

学位論文内容の要旨

論文提出者	鈴木あゆみ
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	妊娠期ストレス中の咀嚼運動が仔マウスの脳のストレス脆弱性に及ぼす影響
論文内容の要旨	<p>【目的】</p> <p>妊娠母体がストレスに曝されると、その母親から生まれた子の脳はストレス脆弱性を示し、学習障害や情動障害を発症するといわれている。これらの脳障害は母体から仔に移行するグルココルチコイド (GC) が原因であり、移行した GC は仔の視床下部-下垂体-副腎皮質系 (HPA axis) を攪乱し、ストレスに対して弱い脳を作り出す。このような仔の海馬では、HPA axis の抑制に必要な GC レセプター (GR) の発現が抑えられ海馬から HPA axis へのネガティブフィードバック機構が抑制されるだけでなく、情報伝達に重要な海馬神経細胞の髄鞘形成やシナプス形態が障害されて学習障害が発症する。一方、ストレス中の積極的な咀嚼運動はストレス対処法として有効であることが報告され始めた。</p> <p>そこで本研究では、ストレス負荷中に咀嚼運動を行わせた妊娠マウスと咀嚼運動を行わなかった妊娠マウスから生まれた仔マウスにおいて、海馬のオリゴデンドロサイトやシナプスの超微細構造や空間認知能を解析し、母体の咀嚼運動が仔マウスの脳機能障害に及ぼす影響を検討した。さらに、これらの仔マウスに新規ストレスを負荷し、母体の咀嚼運動が仔マウスの脳のストレス脆弱性を改善するかどうかを検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>実験には 12 週齢の雌 (n=24) 雄 (n=12) の DDY マウスを用い、交配させた。妊娠 12 日目から出産までの 1 週間妊娠マウスに 1 回 45 分間の拘束ストレスを 1 日 3 回負荷した。これらの母マウスから生まれた仔マウスを通常飼育した群をストレス群 (S) (n=43)、拘束ストレス中に爪楊枝を噛ませた母体から出生した仔マウスをストレス/咀嚼群 (S/C) (n=43)、ストレスを負荷せず通常母体から出生した仔マウスをコントロール群 (C) (n=43) とした。</p> <p>3 群の生後 4 週齢マウスを用いて、Morris 水迷路学習テストを行い、空間認知能を検討した (各群 n=8)。さらに組織学的分析として、免疫染色にてオリゴデンドロサイト陽性細胞 (MBP・CNPase) の解析 (各群 n=6)、透過電子顕微鏡観察により微細構造変化および髄鞘形成、G-ratio (ミエリンを含む全体の外径に対する内側軸索の直径)、シナプス後肥厚 (PSD) 長さの測定 (各群 n=5)、in situ hybridization 法による GRmRNA 発現を観察 (各群 n=6)、GR (Nr3c1) のリアルタイム PCR による定量解析 (各群 n=6) を行った。</p>

そして、新規拘束ストレス負荷による視床下部領域における副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン mRNA (CRHmRNA) 発現量をストレス負荷前後で解析した (各群 n=6)。

これらの計測結果は分散分析もしくは反復測定分散分析後、有意差のあるものは、Tukey による多重比較検定を行い、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 (承認番号: 16-018) を得て行ったものである。

【結果】

- 1) 海馬 CA1 領域のオリゴデンドロサイト (MBP・CNPase) は S/C で S に比較して有意に増加した ($p<0.01$)。
- 2) 電子顕微鏡による超微細構造の観察により S で細胞退行性変性が認められた。ミエリン鞘の厚さを示す G-ratio は C に比較して S で有意に高値を示した ($p<0.01$) が、C および S/C では差がみられなかった。S の PSD の長さは C に比較して有意に短縮した ($p<0.01$) が、C および S/C との間で差はみられなかった。
- 3) S の海馬における GRmRNA の発現量は C と比較して有意に減少した ($p<0.01$) が、S/C と C を比較しても差がなかった。
- 4) Morris 水迷路テストでは S/C のプラットホームへの到達時間は S に比較して有意に短縮した ($p<0.01$) が、C との差はみられなかった。
- 5) 新規拘束ストレス後の視床下部における CRHmRNA の発現量は、S で有意に上昇を示した ($p<0.01$) が、S/C は C と比較して差がみられなかった。

【考察および結論】

本実験結果から、妊娠期ストレス中の母体の積極的な咀嚼運動が、妊娠期ストレスによって惹起される出生後の仔の海馬の髓鞘形成障害やシナプス形成障害を抑制することによって空間認知能の低下を改善させることがわかった。また、妊娠期ストレス母体から生まれた仔マウスでは海馬の GR が減少し、その結果海馬から HPA axis へのネガティブフィードバック機構が十分に働かなくなりストレスに弱い脳が形成されるといわれている。積極的な妊娠母体の咀嚼運動は仔の海馬での GR の発現を改善することによって新規ストレスに対する過敏性を和らげ、ストレスに強い脳の形成することが示された。妊娠期ストレスによる出生後の仔の脳障害は GC によるプログラミング説が有力であり、Onishi ら (Neurosci Lett. 2014) などの報告から、咀嚼運動が母体の大脳辺縁系の興奮を抑え、GC の過剰分泌を抑制することによりこのプログラミングを解除しているようである。

これらの結果から、妊娠期ストレス中の母体の積極的な咀嚼運動が、出生後の仔マウスの脳の発達やストレス脆弱性の対処法として有用であることが示唆された。