

咀嚼の健康効果における食品の硬さの寄与

永井 俊匡

高崎健康福祉大学

概要

高血圧は、心筋梗塞や脳卒中などを引き起こす可能性のある重大な生活習慣病の一つであるが、その原因の一つとして、食塩摂取量の過剰が挙げられる。そこで高血圧の予防のためには、いわゆる「減塩」が欠かせないとされるが、一方で食塩が日本の食文化を支える要素ともなっている。食塩摂取量を減らすばかりでなく、高血圧につながらない食塩の摂取方法を模索することも、重要である。申請者らは、咀嚼の健康効果に注目し、血圧上昇抑制効果として、咀嚼によってラット長期(15週)飼育モデルで血圧の有意な低下を見出した。この成果は、食塩の摂取方法について、新たな提案ができる可能性がある。ただしこれら咀嚼の健康効果に関する研究は、他グループの成果も含めて、これまで粉末(Powder:P)と固形(Chow:C)という対照的な物性の飼料による2群間比較によって行われてきた。したがって、咀嚼量と効果量との関係を定量的に解析することができなかった。そこで本研究では、硬さの異なる飼料を調製し、それらを与えた場合の血圧に対する効果量を測定する。

はじめに、既存の固形飼料(C1)に加えて、より硬い固形飼料(C2)を調製した。テクスチャーアナライザーを用いて測定したところ、C2飼料は、破断までの最大荷重がC1飼料の約11倍も大きいなど、物性として硬いものであることが定量的に示された。しかしコーンスターチの比を変えることで、咀嚼量以外の要素(消化率など)に変化が生じる懸念があったため、予備的に10週間、C2飼料で飼育した。その結果、総摂餌量が有意に低下し、それに伴って体重増加量も有意に低下した。そこで、固形飼料の給餌方法を工夫することにした。C2飼料を砕いて食べやすくする工夫(C2_clash)、および固形飼料用給餌器を用いる工夫(C2_feed2)を施し、6週齢から8週間飼育したところ、摂食量と体重に差のないことを確認した。この2条件について、最終週の血圧を測定した結果、C2_feed2群で、P飼料群と比べて血圧の低下傾向が見られた。したがって、C2_feed2の方が、より咀嚼の効果を解析する実験系として優れていると考えられた。

今後は、疾患モデルとして、自然発症高血圧ラット(spontaneously hypertensive rat)を用いた実験が重要である。現在、P飼料とC2飼料の効果を比較する実験を行っている。

1. 研究目的

生活習慣病の一つである高血圧は、その有病率が過去30年間で2倍以上に増加しており、世界中で死亡の主要な原因の一つとなっている¹⁾。2010年現在で、日本の高血圧有病者数は推計で4300万人とされ²⁾、特に高齢者人口の約70%が高血圧症というのが現状である³⁾。近年の高血圧総患者数(継続的に医療を受けている者)も増加傾向が確認できる⁴⁻⁸⁾。世界的に見ても、高血圧症の治療率は約半分で、治療によって高血圧のコントロ

ールに成功している症例は、さらにその半数ほどになる⁹⁾。高収入の西側諸国やアジア・太平洋地区の人々は治療率が2/3ほどに増加するが、国民全体が十分にコントロールできているとは言えない。

高血圧の原因の一つとして、食塩摂取量の過剰が挙げられる。世界保健機関(WHO)は、成人の食塩摂取量の目標値を1日5g未満としているが、日本人の食塩摂取量は、令和元年の国民健康・栄養調査によると、成人男性10.9g/日、成人女性9.3g/日と、WHOガイドライ

ンのおよそ 2 倍となっている¹⁰⁾。そこで高血圧の予防のためには、いわゆる「減塩」が欠かせないとされるが、一方で食塩が日本の食文化を支える要素ともなっている。食塩摂取量を減らすばかりでなく、高血圧につながらない食塩の摂取方法を模索することも、重要である。

この解決策の一つとして、我々は咀嚼を提唱している。咀嚼器官に関するこれまでの研究では、歯周病・咬合状態・歯の喪失が高血圧と関連していると特定されている¹¹⁻¹⁴⁾。したがって、咀嚼習慣によっても、高血圧の予防や改善が期待できると考えられる。一方、血圧とストレスに関連があることはよく知られるが^{15, 16)}、咀嚼についても、慢性的なストレスを軽減することが示唆されている。マウスおよびラットに固形飼料を与えると、ストレスマーカーであるアドレナリンやノルアドレナリンなどの血中カテコールアミン濃度が低下する¹⁷⁾。さらに、固形飼料群において血中コルチコステロン濃度や血圧の低下も示されている¹⁸⁾。これらのことから、咀嚼量の増加はストレスを緩和させることで、血圧上昇抑制、高血糖による糖尿病の予防などに有効であると考えられている。しかし、高血圧における口腔の健康の役割は、まだ十分には明らかになっていない。特に因果関係やメカニズムの解明が必要とされる。

そこで我々は、これらのメカニズムを分子レベルで解明するために、ラットに粉末飼料 (Powder, P) と固形飼料 (Chow, C1) をそれぞれ 15 週間与え、DNA マイクロ

アレイを用いた脳の網羅的な遺伝子発現解析を行った。その際、固形飼料群での血圧が有意に低下し、咀嚼のストレス緩和への効果も見出した。血圧制御に関与する視床下部に焦点を当てて解析したところ、発現変動した血圧関連遺伝子群は、主に視床下部—下垂体—副腎軸 (hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPA 軸) に関与するものであった。このことから、咀嚼によって副腎皮質刺激ホルモン (Adrenocorticotrophic Hormone, ACTH) 分泌を介した HPA 軸の活性化が抑制され、その結果血圧が低下したと予測された。実際に血中 ACTH 濃度は低下していた。

ただしこれら咀嚼の健康効果に関する研究は、他グループの成果も含めて、これまで粉末と固形という対照的な物性の飼料による 2 群間比較によって行われてきた。したがって咀嚼量と効果量との関係を定量的に解析することができなかった。そこで本研究では、硬さの異なる飼料を調製し、それらを与えた場合の血圧に対する効果量を検討する。

2. 実験

2.1 飼料

粉末飼料 (P 飼料) には、AIN-93G に準拠したものを使用した (Table 1)。固形飼料には、これまでと同様のもの (C1 飼料) と、新たに調製したより硬い飼料 (C2 飼料) を使用した。いずれも、日本クレア株式会社に、調製を依頼した。

Table 1. 飼料組成

	Powder (P)	Chow 1 (C1)	Chow 2 (C2)
コーンスターチ	39.7486	51.9486	39.7486
ミルクカゼイン	20.0000	20.0000	20.0000
α化-コーンスターチ	13.2000	1.0000	13.2000
ショ糖 (上白糖)	10.0000	0	10.0000
ショ糖 (グラニュー糖)	0	10.0000	0
精製大豆油	7.0000	7.0000	7.0000
結晶セルロース	5.0000	5.0000	5.0000
ミネラル混合	3.5000	3.5000	3.5000
ビタミン混合	1.0000	1.0000	1.0000
L-シスチン	0.3000	0.3000	0.3000
重酒石酸コリン	0.2500	0.2500	0.2500
第3ブチルヒドロキノン	0.0014	0.0014	0.0014

2. 2 飼料の硬さ測定

C1 飼料と C2 飼料の硬さの測定を、英弘精機株式会社にて委託した。解析は、テクスチャーアナライザー (TA.XTplus100C) を用い、使用治具:HDP/BS (ブレードセット)、圧縮速度:1 mm/sec、圧縮率:60%、トリガー荷重:5 g の測定条件の下に行った。

2. 3 動物

Jcl:Wistar 雄ラット (3 週齢または 6 週齢) を日本クレア株式会社より購入し、 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 20\%$ 、明暗サイクル 12 時間 (明 8:00-20:00、暗 20:00-8:00) に調節された飼育室で飼育した。4 日間粉末飼料を与えて予備飼育した後、ラットを平均体重が同程度になるように群分けして、以下の条件で飼育した。

2. 3. 1 C2 飼料の摂餌量モニタリング

3 週齢ラットを予備飼育後、P 飼料、C1 飼料、および C2 飼料を各群にそれぞれ与えた。飼料は全て、粉末飼料用の給餌器に投入し、フタを閉めて給餌した (P, C1, C2_feed1)。10 週間、飼料と水を自由摂取させ、定期的に摂餌量と体重を測定した。

2. 3. 2 C2 飼料の給餌方法の検討

6 週齢ラットを予備飼育後、P 飼料および C2 飼料を各群にそれぞれ与えた。P 飼料は粉末飼料用の給餌器に投入し、フタを閉めて給餌した。C2 飼料については、粉末用給餌器のフタを開けたもの (C2_open)、粉末用給餌器に飼料を砕いて与えたもの (C2_clash)、固形飼料用の給餌器に投入したもの (C2_feed2) の 3 群を用意した。10 週間、飼料と水を自由摂取させ、定期的に摂餌量と体重を測定した。

2. 4 血圧測定

飼育最終週に、非観血式自動血圧測定装置 (BP-98A-L, 株式会社ソフトロン) を使用し、Tail-cuff 法により脈拍、収縮期血圧、平均血圧、拡張期血圧を測定した。

2. 5 血中 ACTH 濃度測定

ラットの飼育終了後、解剖して血清を採取した。ACTH 濃度測定は、ACTH ELISA Kit (MD Bioproducts) を用いて、メーカーのプロトコルに従って行った。

3. 研究結果

3. 1 より硬い C2 飼料の調製

既存の 2 種類の飼料 (P, C1) に加えて、硬さの異なる飼料を追加調製した。すなわち、飼料に含まれるコーンスターチ

(α 型と β 型) の比を調整することで、より硬い固形飼料 (C2) を調製した。2 種の固形飼料 (C1, C2) について、テクスチャーアナライザーを用いて物性を定量したところ、これまでの C1 飼料の破断までの最大荷重が $1.05 \pm 0.22 \text{ kg}$ であったのに対して、新たに調製した C2 飼料のそれは 11.59 ± 0.21 と、約 11 倍大きかった (Fig. 1A)。破断までの経時変化を比較すると、C1 飼料は小さいピークが複数回現れたのに対し (Fig. 1B)、C2 飼料は大きなピークが 1 つだけ現れていた (Fig. 1C)。測定後の飼料を観察すると、C1 飼料は複数個の塊となっており、何回か割れが起こっていることが示された (Fig. 1D)。一方 C2 飼料は、真っ二つに割れており、割れが 1 度だけであることが示された (Fig. 1E)。以上の結果から、C2 飼料は C1 飼料に比べて、物性として硬いものであることが示された。

コーンスターチの比を変えることで、咀嚼量以外の要素 (消化率など) に変化が生じる懸念があったため、予備的に 10 週間、P, C1, C2 の各飼料で飼育した。摂餌量と体重をモニタリングしたところ、C1 飼料では P 飼料と比べて、総摂餌量・体重増加量・同化率 (体重増加量 / 総摂餌量) に差はなかった (Fig. 2A)。これは、以前に 15 週飼育した実験と同様の結果である。これに対し、C2 飼料を C1 飼料と同様の方法で与えたところ (C2_feed1)、総摂餌量は P 飼料群と比べて有意に低下し、体重増加量も有意に低下した (Fig. 2A)。同化率は低下していないことから、摂餌量の低下に伴う体重増加量の低下と考えられた。

3. 2 より硬い C2 飼料の給餌方法の検討

これまでの摂餌量のより正確な測定のため、C1 飼料を粉末飼料用の給餌器を用いて与えていた。しかし C2 飼料の場合は硬すぎて、粉末飼料用の給餌器 (feed1) では食べにくい様子が観察された (data not shown)。そこで、C2 飼料を食べやすい給餌方法を検討した。

Feed1 では、フタが摂餌を妨害しているように観察されたことから、まず粉末用給餌器のフタを外して、C2 飼料を与えた (C2_open)。その結果、これまでとは逆に、P 飼料と比べて有意に総摂餌量が増加した (Fig. 2B)。次いで、C2 飼料を砕いてから、粉末用給餌器を用いて、フタ付きで与えた (C2_clash)。その結果、総摂餌量・体重増加量・同化率とも、P 飼料群との有意な差は見られなかった (Fig. 2B)。最後に、固形飼料用の給餌器を用いて、C2 飼料を与えたところ (C2_feed2)、同様に総摂餌量・体重増加量・同化率とも、P 飼料群との有意な差は見られなかった (Fig. 2B)。

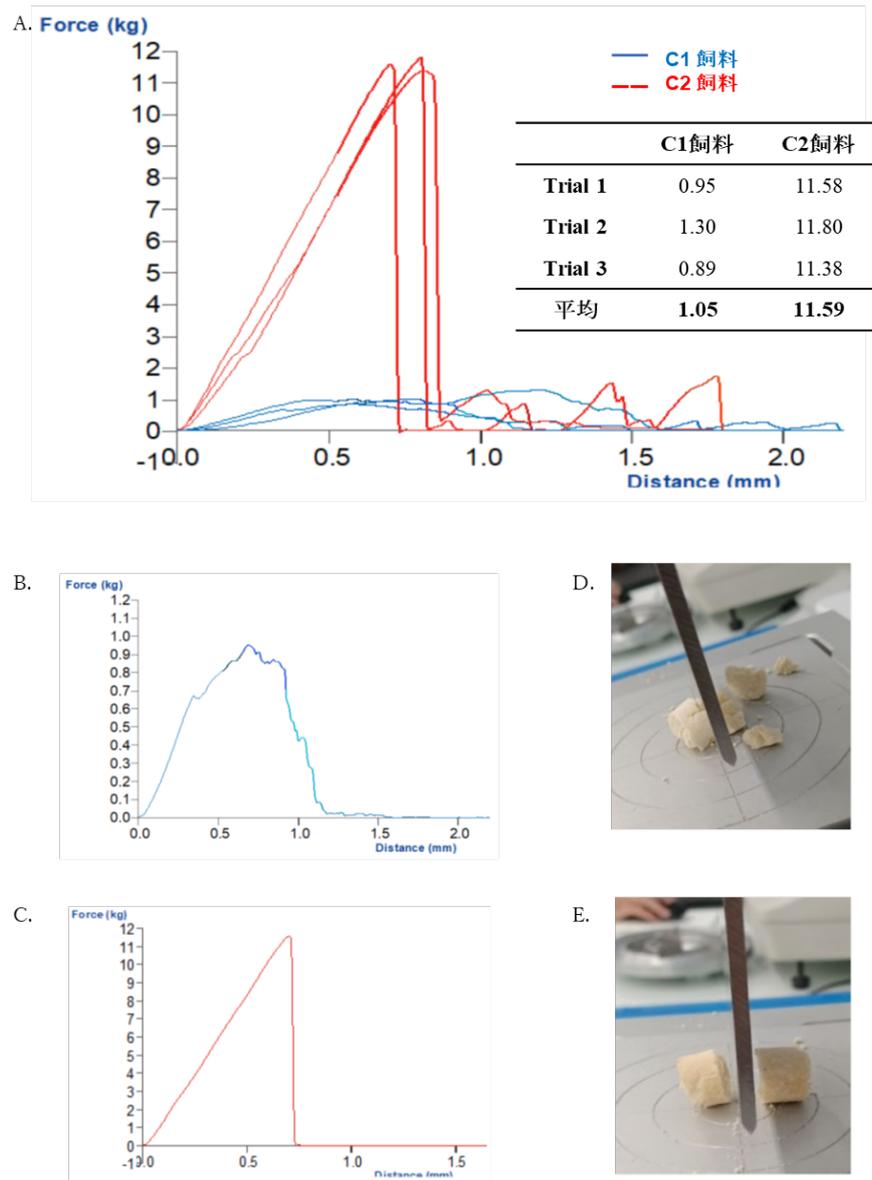


Fig 1. テクスチャーアナライザーによる固形飼料の硬さの比較
 テクスチャーアナライザーにより, C1 飼料と C2 飼料の物性の違いを数値化した。
 A: ブレードの下降距離 (mm) と荷重 (kg) の関係。
 B, C: ある測定回における荷重の変化。D, E: ある測定回における破断時のサンプル状態。

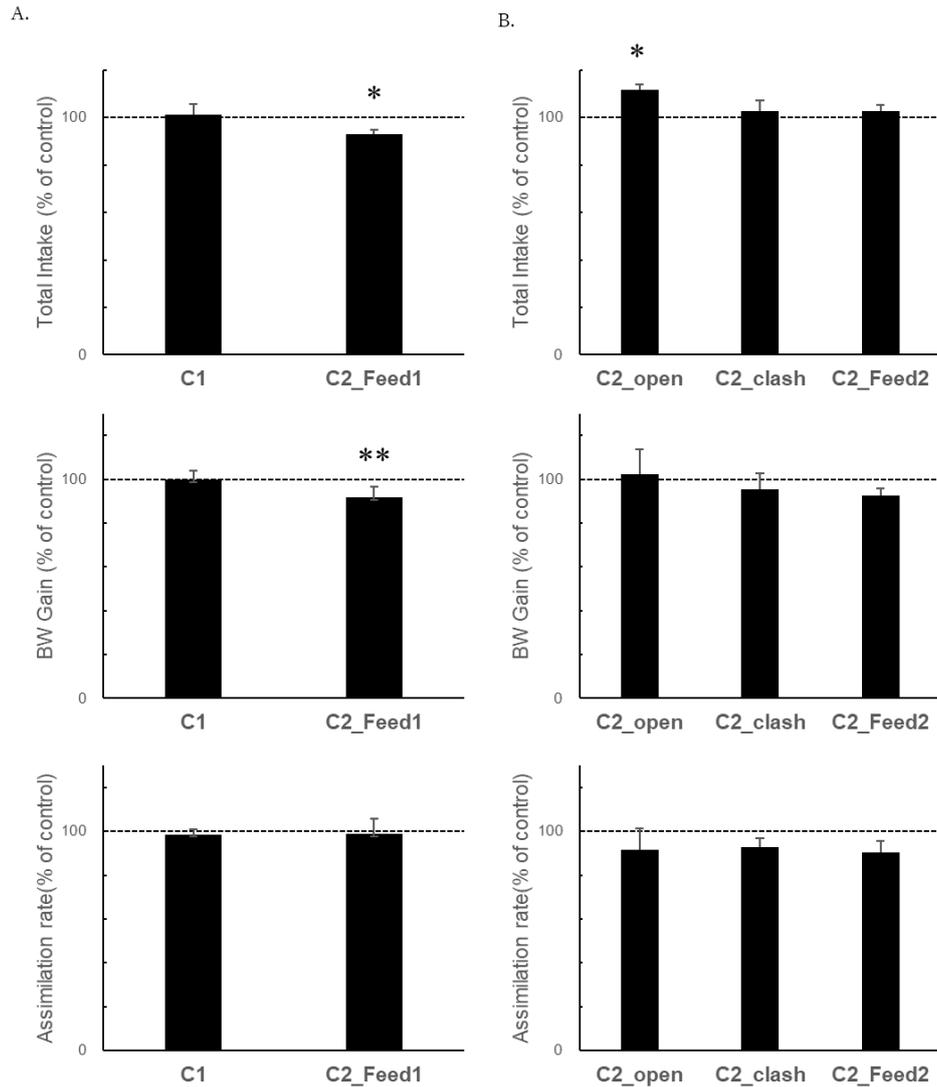


Fig 2. 種々の条件で固形飼料を与えた際の摂餌量と体重増加量

A: 3週齢ラットに10週間, C1飼料またはC2飼料を, 粉末用給餌器のフタを閉めて与えた(C1, n=5, C2_feed1, n=10)。B: 6週齢ラットに8週間, C2飼料を, 粉末用給餌器のフタを開けて(C2_open, n=4), 砕いて(C2_clash, n=4), または固形用給餌器で(C2_feed2, n=3)与えた。

上段: 総摂餌量, 中段: 体重増加量, 下段: 同化率を, P飼料群との相対値で表した。

Mean ± SD. *: p<0.05, **: p<0.01 vs control (Powder).

3.3 各実験条件の血圧への効果

各実験条件のうち, 摂餌量と体重増加量でP飼料群と差のなかったものについて, 血圧を比較した(Fig. 3)。C1飼料を3週齢から10週間与えたラットは, P飼料群と比べて有意ではないものの, 収縮期血圧・平均血圧・拡張期血圧ともに低下傾向が見られた(Fig. 3A)。以前に行った15週飼育実験では, 低下傾向がより顕著にな

り, 平均血圧と拡張期血圧では, 有意な低下が観察された(data not shown)。C2飼料では, C2_clashとC2_feed2について血圧を測定したところ, 同様に有意ではなかったが, C2_feed2群でP飼料群と比べて, 収縮期血圧・平均血圧・拡張期血圧の低下傾向が見られた(Fig. 3B)。

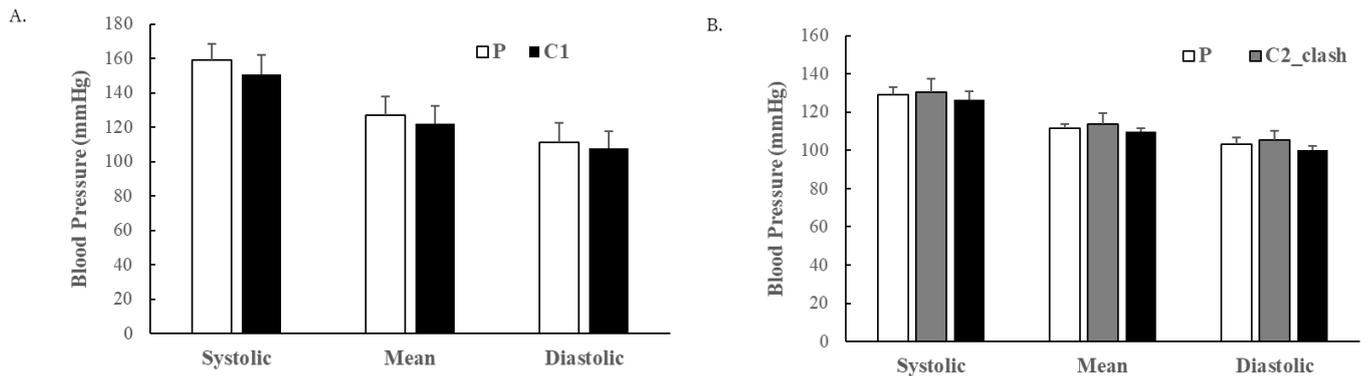


Fig 3. 種々の条件で固形飼料を与えた際のラット血圧

A:3 週齢ラットに 10 週間, P 飼料 (n = 3) または C1 飼料 (n = 5) を与え, 最終週の血圧を測定した。

B:6 週齢ラットに 8 週間, P 飼料 (n = 4), および C2 飼料を, 砕いて (C2_clash, n = 4), または固形用給餌器で (C2_feed2, n = 3) 与え, 最終週の血圧を測定した。

Mean ± SE

3. 4 C1 飼料の血中 ACTH 濃度への効果

1 飼料を 3 週齢から 10 週間与えたラットについて, 血中 ACTH 濃度を測定した。その結果, P 飼料群と比べて有意な変化は観察されなかった (Fig. 4)。

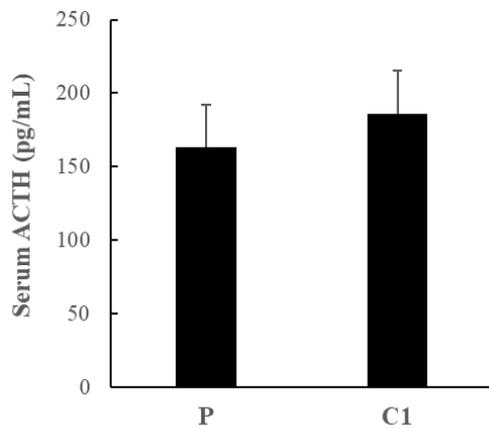


Fig 4. C1 飼料で飼育したラットの解剖時血清 ACTH 濃度

週齢ラットに 10 週間, P 飼料または C1 飼料を与え, 解剖して血清を採取した。

Mean ± SE (n = 5).

4. 考察

咀嚼量の増加は血圧上昇抑制に有効であると考えられているが, その因果関係やメカニズムの解明は十分ではない。我々は, これらのメカニズムを分子レベルで明らかにすることを目指しており, そのためには咀嚼量と効果量との関係を定量的に解析する必要がある。本研究では, 以前の研究に用いていた固形飼料 (C1) よりも硬い飼料 (C2) を調製し, これを与えた場合の血圧に対する効果量を, 予備的に解析した。

咀嚼が及ぼす影響の解析は, これまでにもさまざまな方法で行われてきた。そのうち, 中長期的な効果を見る場合には, 餌の形状を異なるものにして咀嚼頻度に差を出す方法や¹⁸⁻²⁰, 抜歯など外科手術を施すことで咀嚼機能に差を出す方法²¹⁻²³が主に用いられてきた。しかし後者は, 手術によってストレスを与えてしまう可能性や, 咀嚼機能を失うことで栄養状態に差が出てしまう可能性を排除できない。そこで我々は, 咀嚼頻度以外の変化を概ね排除できる前者の方法を選択し²⁴⁻²⁶, 本研究も, それを踏襲している。

C2 飼料を, テクスチャーアナライザーを用いて解析した結果, C1 飼料と比べ, 物性として硬いものであることが示された (Fig. 1)。しかし, C2 飼料を粉末用給餌器で与えたところ (C2_feed1), 飼育期間中の総摂餌量は有意に低くなった (Fig. 2A)。これまでも C1 飼料を与え始めて 1 週間ほどは, 日によって摂餌量が

P 飼料より低くなるケースがあったが、それ以降は摂餌量や体重に群間差は生じなかった (data not shown)。しかし本研究では、飼育 4 週目以降も固形餌群で摂餌量が低下する日が断続的に生じ (data not shown)、それに伴って体重増加量も有意に低くなった (Fig. 2A)。摂食の様子を観察すると、飼料が硬いことによる摂食困難が推測されたことから、単純に咀嚼の効果による変化が現れたとは考えにくい。一方で成長期ラットの血圧は、5 週齢から 13 週齢までは上昇傾向が見られる²⁷⁾。摂餌量の差は成長に影響を与えかねず、血圧をはじめとした様々な生理学的・生化学的な変化をもたらしてしまう可能性があり、実験系として適切でない。したがって、より硬くなった C2 飼料では、給餌方法を工夫して十分な摂餌量を確保することが必要であることが明らかになった。

給餌方法を検討するための予備実験は、6 週齢からの飼育開始とした。これは、C2_feed1 の実験では 3 週齢から飼育して 4 週目 (7 週齢頃) から、摂餌量と体重が有意に低下したためである。すなわち 6 週齢から 8 週齢の辺りで、体の大きくなったラットが、粉末用給餌器の狭い穴から摂食できなくなると推測した。予備試験では、フタを取り外す工夫 (C2_open)、C2 飼料を砕いて食べやすくする工夫 (C2_clash)、および固形飼料用給餌器を用いる工夫 (C2_feed2) を施したところ、C2_clash と C2_feed2 では総摂餌量と体重増加量が P 飼料群と有意差が見られなかった (Fig. 2B)。よって血圧を測定するための実験系として、これら 2 条件で飼育することが適切であると考えられた。

P 飼料群と同等の摂餌量が確保されたと考えられる C1、C2_clash、C2_feed2 について、最終週の血圧を測定した (Fig. 3)。その結果、C1 飼料群と C2_feed2 群で、P 飼料群と比べて血圧の低下傾向が見られた。C1 については、以前の 15 週飼育の実験において、血圧の有意な低下を観察している。本研究では予備的に 10 週飼育した結果、血圧の低下傾向を観察したものの、有意な差ではなかった (Fig. 3A)。これは、10 週飼育では咀嚼の効果が十分に得られなかった可能性が考えられる。一方で、10 週飼育後 (13 週齢) では成長に伴う血圧上昇が起こっており、個体差が大きく、統計的に十分な個体数を得られていない可能性もある。今後は、より詳細な解析を

行い、C1 飼料における経日的な血圧上昇抑制効果のモニタリングが必要である。C1 飼料群の血中 ACTH 濃度に咀嚼の効果は見られなかったが、これも 2 つの可能性が考えられる。1 つは血圧と同様に 10 週間では効果が現れなかった可能性、もう 1 つは成長期では内分泌系ではなく自律神経系への効果が大きい可能性である。我々は、3 週齢から 2 週間飼育した際に、咀嚼による自律神経系の変化を明らかにしている²⁶⁾。もしかしたら、咀嚼は幼若期には自律神経系へ、成獣期には内分泌系へ、影響を与えているのかもしれない。

C2 飼料においては、C2_feed2 群で血圧の低下傾向が見られたものの、C2_clash 群では見られなかった (Fig. 3B)。固形飼料を砕くことで、咀嚼量の増加を十分に得られなかった可能性がある。したがって、C2_feed2 の方が、より咀嚼の効果を解析する実験系として優れていると考えられる。本研究では予備実験として 6 週齢からの飼育であったため、現段階では C1 飼料との比較はできない。

5. 今後の課題

本研究では、C1 と C2 の硬さの異なる固形飼料を調製し、予備実験にてその有効な給餌方法を明らかにすることができた。今後は、引き続き健常ラット (Wistar) の解析を行って、C1 飼料と C2 飼料を詳細に比較していく必要がある。

さらに、疾患モデルにおける咀嚼の効果を、今後は明らかにしていく必要がある。現在、自然発症高血圧ラット (spontaneously hypertensive rat, SHR) を用いて、まず P 飼料と C2 飼料の効果を比較する実験を行っている。

6. 文献

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). (2021) Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *Lancet*. **398** (10304), 957-980.
2. 三浦克之 (2013) 2010 年国民健康栄養調査対象者の追跡開始 (NIPPON DATA 2010) と NIPPON DATA 80/900 の追跡継続に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業 平成 22 年度～24 年度総合研究報告書.

3. Hoshide S, Kario K, Tomitani N, Kabutoya T, Chia YC, Park S, Shin J, Turana Y, Tay JC, Buranakitjaroen P, et al. (2019) Highlights of the 2019 Japanese Society of Hypertension Guidelines and perspectives on the management of Asian hypertensive patients. *J Clin Hypertens* **22**, 369–377.
4. 厚生労働省 (2005) 平成 17 年(2005)患者調査の概要. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/05/02-02.html> (2024/1/24 取得).
5. 厚生労働省 (2009) 平成 20 年(2008)患者調査の概要. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/08/dl/05.pdf> (2024/1/24 取得).
6. 厚生労働省 (2012) 平成 23 年(2011)患者調査の概要. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/11/dl/04.pdf> (2024/1/24 取得).
7. 厚生労働省 (2015) 平成 26 年(2014)患者調査の概要. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/14/dl/05.pdf> (2024/1/24 取得).
8. 厚生労働省 (2019) 平成 27 年(2017)患者調査の概要. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/17/dl/05.pdf> (2024/1/24 取得).
9. Umemura S, Arima H, Arima S, Asayama K, Dohi Y, Hirooka Y, Horio T, Hoshide S, Ikeda S, Ishimitsu T, et al. (2019) The Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2019). *Hypertens Res* **42**, 1235–1481.
10. 厚生労働省 (2020) 令和元年 国民健康・栄養調査報告.
11. Iwashima Y, Kokubo Y, Ono T, Yoshimuta Y, Kida M, Kosaka T, Maeda Y, Kawano Y, Miyamoto Y. (2014) Additive interaction of oral health disorders on risk of hypertension in a Japanese urban population: The Suita Study. *Am J Hypertens* **27**, 710–719.
12. Darnaud C, Thomas F, Pannier B, Danchin N, Bouchard P. (2015) Oral Health and Blood Pressure: The IPC Cohort. *Am J Hypertens* **28**, 1257–1261.
13. Miquel S, Aspiras M, Day JEL. (2018) Does reduced mastication influence cognitive and systemic health during aging? *Physiol Behav* **188**, 239–250.
14. Da D, Wang F, Zhang H, Zeng X, Jiang Y, Zhao Q, Luo J, Ding D, Zhang Y, Wu B, Shanghai Aging Study. (2019) Association between tooth loss and hypertension among older Chinese adults: A community-based study. *BMC Oral Health* **19**, 277.
15. Spartano NL, Augustine JA, Lefferts WK, Gump BB, Heffernan KS. (2014) The relationship between carotid blood pressure reactivity to mental stress and carotid intima-media thickness. *Atherosclerosis* **236**, 227–9.
16. 服部朝美, 宗像正徳. (2020) 高血圧とストレス—24 時間血圧コントロールの重要性—. *心身医学*. **60**, 398–404.
17. 田中真樹, 越野寿, 岩崎一生, 横山雄一, 平井敏博. (2007) ラットの飼育飼料形態の血液指標への影響. *日本補綴歯科学会雑誌*. **51**, 75.
18. Tsuchiya M, Nijijima-Yaoita F, Yoneda H, Chiba K, Tsuchiya S, Hagiwara Y, Sasaki K, Sugawara S, Endo Y, Tan-No K, Watanabe M. (2014) Long-term feeding on powdered food causes hyperglycemia and signs of systemic illness in mice. *Life Science* **103**, 8–14.
19. 川村早苗. (1989) マウスとラットの条件回避学習に及ぼす飼料硬度の影響. *Jpn J Oral Biol*, **31**, 72–82.
20. 池田和博, 牧浦哲司, 平井敏博, 浜上尚也, 寺澤秀朗, 松実珠千, 傳法佳恵, 渡辺慎一郎, 田中慎介, 須藤恵美, 山岡義孝. (2003) ラットにおける固形飼料飼育から粉末飼料飼育への変更が視床下部-下垂体-副腎皮質系(HPA 系)に及ぼす影響. *老年歯科*, **18**, 255–256.
21. 梅田健吾, 沢木佳弘, 伊藤正夫, 増田晃司, 竹原公善, 上田実, 金田敏郎. (1991) 歯牙喪失が成熟ラットの学習能力に及ぼす影響. *J Jpn Stomatol Soc*, **40**, 377–383.
22. 加藤武司, 宇佐美雄司, 長谷川雅哉, 野田幸裕, 上田実, 鍋島俊隆. (1995) 歯牙喪失老齡ラットの情動行動に関する研究. *老年歯学*, **10**, 189–193.
23. 本庄真. (2006) 発達期歯牙喪失によるラット大脳皮質口腔感覚野への影響. *金沢医科大学雑誌*, **31**, 73–81.

24. Ogawa M, Nagai T, Saito Y, Miyaguchi H, Kumakura K, Abe K, Asakura T. (2018) Short-term mastication after weaning upregulates GABAergic signalling and reduces dendritic spine in thalamus. *Biochem Biophys Res Commun*, **498**, 621-626.
25. Yasuoka A, Nagai T, Lee S, Miyaguchi H, Saito Y, Abe K, Asakura T. (2022) Mastication stimuli enhance the learning ability of weaning-stage rats, altering the hippocampal neuron transcriptome and micromorphology. *Front Behav Neurosci*, **16**, 1006359.
26. Lee S, Tochinai R, Yasuoka A, Nagai T, Saito Y, Kuwahara M, Abe K, Asakura T. (2023) Mastication stimuli regulate the heartbeat rate through rhythmic regulation by the hypothalamic-autonomic system; molecular and telemetric studies in weaning-stage rats. *Front Neurosci*, **17**, 1260655.
27. Okamoto K, Aoki K. (1963) Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* **27**, 282-93

Contribution of Food Hardness to the Health Effects of Chewing

Toshitada Nagai

Takasaki University of Health and Welfare

Summary

Hypertension is one of the major lifestyle-related diseases that can lead to conditions such as myocardial infarction and stroke. One of its causes is excessive salt intake. While salt reduction is considered essential for preventing hypertension, salt also plays a significant role in Japanese food culture. Therefore, rather than merely reducing salt intake, exploring methods of salt intake that do not lead to hypertension is equally important.

The applicants focused on the health benefits of mastication and we have discovered a significant reduction in blood pressure in a long-term (15-week) rat model through mastication. This finding suggests a potential new approach to salt intake. However, previous studies on the health benefits of mastication, including those conducted by other research groups, have primarily compared two extreme feed types: powder (P) and solid (Chow, C). This approach did not allow for a quantitative analysis of the relationship between the amount of mastication and its effects.

In this study, in addition to existing solid feed (C1), we developed a harder solid feed (C2). Measurements using a texture analyzer showed that C2 had an approximately 11 times greater load at fracture than that of C1 feed, quantitatively confirming its hardness. However, concerns arose that altering the cornstarch ratio might affect factors beyond mastication amount (such as digestion rate). A preliminary 10-week study using C2 feed showed a significant decrease in total food intake, which was accompanied by a significant reduction in weight gain.

To address this, modifications were made to the feeding method. When C2 feed was crushed to make it easier to eat (C2_clash) and when a dedicated feeding device was used (C2_feed2), rats were raised from six weeks old for eight weeks. The results confirmed that there was no difference in food intake or body weight between the two groups. At the final week of the study, blood pressure measurements showed a tendency for blood pressure to decrease in the C2_feed2 group compared to the P-group. This suggests that C2_feed2 was the more suitable for analyzing the effects of mastication.

In future, experiments using spontaneously hypertensive rats as a disease model will be essential. Currently, a study comparing the effects of P- and C2-feed is underway.