

平成 21 年 6 月 5 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2006 ～ 2008  
 課題番号：18791232  
 研究課題名（和文） モルモット咽頭粘膜および輪状咽頭筋におけるニューロペプチドの動態に関する研究  
 研究課題名（英文） A study of the neuropeptide movement in the pharyngeal mucosa and cricopharyngeal muscle at guinea pigs  
 研究代表者  
 横堀 学 (YOKOBORI SATORU)  
 北里大学・医学部・助教  
 研究者番号：40317029

## 研究成果の概要：

モルモット咽頭粘膜および輪状咽頭筋におけるニューロペプチドの動態に関する研究において定量的評価方法の手技の獲得ができた。また形態学的に免疫染色を用いて咽頭粘膜組織上のSPの染色、および染色されたSPの定量的評価方法について検討した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	800,000	0	800,000
2007 年度	700,000	0	700,000
2008 年度	200,000	60,000	260,000
年度			
年度			
総計	1,700,000	60,000	1,760,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：輪状咽頭筋 ニューロペプチド SP

## 1. 研究開始当初の背景

Osler が「肺炎は老人の友」と明言してはや100年がたつが、今もってして高齢者の死亡原因の多くの割合を肺炎が占めているのが現状である。平成14年4月より北里大学病院耳鼻咽喉科でも、嚥下障害患者に対する診断、治療、リハビリテーションを専門的に行うために嚥下外来を開設した。

その診療においてしばしば遭遇するのが明らかな脳梗塞、脳出血の既往のない患者の繰り返す肺炎や、食物のむせの訴えである。そ

れらの患者は、精査を行うと食道造影にて少量の誤嚥を認め、MRIにて脳に微小脳梗塞を認めることが多い。今まではこのような患者は経過観察を行い、肺炎を罹患すると対症療法を行ってきたのが現状である。

しかし、近年不顕性誤嚥による肺炎の研究が進められており、ドーパミン、カプサイシン、ニューロペプチドであるサブスタンスP（以下SP）等の関与が徐々に解明されつつある。これらの研究を進めることにより高齢者における肺炎の軽減、さらには嚥下のメカニズ

ムの解明の一端を担うものと考えている

## 2. 研究の目的

咽頭粘膜は迷走神経知覚枝や、舌咽神経のレセプターが存在し、食塊の感知することで嚥下反射が惹起される。嚥下反射においてレセプターの神経終末で SP などのニューロペプチドが情報伝達に重要な役割を果たしており、SP の減少が誤嚥のファクターのひとつであるといわれている。

降圧剤である ACE 阻害剤を投与することにより、誤嚥性肺炎が減少する報告がある。これは ACE 阻害剤の副作用として知られる咳の誘発と関連があるといわれ、SP の分解阻害により活性が高まることにより嚥下が改善するからである。ACE 阻害剤を投与した患者の喀痰中の SP の濃度はコントロール群に比べ増加している報告もある。しかし、神経終末の存在する咽頭粘膜上における SP の変化の報告はなく、これらを実証することを目的とする。

また SP は知覚神経のニューロトランスミッターであり、実際嚥下運動で作動する筋の指標としてのニューロペプチドとしては VIP がニューロトランスミッターとして関与しているが、ACE 阻害剤の投与による VIP の報告は現在のところなく、嚥下運動の改善の指標としては VIP の評価も必要であると考えている。本研究においては VIP の動向も輪状咽頭筋において評価する。

## 3. 研究の方法

正常モルモットにおける咽頭粘膜上の SP の定量、また免疫学的手法による SP の同定を行う。また正常モルモットの輪状咽頭筋における VIP の定量、免疫組織学的手法による VIP の同定を行う。

SP, VIP の同定に関しては生化学的手法により標的組織をホモジュネートし定量する。

免疫学的同定はモルモットを還流固定にて固定後、凍結標本を作製し、免疫染色にて標的組織内の分布を調べる。これらの作業により、正常モルモットにおけるニューロペプチドの正常分布や、正常値を測定し、コントロールとする。ACE 阻害剤を投与したモルモットにおいて同様の手法を用いて夫々の定量、同定を行う。これらの結果より、ACE 阻害剤の嚥下に与える影響をニューロペプチドで評価する。

## 4. 研究成果

モルモット咽頭粘膜および輪状咽頭筋におけるニューロペプチドの動態に関する研究において平成 18 年度においてはまず本研究における手技の取得、および関連学会への学術収集のための参加、および関連する臨床医学における論文投稿を行った。

まず、正常モルモットにおいて咽頭粘膜上の SP の定量を行うに当たり、形態学的に免疫染色を用いて咽頭粘膜組織上の SP の染色、および染色された SP の定性的評価方法について検討した。同様に輪状咽頭筋においても形態学的に組織上の SP に対し免疫染色を行い定性的評価方法を検討した。

また VIP に関してもそれぞれ咽頭粘膜組織、および輪状咽頭筋において免疫染色による定性的評価方法について検討した。

定量的評価方法については、咽頭粘膜組織および輪状咽頭筋をホモジュネートし、定量を試みた。

現状においては、定性方法に関しては比較的安定したデータが採取でき評価方法については妥当と考えられるが、定量に関しては SP の半減期が短い事が影響し、各測定においてデータの再現性が乏しい結果となった。SP の定量方法に関しては組織採取穂法および、組織からの SP の定量方法について今後

一部変更し検討を加える必要があると思われる。

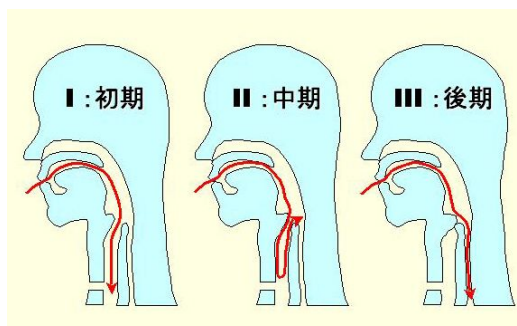
また、関連する臨床での論文投稿は、喉頭癌患者に対する喉頭温存手術後における嚥下機能に関わる内容を投稿した。喉頭温存手術後における輪状軟骨および舌骨の位置に関する検討を投稿し、受領掲載された。

当科では1997年よりSupracricoid laryngectomyを施行している。2001年の第102回日本耳鼻咽喉科学会総会において術後嚥下機能獲得に関する第一報を報告した。今回は症例数を増やし、手術手技の工夫、手術の拡大切除症例の嚥下機能の獲得の過程などについて考察し報告する。

また関連する分野の臨床的検討も行った。  
対象と方法

対象は北里大学病院耳鼻咽喉科において1997年4月から2003年5月までにSupracricoid laryngectomyを施行し、術後嚥下機能獲得の訓練を施行した10症例とした。全症例男性で、平均年齢と63歳±6.1で、最高齢は70歳、最低年齢は53歳であった。

これらの症例の術後嚥下機能獲得の過程を中山らが提唱した分類を用いて検討した<sup>3)</sup>。この分類はCHEP、CHP術後の嚥下機能の再獲得過程を分類したもので、嚥下訓練と下咽頭食道透視検査の検討から3つの時期に分類される。



初期：食塊は新声門を通過し、直接気管に入る。患者は激しくむせる時期

中期：食塊は新声門入口部と気管切開孔と

の間で、停滞し、咽頭に喀出される時期

後期：食塊は閉鎖した新声門に流入することなく食道に入るか、軽度新声門下に流入してもすぐ喀出できる時期

以下この分類を用いて検討した。

### III. 結果

対象10症例の年齢、p TNM、術式、披裂部の切除の有無を提示した (Table1)。

Table 1

no	pTNM	operation	reaction of the arytenoid	early stage (day)	middle stage (day)	late stage (day)	total (day)	eat out	time from operation
75	pT1N0	CHEP	+	5	11	10	26	Y	Case86
86	pT1N0	CHEP	+	5	8	5	18	Y	Case80
70	pT1N0	CHEP	+	14	24	7	45	N	Case82
82	pT1N0	CHEP	+	2	1	2	5	Y	Case81
58	pT1N0	CHP	+	5	89	15	109	N	Case with metastasis of lung
55	pT1N0	CHP	+	22	142	0	169	N	Case27
68	pT1N0	CHEP	+	8	25	22	55	Y	Case41
56	pT1N0	CHEPFA	+	0	11	15	26	Y	Case33
54	pT1N0	CHEPFA	+	1	10	10	21	Y	Case with metastasis of lung
52	pT1N0	CHEPFA	+	0	8	10	18	Y	Case71

各症例の嚥下訓練開始後の嚥下機能獲得日数を下咽頭食道透視検査、嚥下訓練経過より推定し、現在の各症例の食形態、経過観察期間を提示した。外食の可、不可については社会復帰の目安として提示した。

術後嚥下獲得に要した日数は、誤嚥が多く未だ機能の獲得が完了していない症例6を除いた9症例で検討した。全体の平均36.5日であった。初期の平均は3.9日、中期は21.8日、後期は10.8日であった。CHEPFAを施行した3症例において嚥下獲得の初期の日数は0もしくは1日とCHEP、CHP例に比較して短縮された。CHEPFAの2症例においては訓練開始時より、気管への直接流入はなく、嚥下機能獲得全体の日数は平均23.0日と短縮を認めた。

CHPの症例5は嚥下機能獲得までに100日、症例6では後期過程まで到達できずに169日を要する結果であった。また一側披裂部を合併切除し、CHEPFAを施行した2症例は初期より良好な経過をたどり症例9で30日、症例10で18日と披裂部非切除症例と比較して嚥下機能獲得までの期間には差は認められな

った。

対象10症例中症例5は遠隔転移にて25か月目に死亡したが、喉頭の局所再発はなかった。他9症例は現在無病生存中である。

9症例のうち7症例が社会復帰し外食が可能な状態にある。外食が困難な症例はCHPの2症例とCHEPの1症例であった。

#### IV 考察

今日の喉頭癌治療において放射線療法と化学療法は喉頭温存、すなわち機能温存において大きな役割を果たしている。しかし、T2の一部やT3以上の症例においては、抗腫瘍効果が不十分で、局所再発を生じることがある。このような症例に対してのサルベージ手術としてのCHEP、CHPの有用性に関しては中山ら<sup>2)</sup>、塩谷らがすでに報告している<sup>6)</sup>。

この手術の大きな特徴は、甲状軟骨の切除が必要な場合でも施行が可能な点である。両側声帯から前連合にかかり、傍声帯間隙に及ぶような腫瘍には、垂直部分切除術などの通常の部分切除術で対処することは困難であり、実際には喉頭全摘出術が多く行われている。CHEP、CHPはこのような症例に対しても喉頭機能を温存し腫瘍学的に安全な切除が可能である。そのため、残存した喉頭を用いていかに発声、嚥下機能を再獲得させるかが、この手術の術後の鍵となる。

今回は第1報で報告したCHEP、CHP症例に加え、1側の披裂部合併切除を2症例施行した(症例2、8)。また、この術式の大きな特徴である術後声門の形成にあたり、声門が大きく開大するため、術後嚥下機能獲得補助の目的に喉頭蓋喉頭面粘膜下に脂肪組織を挿入したCHEPFAを3症例に施行した(症例8, 9, 10)。

喉頭部分切除術では被裂部の高まりが術後の嚥下機能に影響するとの報告がある。そのため1側の被裂部合併切除2症例に対して、CHEPFAにて喉頭流入をなるべく防ぐ工夫を

試みた。術後嚥下機能の獲得に関しては行ってきたCHEP原法施行症例に比較して初期は2症例とも0日と良好な結果を示し、後期までを含む最終的な嚥下機能獲得に比較して差を認めなかった。この結果は被裂部の欠損を補うメリットが逆に嚥下運動に対して生ずる、すなわち喉頭の挙上为非切除に比較し良好になることで、嚥下挙上期の直接の喉頭流入を防ぎえたと考えるのか、それともCHEPFAの効果なのか、この問題に関しては検討の余地を残す。しかし両披裂部非切除症例のCHEPFA症例も初期が1日とCHEPに対し短縮されたことを考えると、CHEPにおける喉頭流入の予防には、喉頭蓋と披裂部との閉鎖も重要な役割を果たしていると思われた。このことはCHP症例が、CHEP症例に対して嚥下機能の獲得に多くの日数を要したことからも示唆される。

今回の検討ではCHEPFA症例の嚥下機能獲得の合計日数はCHEP原法症例とやや短縮される傾向があったものの、明らかな差は示さなかった。しかし、嚥下機能獲得の過程において食塊や水分の新声門へ直接流入から生ずる初期の激しい咳嗽を軽減する効果があったと思われる。患者の咳嗽に対する苦痛という心理的負担を軽減させることは、スムーズな嚥下訓練を行う上で有効であると考えている。

対象の中でCHPの2症例と、CHEPの1症例において外食がまだ取れない状態にある。症例6に関しては完全に誤嚥が改善することなく経過している。在宅で椅子を後方へ傾ける等、体位を工夫することで嚥下を行っているが、外出時の摂食は困難な状態である。このことからCHEPに対しCHPの喉頭蓋の欠損の差は嚥下機能には大きく影響を及ぼすものと考えられる。

CHEPを施行した症例3は胃瘻を増設し、経

管栄養にて栄養管理を行い、経口摂取は楽しみ程度にしか摂取できない状態である。

この症例の術後喉頭の単純レントゲンでは、接合した舌骨と輪状軟骨が離開している。このため喉頭が低位になっている。喉頭が低位になり、挙上が悪くなったために誤嚥をきたしていると思われる。残存喉頭の十分な挙上がCHEPにおいては嚥下機能に重要であると考えている。

CHEPにおける喉頭蓋への脂肪挿入は、術後の嚥下機能獲得の経過から考えると有効であると思われる。披裂部切除症例に関しても術後嚥下機能の獲得に問題を生じた症例は認めなかった本術式における、術後のさまざまな喉頭の形態と、嚥下動態の検討は、さらに検討を進める必要があると思われる。また今回の検討では術後66か月が最長の経過観察期間であり、現在嚥下機能低下は認めていないが、今後は術後嚥下機能の経時的変化についてもさらに長期的に観察、検討していく必要があると考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① 横堀 学, 中山明仁, 鈴木立俊, 竹田昌彦, 宮本俊輔, 岡本牧人: 喉頭亜全摘術 (CHEP) の術前後における輪状軟骨・舌骨の位置に関する検討. 日本気管食道科学会会報 2007;58(1)25-29 査読有

[学会発表] (計 1 件)

- ① 横堀 学, 中山明仁, 鈴木立俊, 宮本俊輔, 竹田昌彦, 岡本牧人: 喉頭亜全摘術 (SCL-CHEP) 術後の嚥下機能の検討-第 5 報 VF, 喉頭単純 X 線写真の検討-. 第 107 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会. 2006. 5 東京

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

横堀 学 (YOKOBORI SATORU)

北里大学・医学部・助教

研究者番号: 40317029