

## [最近のトピックス]

## 飼育飼料形態の変化はラットに酸化ストレスを誘導するか

鈴木 裕仁, 豊下 祥史, 會田 英紀, 越野 寿

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系咬合再建補綴学分野

咬合・咀嚼は健康の維持に不可欠な因子の一つで、生体情報伝達系である神経系-内分泌系-免疫系の相互作用に深く関与している。咬合・咀嚼が正常に営まれなくなるとストレスとなり、生体に様々な影響を及ぼす可能性が示唆されている。一方、生体がストレスを受けると、抗酸化能が低下するという報告がなされている。それに伴い、活性酸素の産生系と消去系の均衡関係が崩壊し、酸化ストレスが誘導され、生体に障害が生じる。本研究では、ラットの飼育飼料形態を固形から液体へ変化させること、すなわち咀嚼の在り方が、酸化ストレスを誘導するのか否かを、活性酸素の産生系として好中球のスーパーオキシド生成と、消去系としてスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様活性の両面から検討した。実験動物には9週齢のWistar系雄性ラットを用いた。すべてのラットは、通常の固形飼料で飼育を開始し、10週齢になった時点で、ヒト経腸栄養剤エンシュアリキッドで飼育する液体飼料群と、液体飼料と同一成分の固形飼料で飼育する固形飼料群の2群を設定し、以下の測定を行った。

1) 飼料変更後、1週間隔で84日目まで体重の経時的変化を調べた。2) 飼料変更後、1週間隔で28日目まで、ラット尾部から採血し血漿を回収し、ストレスマーカーである血中カテコールアミン (アドレナリン、ノルアドレナリン) 濃度を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法にて測定した。3) 好中球のスーパーオキシド生成能は、飼料変更後、1週間隔で28日目まで5%カゼイン溶液を腹腔内投与し、16時間後に腹腔内より好中球を含む滲出液を回収した。好中球を  $1 \times 10^7$  cells/ml に調整し、ホルボール12-ミリスチン酸13-酢酸塩 (PMA) にて刺激し、二波長分光光度計を用いてシトクロムc還元法により測定した。4) 血清SOD様活性は、飼料変更後、1週間隔で28日目まで、それ以降は2週間隔で84日目まで、ラット尾部より採血し血清を回収し、電子スピン共鳴 (electron spin resonance ; ESR) 法にて解析した。捕捉剤にはCYPMPO (5-2, 2-dimethyl-1, 3-propoxycyclophosphoryl-5-methyl-1-pyrroline-N-oxide) を用いた。測定はhypoxanthine/xanthine oxidase系で人工的にスーパーオキシドを発生させ、血清による消去能を求めた後、ウマ赤血球由来のSODを用いた検量線により、血清SOD様活性を解析した。5) 好中球のスーパーオキシド生成を担う酵素系であるNADPHオキシダーゼの構成タンパクp47phoxの発現量を、ウエスタンブロッティング法により解析した。6) 液体飼料飼育を28日間

行ない、通常の固形飼料に戻すことで、血清SOD様活性に影響があるか検討した。

1) 飼料変更後の体重については、固形飼料群、液体飼料群ともにその増加傾向を示し、両群間に差異は認めなかった。2) 血中アドレナリン、ノルアドレナリン濃度については、飼料変更後7日目から28日目まで、固形飼料群に比べて液体飼料群で、有意に増加していた ( $p < 0.05$ )。3) 好中球のスーパーオキシド生成能は、飼料変更後7日目、14日目、21日目で、固形飼料群に比べて液体飼料飼育群で、有意な増加傾向が認められた ( $p < 0.05$ )。4) 血清SOD様活性は、飼料変更後、7日目、14日目は両群間で変化は認められなかったが、21日目以降84日目まで、液体飼料群は固形飼料群と比べて、有意に低下していた ( $p < 0.05$ )。5) 固形飼料群と比較して液体飼料群において、好中球細胞膜のp47phoxタンパク発現量は増加していた。6) 液体飼料から再び固形飼料へと戻すと、血清SOD様活性は固形飼料で飼育し続けた群と同程度まで回復し、両群の間に差異は認められなくなった。

血中アドレナリン、ノルアドレナリン濃度の増加により、噛むことが習性であるラットの飼育飼料形態の変化がストレスとなり、噛むことが習性であるラットの飼育飼料形態の変化がストレスとなっていることが窺えた。好中球のスーパーオキシド産生は、液体飼料飼育に変更後7日目に増加したが、血清SOD様活性においては、飼料変更後21日目に低下傾向を認めた。つまり、咀嚼動態は、先に活性酸素の産生系、その後に消去系に影響を及ぼし、酸化ストレスを誘導することを明らかにした。また、長期間の液体飼料飼育という咀嚼動態の変化が起こると、生体は順応することなく、持続的に酸化ストレスを受け続けることが示唆され、液体飼料から再び固形飼料へと戻すことにより、生体は酸化ストレスから解放され、正常な状態まで抗酸化能を回復させた。これらの結果から、生体の健康を維持・増進するためには適正な咬合・咀嚼機能の保持が不可欠であり、咬合・咀嚼機能障害を持つ患者においても、早期治療が生体の健康の維持・増進に寄与すると考えられる。

## 文献

Laura A, Paul F Dazin, Jon D Levine and Paul G Green. Sympathoadrenal-dependent sexually dimorphic effect of nonhabituating stress on in vivo neutrophil recruitment in the rat. *British Journal of Pharmacology* (2005) 145, 872-879.