喪失群, エンリッチ群, 歯の喪失+エンリッチ群の 4 群に分類した.</p> <p>空間認知能の評価は, 処置 2 週間後から 7 日間モリス水迷路学習テストで行った. 神経伝導および神経伝達率への影響をみるために, ミエリン鞘, シナプス後肥厚部の透過電子顕微鏡による観察を行った. 処置 3 週間後のマウスを三種混合麻酔下にて心臓より 2%パラホルムアルデヒドと 2.5%グルタルアルデヒドによる灌流固定後, 脳の摘出を行った. 同固定液により, 一晚浸漬固定後, 1%四酸化オスミウムで後固定を行い, アセトン上昇系列による脱水, エポキシ系樹脂で包埋し, ウルトラミクロトームにて 100nm の超薄切切片を作成した. 酢酸ウラニルと鉛塩で電</p>	

子染色した後、透過電子顕微鏡を用いて加速電圧 100kV にて観察を行った。ミエリン鞘の評価は G-ratio(ミエリン鞘の内径/外径)、シナプス後肥厚部の評価にはシナプス後肥厚部の長さ(PSD 長さ：黒色部)を計測した。

【結 果】

モリス水迷路学習テストの結果では、コントロール群と比較して歯の喪失群においてプラットホームへの到達時間が有意に延長した。歯の喪失群と比較して歯の喪失+エンリッチ群のプラットホームへの到達時間は有意に短縮した。

細胞質内には粗面小胞体槽、ゴルジ体、ミトコンドリアが点在しており、様々な形状と大きさのリソソームを認めた。歯の有無や飼育環境によって海馬 CA1 領域の錐体細胞層のニューロンの顕著な微細構造の形態変化はみられなかった。

ミエリン鞘の評価では、歯の喪失群はコントロール群と比較して形が乱れており、G-ratio は有意に高値を示した。歯の喪失の有無にかかわらず、エンリッチの G-ratio は通常飼育と比較して有意に低値を示した。

シナプス後肥厚部の評価では、歯の喪失群の PSD 長さはコントロール群と比較して有意に低値を示した。歯の喪失の有無にかかわらず、エンリッチの PSD 長さは通常飼育と比較して有意に高値を示した。

【考 察】

最近の横断的な人口ベースの臨床研究では、食事、運動、認識トレーニングなどの健康に良いと考えられるライフスタイルが認知機能の低下を予防し、アルツハイマー病のリスク軽減することを示している(Dhana ら, 2020; Ngandu ら, 2015)。今回の結果は、豊かな環境が加齢や歯の喪失に伴う認知症やアルツハイマー病のリスクを軽減し、健康なライフスタイルの導入が健康的な加齢のために有益であるという考えを裏付けている。

【結 論】

老齢期マウスの歯の喪失による慢性ストレスは、海馬ミエリン鞘の層状構造の変性およびシナプス後肥厚部を短縮させ、空間認知能の低下を惹起するが、豊かな飼育環境で飼育することによりこれらは軽減され、神経伝導および神経伝達率の低下も軽減され、その結果、空間認知能の低下を軽減する効果があることが示唆された。