

# 学位論文内容の要旨

論文提出者	古澤 学
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 藤原 周 (副 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 江尻 貞一
論文題目	咀嚼運動がストレス性骨粗鬆症発症に及ぼす影響
論文内容の要旨	<p><b>【目的】</b></p> <p>近年、慢性ストレスが骨粗鬆症の発症に深く関与していることが明らかにされた。長期にわたるストレス負荷は視床下部-下垂体-副腎皮質系を活性化させ、血中コルチコステロン濃度の上昇により骨芽細胞の活性を低下させ、破骨細胞活性を上昇させる。また、ストレスは交感神経系を刺激してノルアドレナリンの分泌を促し、骨芽細胞の活性を低下させるとともに骨芽細胞に作用し RANKL の発現を誘導することで破骨細胞の形成を促進させる。このように長期間持続するストレスは、骨のリモデリングシステムを障害し、結果として骨量を減少させ、骨粗鬆症を発症させる。</p> <p>一方、ストレス負荷下で積極的に咀嚼様刺激を加えると、ストレスによって増強した扁桃体の神経活動を正常化し、扁桃体の不快情報を軽減するなど大脳辺縁系の神経回路網を通してストレスを緩和することが報告されている。</p> <p>そこで本研究では、慢性ストレス下の咀嚼様刺激が骨リモデリング過程に及ぼす影響を、マイクロ CT による骨の 3 次元画像解析、組織学的解析および血液生化学解析により検討を行なった。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>実験には 5 ヶ月齢の雄性老化促進モデルマウス(SAMP8)を使用し、マウスをコントロール群、ストレス群、ストレス/咀嚼群に分類した。ストレス負荷にはストレスに対する順応を避けるため水浸、光刺激、振とうなどの刺激と拘束ストレスを組み合わせ、1 日に 2 時間ストレスを負荷し、これを 4 週間継続した。ストレス/咀嚼群にはストレス負荷中に木製の棒(つまようじ)を噛ませた。また、骨形成速度を解析するため、実験終了 8 日前と 2 日前に骨標識剤であるカルセイン溶液を腹腔内に投与した。</p> <p>実験終了後、ペントバルビタール麻酔下にて全血採血を行ない、骨芽細胞のマーカーであるオステオカルシン、骨吸収のマーカーである I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド(Ntx)、ストレスマーカーであるコルチコステロンおよびノルアドレナリンの濃度を測定した。</p> <p>採血終了後、マウスの大腿骨及び第 4 腰椎を摘出して、X 線マイクロ CT によりこれらの骨を撮影し、三次元画像解析ソフトを用いて海綿骨の骨形態計測を行った。計測項目は海綿骨の骨量(BV/TV)、骨梁幅(Tb.Th)、骨梁数(Tb.N)、骨梁間隙(Tb.Sp)とした。</p> <p>また、骨標本はアルコール系列で脱水した後、メチルメタクリレートに包埋し非脱灰研磨標本を作製した後、蛍光顕微鏡を用いて骨形成速度を計測した。一部の骨標本は EDTA 溶液にて</p>

2 週間の脱灰後、アルコール系列で脱水した後パラフィン包埋を行い、薄切後 tartrate-resistant acid phosphatase(TRAP)染色を施し、破骨細胞数と破骨細胞面の長さの定量解析を行った。

#### 【結果】

ストレス群ではコントロール群に比べ大腿骨と腰椎における海綿骨の骨量と骨梁数が有意に低下した。腰椎では骨梁幅が顕著に狭くなり、骨梁間隙が広くなった。また、ストレス群では血中コルチコステロンとノルアドレナリン濃度が有意に高くなり、オステオカルシン濃度が低下して骨形成速度も低下した。さらに、血中 Ntx 濃度が高値を示し、TRAP 陽性破骨細胞数および破骨細胞面の長さも高値を示した。

ストレス/咀嚼群ではストレス群に比べ、大腿骨と腰椎における海綿骨の骨量が有意に高値を示した。腰椎では骨量幅と骨梁数が有意に高くなり、骨梁間隙が狭くなった。また、血中コルチコステロンとノルアドレナリン濃度が有意に低下し、血中オステオカルシン濃度と骨形成速度は高値を示した。さらに、血中 Ntx 濃度が低下し、TRAP 陽性破骨細胞数および破骨細胞面の長さが低下した。

すべての項目において、ストレス/咀嚼群とコントロール群との間で有意な差は認められなかった。

#### 【考察】

SAMP8 マウスに対して 4 週間の慢性ストレス負荷下で積極的に咀嚼様刺激を加えると、ストレスによる交感神経系および神経内分泌系の活性を抑え、血中コルチコステロン及びノルアドレナリン濃度の上昇を抑制した。コルチコステロンおよびノルアドレナリンは、骨リモデリング過程において骨芽細胞による骨形成を抑制し、破骨細胞による骨吸収を促進させ骨量を低下させるといわれていることから、咀嚼様刺激はストレス負荷によるコルチコステロンおよびノルアドレナリンの分泌を抑えることで、ストレスによる骨リモデリング障害を正常化し、ストレス性骨粗鬆症の発症を抑制していることが示唆された。

#### 【結論】

慢性ストレス負荷中の咀嚼様刺激は、ストレス反応を抑え、ストレス性骨粗鬆症の発症を抑制することが示唆された。