

エイジングに伴う循環障害が脳および口腔に与える影響
—微小循環的手法を用いた形態学的解析—

東 雅 啓

神奈川歯科大学解剖学講座口腔解剖学分野
(主任：松尾雅斗教授)

Effects of circulatory disturbance associated with aging on the brain and oral cavity

Masahiro TO

Department of Clinical Oral Anatomy, Kanagawa Dental University, 82 Inaoka-cho, Yokosuka, Japan

Abstract

In Japan, which has entered a super-aging society, changes in the disease structure and an increase in the number of people requiring long-term care are problems. In recent years, the relationship between systemic diseases and oral diseases such as periodontal disease has become a social problem. In this study, we focused on the microcirculation, which play a key role in the onset and pathophysiology of various lifestyle-related diseases, and investigated the circulatory disorders of the brain and oral cavity caused by aging. Aged male rats (F344/Jcl, 22-months-old) were used in this study. To perform morphological analysis of blood vessels, resin cast model was prepared, and blood vessels around the brain and periodontal tissue were observed with a scanning electron microscope. Motor function was analyzed using an open-field test. Functional analysis in angiogenesis was performed by measuring blood and salivary concentrations of VEGF by ELISA. In the experimental group, the vascular loop in the gingival tissue was poor, and the blood vessels showed distorted morphology. Furthermore, in the open-field test, the number of entries into the center-area was significantly lower, and the total distance traveled tended to be shorter. The saliva and blood VEGF tended to be high in the experimental group.

Consequently, this study found that the motor function was decreased in the aged rat, and that the microcirculation in the periodontal tissue and the brain was poor. Therefore, it was possible to confirm the disorder of the systemic function and the microcirculation associated with aging. In the future, we will improve the decline in motor function and impaired microcirculation, examine the relationship between the whole body and the oral cavity, and analyze what kind of effect it will have on the improvement and prevention of diseases.

* 責任著者連絡先：〒 238-8580 神奈川県横須賀市稲岡町 82
神奈川歯科大学解剖学講座口腔解剖学分野
東 雅啓
E-mail: m.tou@kdu.ac.jp

緒 言

超高齢社会を迎えた日本では、世界的に見ても高齢化のスピードは早く、人口の重心が高齢化へと移動している¹⁾。それに伴い疾病構造に変化が生じており、日本の医療のあり方についても変化が求められている¹⁾。そのような中で、個人の QOL をいかに低下させずに健康寿命を延ばすかが課題となっている²⁾。しかしながら、生活習慣病などの全身疾患の有病者数は年々増加し、近年ではその全身疾患と歯周病などの口腔疾患との関連性が社会的に問題視されてきている³⁾。また、最近の研究では認知症やフレイルも生活習慣病と考えられてきている⁴⁾。特に高血圧や糖尿病、脂質異常症などは全身における循環障害を誘発するため、歯周組織においてもその影響は大きく、インプラントなどの歯科治療においてはそれら疾患が弊害となる⁵⁾。

われわれはこれまでに歯周組織の微小循環に注目して研究を行ってきた⁶⁾。歯周組織においては多数の血管網が存在しており、ヘアピン状の毛細血管ループが規則的に認められる⁶⁾。この血管網は細菌感染などの外来刺激から歯周組織の保護に重要な役割を持つ⁷⁾。また、歯周組織における血管新生を誘導することで、歯槽骨の早期再生に繋げられることを見出した⁸⁾。歯周組織の再生過程においては、歯肉における血管新生が重要であり、血管内皮増殖因子 (VEGF) が関与することが分かっている⁹⁾。さらには歯科治療時に用いる機器の種類によって歯周組織の血管網が障害される程度が異なることも形態学的に見出している⁶⁾。これまでに脳虚血による全身および口腔機能への影響も解析しており¹⁰⁾、脳および口腔における微小循環の重要性について検討を行ってきた。

そこで本研究では、さまざまな生活習慣病の発症や病態において鍵となる微小循環系に着目し、エイジングに伴い生じる循環障害を脳および口腔の微小循環に焦点を当てて検討し、全身疾患と口腔疾患との関係性の解明に繋げることを目的として行った。

実験材料および方法

1. 実験動物

運動機能低下の報告がある老齢ラット (F344/Jcl, 22 カ月齢, ♂; 日本クレア, 東京) を用いて、オープンフィールドテスト (10 分間) を用いた行動解析により運動能力の測定を行った後、サンプリングし各種解析を行った。コントロールとして若年ラット (Jcl: SD, 7 週齢, ♂; 日本クレア) を用いた。本研究は神奈川歯科大学動物実験倫理委員会の承認のもとで実施した (第 18-024 番)。

2. 血管鑄型標本作製

血管の形態学的解析を行うために、ラットの左心室より生理的食塩水を灌流し、注入用合成樹脂メチルメタクリレート (Mercox II, 応研商事, 東京) を注入した。樹脂の重合後、タンパク分解酵素プロテアーゼ中に浸漬し、水洗・凍結乾燥後、血管鑄型標本として走査型電子顕微鏡 (SEM; 日本電子, 東京) で脳周囲と歯周組織の血管を観察した。

3. ELISA 法

血中および唾液中の血管内皮増殖因子 (VEGF) 濃度を、ELISA キット (R&D systems, 米国) を用いて添付文章に従い測定した。

4. 統計解析

解析結果は、GraphPad Prism software ver.9.2 (La Jolla, 米国) を用いて、Student-*t* 検定によって平均値の差を比較した。危険率 5% 未満を有意水準とした。

結 果

1. 加齢による行動変化

行動解析の結果、コントロール群と比較して老齢ラット群において、オープンフィールドの中央エリアへの侵入回数が有意に低かった ($p < 0.05$; 図 1)。また、総移動距離は老齢ラット群で低い傾向にあった。これらの結果から、老齢ラット群において不安様行動が増加していることが分かった。

2. 老齢ラットにおける脳および歯周組織における微小血管の形態変化

老齢ラットの脳における微小血管像は、一部で血流が停滞もしくは障害されているような形態を示した (図 2)。さらに、歯周組織における血管形態は、毛細血管のループが少ない傾向にあった。

3. 血中および唾液中 VEGF 濃度の変化

血中および唾液中 VEGF 濃度を ELISA 法を用いて解析したところ、コントロール群と比較して老齢ラット群において血中 VEGF が高い傾向にあった ($p = 0.263$; 図 3)。唾液中 VEGF 濃度も同様に、老齢ラット群において高い傾向であった ($p = 0.154$)。

まとめと展望

本研究から、加齢によって脳および歯周組織における微小循環が障害され、運動機能にも影響していることが示唆された。また、老齢ラットにおいて不安様行動が著明に確認できたことから、脳機能への影響も認められた。さらに、血中および唾液中 VEGF が加齢により変化しており、微小循環の障害に VEGF が関与していることが示唆された。

全身における微小循環系は生命維持に不可欠なもの

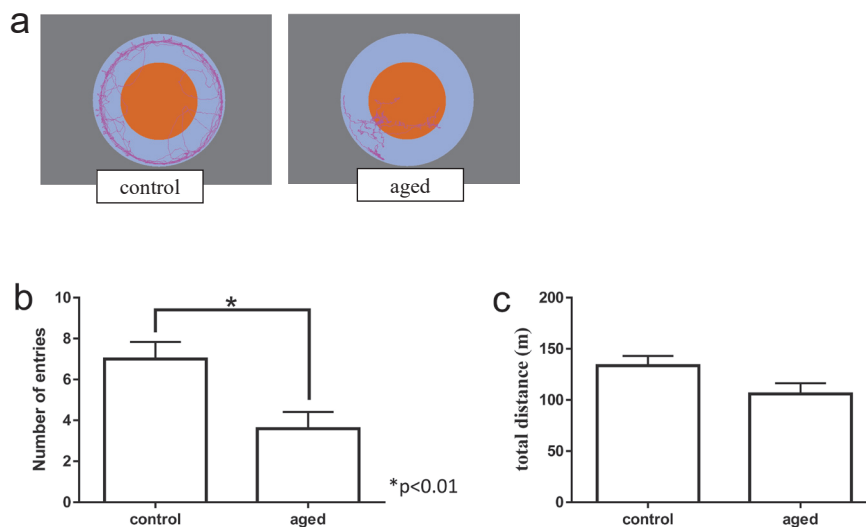


図1 行動解析結果

a: コントロールラット群 (control) と老齢ラット群 (aged) におけるオープンフィールド内の移動軌跡を示す。b: 両群の中央エリアへの侵入回数を示す。老齢ラット群において回数が有意に低いことが分かった ($p < 0.05$)。Student-*t*検定。c: 両群におけるテスト時間 (10分間) 中の総移動距離を示す。老齢ラット群において移動が少ない傾向にあった。Student-*t*検定。

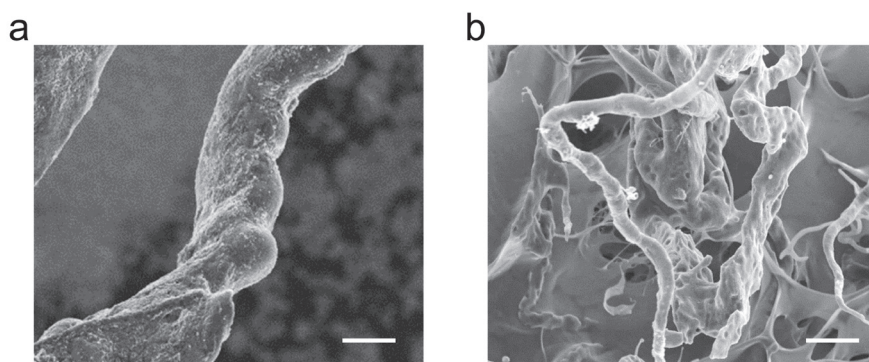


図2 脳および歯周組織における血管鋳型標本所見

老齢ラット群における脳 (a) および歯周組織 (b) の血管鋳型標本の典型像を示す。それぞれにおいて血流が障害されているような形態を示した。SEM像。200倍。スケールバー: $50\mu\text{m}$

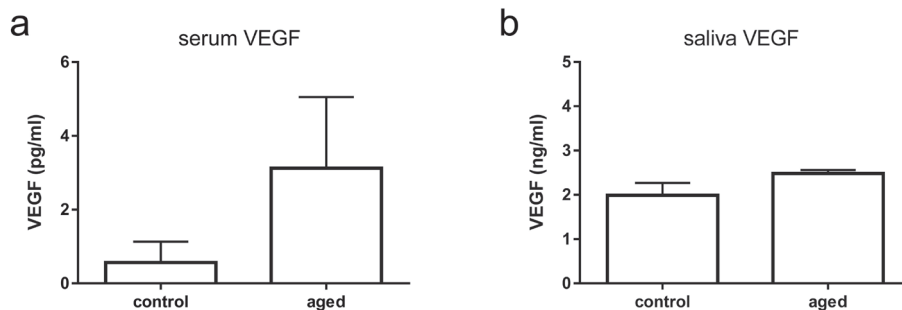


図3 血中・唾液中 VEGF 濃度の比較

両群における血中 (a) および唾液中 (b) VEGF 濃度を示す。どちらも老齢ラット群において高い傾向にあった。Student-*t*検定。

であり、その機能は加齢によって低下することが分かっている¹¹⁾。本研究結果においても同様に、高齢ラットにおいて微小血管の形態異常が観察できた。この結果とともに総移動距離の低下などの運動機能の低下が認められたことから、微小循環系の障害が全身機能の低下に直結していることが証明できた。最近の研究において、微小循環系の改善は全身の健康状態に寄与し、そこに VEGF シグナルが影響することが証明されている¹²⁾。本実験結果において血中および唾液中 VEGF の変動が確認でき、不安様行動の増加といった全身状態への影響も観察できた。この結果から、本研究においても微小循環系と VEGF の関連性が示唆され、全身状態を反映する血液成分に取って代わる可能性がある唾液成分¹³⁾からも、微小循環系の状態を把握できる可能性がある。このことは全身と口腔における微小循環系の関連性を検討する上で重要となってくる。口腔はウイルスなどの外来刺激を最初に受ける場であり、口腔組織における微小循環系は生体防御の要である。特に血管網が多く存在する歯肉の状態は、年齢や歯周炎などの要因によって変化し、全身疾患との関連性が報告されている¹⁴⁾。本研究結果において、脳における微小血管の障害と同様に歯周組織においてもその障害が観察された。さらに、VEGF の変動が唾液において血液と同じ動態を示した。これらのことから、VEGF を介した全身と口腔における微小循環系の関連性が示唆され、今後このメカニズムについてさらに検討する必要があると考える。

これらの結果から、エイジングに伴う微小循環の障害が全身機能に影響していることが考えられ、それに対して VEGF が関与していることが示唆された。微小循環系は口腔機能のみならず全身機能への影響があることから、全身疾患の予防などに微小循環の観点からのアプローチし、今後の日本の医療に貢献できる研究を推進していきたいと考える。

謝 辞

本研究は令和 3 年度神奈川歯科大学学会宿題報告および平成 30-令和 3 年度科学研究費補助金若手研究(18K17303)の補助により行われた。

本研究にあたり御指導頂いた神奈川歯科大学解剖学講座口腔解剖学分野の松尾雅斗教授に深謝申し上げる。

利益相反

本研究において申告すべき利益相反はない。

文 献

1. 大島伸一：超高齢社会における医療・介護。医療と社会。 **25**：49-57, 2015.
2. 厚生労働省：21 世紀における国民健康づくり運動（健康日本 21）。2000。 <https://www.kenkouippon21.gr.jp/index.html>. 2022. 2. 28 閲覧.
3. 武内博朗, 寺山美香, 小林和子ほか：歯科補綴治療による健康増進効果を引き出す保健指導（健康増進・栄養サポート分野）。日補綴会誌。 **12**(3)：234-242, 2020.
4. 尾崎浩一：生活習慣病の遺伝因子群とポリジェニックリスクスコア。現代医学。 **68**(1)：22-27, 2021.
5. 松坂賢一：歯科インプラント治療時に注意すべき加齢に伴う臨床検査データの変化。日口腔インプラント誌。 **30**(4)：268-277, 2017.
6. To M, Matsuo M, Wada-Takahashi S *et al.*: Microcirculation changes in gingival tissue after ultrasonic tooth preparation in beagle dogs. *J Appl Oral Sci.* **28**, e20190145, 2020.
7. Zoellner H, Chapple CC, Hunter N: Microvasculature in gingivitis and chronic periodontitis: disruption of vascular networks with protracted inflammation. *Microsc Res Tech.* **56**: 15-31, 2002.
8. To M, Su CY, Hidaka K *et al.*: Effect of advanced platelet-rich fibrin on accelerating alveolar bone formation in dogs: A histological and immunofluorescence evaluation. *Anat Sci Int.* **94**(3): 238-244, 2019.
9. Liu YH, To M, Okudera T *et al.*: Advanced platelet-rich fibrin (A-PRF) has an impact on the initial healing of gingival regeneration after tooth extraction. *J Oral Biosci.* **64**(1): 141-147, 2022.
10. To M, Sugimoto M, Saruta J *et al.*: Cognitive dysfunction in a mouse model of cerebral ischemia influences salivary metabolomics. *J Clin Med.* **10**(8): 1698, 2021.
11. Streese L, Springer AM, Deiseroth A *et al.*: Metabolic profiling links cardiovascular risk and vascular end organ damage. *Atherosclerosis.* **331**: 45-53, 2021.
12. Grunewald M, Kumar S, Sharife H *et al.*: Counteracting age-related VEGF signaling insufficiency promotes healthy aging and extends life span. *Science.* **373**(6554): eabc8479, 2021.
13. 松尾雅斗, 東 雅啓, 槻木恵一：唾液腺と唾液検査。歯界展望。 **130**(3)：506-513, 2017.
14. Lira-Junior R, Figueredo CM, Bouskela E *et al.*: Severe chronic periodontitis is associated with endothelial and microvascular dysfunctions: a pilot study. *J Periodontol.* **85**(12): 1648-57, 2014.