

36. 咀嚼障害により認知機能低下が生じる機序の解明とそれに基づく オーラルフレイル新規治療法開発の基盤構築

国立障害者リハビリテーションセンター病院臨床研究開発部 部長 澤田 泰宏

概要

背景及び目的：超高齢社会に入っているわが国をはじめ先進諸国において、健康寿命の延伸が喫緊の課題となっている。要介護となる理由で最も多いのは認知障害であるが、歯周病などに伴う口腔機能の低下、具体的には、咀嚼不全・咀嚼障害が認知機能低下の原因となり得る、言い換えれば、咀嚼が認知機能維持に重要な役割を果たすことが明らかとなっている。しかし、咀嚼機能と認知機能とをつなぐ分子メカニズムは未解明である。

運動は認知障害を含め、加齢性の身体機能低下に極めて有効である。代表研究者らは、運動効果を局所への力学的刺激（メカニカルストレス）で説明しようとする研究を進めている。咀嚼と認知機能をつなぐメカニズムが脳内の細胞への力学的刺激であることを示し、口腔機能低下に伴う認知機能障害の新たな治療・予防法開発の基盤を構築することを本研究の目的とした。

目的達成のために実施したことと上がった成果：軟餌飼育マウスを用いて認知機能に関連した行動テストを行い、咀嚼障害による認知機能低下を検出する実験系を確立した。このマウスで組織的及び生化学的な解析を行い、咀嚼障害による認知機能低下の背景となるメカニズムの解明の端緒を探った。さらに咀嚼障害による認知機能低下を力学的刺激にて救済する実験系（力学的刺激印加機器）を開発・製作した。また、細胞レベルの力学的刺激の感知機構の解明に向けた実験を行い、温熱の関与を示唆する知見を得た。

次なる課題：三菱財団からの助成金により、本研究の土台となる実験系の確立、基礎的知見の獲得、研究体制の整備を達成できた。軟餌飼育マウスに対する力学的刺激印加実験を行い、上記目的の達成に向かう。

背景および目的

【背景】

既に超高齢社会に入っているわが国をはじめ先進諸国において、健康寿命の延伸が喫緊の課題となっている。加齢に伴い生じる様々な身体機能低下の中でも認知障害は要介護となる理由で最も多いことが知られている。また、歯周病などに伴う口腔機能の低下、具体的には、咀嚼不全・咀嚼障害が認知機能低下の原因となり得る、言い換えれば、咀嚼が認知機能維持に重要な役割を果たすことが明らかとなっている。しかし、咀嚼機能と認知機能とをつなぐ分子メカニズムは未解明であり、咀嚼不全と認知機能低下との連関を断つことに特化した治療戦略は構築されていない。

代表研究者は、身体運動、特にジョギング、ウォーキングなどの有酸素運動では足接地時に脳に上下方向の衝撃（加速度）が加わることが多いことに着目し、運動効果の少なくとも一部は、脳への力学的刺激によるものという仮説を立てて研究を進めている。これまでに、マウスやラットを用いた実験で、ヒトで言えば軽いジョギング程度に相当する速度（マウス：分速 10 m、ラット：分速 20 m）のトレッドミル走行中に頭部に生じる上下方向の加速度（約 $1.0 \times g$ ）を再現する受動的頭部上下動と、限局的脳内間質腔ゲル化による間質液流動阻害及び培養細胞力学的刺激負荷を組み合わせた解析により、脳への力学的刺激が身体運動と同様に前頭前皮質における間質液流動を介して神経細胞機能を制御し恒常性維持に作用することを見出している（iScience 2020）。

さらに、高血圧ラットを用いた受動的頭部上下動実験、培養細胞を用いたメカニカルストレス実験、及びヒトの軽いジョギング時に頭部に生じる衝撃を再現する座面上下動椅子を用いた高血圧症者を対象とした臨床試験の結果をまとめて、頭部へのメカニカルストレスによる高血圧改善を示した論文を発表した（Nat Biomed Eng 2023）。

脳への力学的刺激は運動時のみならず咀嚼時にも生じる。研究代表者は、ヒトでもマウスでもウォーキングにおける足接地時と同程度の衝撃（0.3~0.5 x g）が、咀嚼時に頭部に加わることを認めている。そこで、咀嚼不全・咀嚼障害により生じる認知機能障害に頭部への力学的刺激の不足・欠失が関与している、言い換えれば、頭部への力学的刺激により咀嚼不全による認知機能低下を治療・予防できるという着想に至った。

【目的】

咀嚼と認知機能をつなぐメカニズムが脳内の細胞への力学的刺激であることを示し、口腔機能低下に伴う認知機能障害の新たな治療・予防法開発の基盤を構築することを本研究の目的とする。

方法

I.動物実験

（1）軟餌飼育による認知機能低下を記載した既報告（Fukushima- Nakayama et al. J Dent Res 2017）にならい、C57BL/6J マウスを用いて4週齢にて軟餌飼育を開始して、認知機能の低下が受動的頭部上下動により救済されるか否かを検討するための基礎データを得るために、軟餌飼育による（悪）影響を検出する実験プロトコルの確立を行なった。

（2）マウス身体に上下動刺激を印加する機器を、従来機の細部を修正した上で制作した（制作自体は外注とした）。

II.細胞実験

当初購入を予定していた培養細胞用力学的刺激実験機器よりも優れているという情報を入手した機器を購入し、流体剪断力印加実験を行った。

結果および考察

I.動物実験

（1）行動テスト

・電気ショックによる恐怖条件付け試験：2日後と4日後のすくみ反応が5週間の軟餌飼育による減少が認められた。

・Y字迷路試験：4週間の軟餌飼育による交替行動率減少が認められた。

・オープンフィールド試験：4週間の軟餌飼育によるオープンフィールド滞在時間の減少が認められた。

・高架式十字迷路試験：4週間の軟餌飼育による開放アーム滞在時間の増加が認められた。

恐怖条件付け試験の結果は軟餌飼育による長期記憶障害を示唆するものの、不安行動に関してはオープンフィールド試験と高架式十字迷路試験で逆の影響とも解釈できる結果であり、さらなる検討が必要である。

（2）組織学的検討

背側及び腹側の海馬に免疫組織学的検討において、Sox2 陽性/S100β 陰性の神経幹細胞、DCX（doublecortin）陽性の神経前駆細胞、DCX/CR（calretinin）二重陽性の幼若ニューロンが軟餌飼育により減少しており、神経新生の障害が示唆された。一方で海馬におけるIba1 陽性のミクログリアの数（分布密度）には差は認められなかった。腹側の海馬において、DCX 陽性細胞とIba1 陽性細胞との接触、及び、DCX 陽性細胞と硫酸プロテオグリカンとの接触が軟餌飼育により減少していた。神経前駆細胞とミクログリアあるいは細胞外マトリクスとの接触の減少が、上記、軟餌飼育による神経新生の障害に関与することが示唆された。

（3）生化学的検討

背側及び腹側の海馬の組織から RNA を抽出し、炎症及び力学的刺激受容シグナルに関連した遺伝子の発現を定量的 PCR 法にて解析したが、軟餌飼育による有意な差を検出できたものはなかった。ただし、唯一、 β -actin の発現が粉餌飼育により有意に増加しており、細胞の緊張状態の関与が示唆された。

II.細胞実験

細胞質の温度センサー分子を用いた流体剪断力印加による細胞局所の温度変化が観察された。しかし、流体剪断力印加時にサンプルが動くことによる影響、特に色収差の問題の関与による実験のアーチファクトである可能性を否定できない。今後、この色収差の影響を最小限とする実験系の構築が必要である。

(完)

引用文献

- 1) Murase S, Sakitani N, Sawada Y et al. Interstitial-fluid shear stresses induced by vertically oscillating head motion lower blood pressure in hypertensive rats and humans. Nat Biomed Eng. 7:1350-1373, 2023 (doi: 10.1038/s41551-023-01061-x)
- 2) Ryu Y, Maekawa T, Sawada Y et al. Mechanical regulation underlies effects of exercise on serotonin-induced signaling in the prefrontal cortex neurons. iScience. 23: 100874, 2020 (doi: 10.1016/j.isci.2020.100874)
- 3) Fukushima-Nakayama Y, Nakashima T et al. Reduced mastication impairs memory function. J Dent Res. 96: 1058-1066, 2017 (doi: 10.1177/0022034517708771)