

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：33602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05871

研究課題名(和文) 嚥下を防ぐための食品開発につながるTRPチャネルのデータベースの構築

研究課題名(英文) Data base of TRP channels involving triggering of swallowing reflex and prevention of aspiration

研究代表者

安藤 宏 (Ando, Hiroshi)

松本歯科大学・歯学部・准教授

研究者番号：30312094

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：嚥下誘発に関わる受容体を検索することを研究の目的とした。咽頭・喉頭領域の感覚を支配しているラット上喉頭神経において冷刺激やワサビ刺激に応答するTRPA1チャネルの発現を免疫組織学的に調べた。TRPA1免疫陽性反応が、中程度から小型の細胞体をもつ感覚神経に観察された。咽頭・喉頭領域へのTRPA1チャネルのアゴニスト(AITC：ワサビの成分)による化学刺激が嚥下誘発を亢進し、TRPA1アンタゴニストはこの嚥下促進効果を減弱した。冷却生理食塩水では嚥下誘発の促進効果を示さなかった。以上から嚥下時の咽頭・喉頭領域における化学感覚の一部は上喉頭神経のTRPA1チャネルを介して受容されていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

飲食物を飲み込む時の咽頭・喉頭領域の感覚は上喉頭神経に受容される。この神経においてTRPA1チャネルが発現することを明らかにした。さらに、TRPA1の作動薬が嚥下を誘発することを明らかにした。これらの結果から咽頭・喉頭領域における感覚形成および嚥下誘発の神経機構の一端を明らかにすることができた。この成果は、高齢化社会を迎えた日本が抱えている社会問題でもある嚥下障害を解決するための、摂食嚥下リハビリテーションや嚥下食開発に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：TRPA1s were predominantly expressed on thin nerve fibres and fibroblast-like cells in the SLN-innervated regions and on small to medium-sized SLN-afferents in the NPJc. Topical application of a chemical agonist for TRPA1, allyl isothiocyanate (AITC), in the regions triggered swallowing reflexes which were significantly attenuated by prior application of a TRPA1 antagonist. The topical application of cold AITC (4°C) very briefly reduced the on-site temperature to <17°C (temperature at which TRPA1s can be activated) but failed to augment the AITC-induced reflexes. TRPA1s function as chemosensors, but not as cold sensors or mechanosensors, to trigger the swallowing reflex. Brief application of a cold stimulus in the regions exerts no effect on triggering the reflex because of the rapid recovery of on-site temperature. Conversely, prolonged application of a cold stimulus delays/prevents triggering of the reflex because of the development of cold anaesthesia.

研究分野：機能系歯科学

キーワード：嚥下 TRPチャネル 喉頭 咽頭 上喉頭神経 TRPA1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19(共通)

1. 研究開始当初の背景

現在日本において高齢者の増加に伴い、嚥下機能の低下から誤嚥性肺炎による死亡が増加している。「嚥下の誘発」に重要な感覚要素は、飲食物を飲み込む時の咽頭・喉頭領域の感覚である。申請者の所属する研究グループは、これまでに嚥下誘発機序を精力的に解明してきた。嚥下反射の促進に重要な咽頭・喉頭領域の部位を機械刺激や酸刺激により明らかにした。(Takahashi et al. Neuroscience Lett, 2014; Mostafeezur et al. PLoS One, 2012; Takatsuji et al. Dysphagia, 2012)。

また、咽頭・喉頭領域の味覚応答は、舌領域とは異なる生理学的特徴をもっている。これまで私達の研究グループは、咽頭・喉頭領域は、4基本味に対する応答性はあまりよくないが、蒸留水(図2)やアルコールに高い興奮性を示すことを報告した。また、咽頭・喉頭領域でうま味や脂肪酸が受容されていることも報告した (Kitagawa et al. Nihon Yakurigaku Zasshi, 2015; 高辻他, JOHNS, 2013; Kitagawa et al. Neuroscience Lett, 2007)。

近年、Transient receptor potential (TRP)チャンネル・ファミリーの機能が次々に調べられ、TRPチャンネルのいくつかのものは、温度や飲食物に含まれる物質などで活性化されることが明らかにされた。嚥下障害患者へ与えたカプサイシンやメントールが嚥下を改善することが報告されている。しかし、患者には TRP チャンネル阻害剤などの試薬が使用できないため、その神経メカニズムは明らかになっていなかった。

私達の研究グループは、ラットをモデル動物に用いて、咽頭・喉頭の感覚を支配する上喉頭神経に発現する TRPV1(カプサイシンに応答)と、TRPM8(メントールに応答)を介して嚥下が促進されることを報告した(Hossain et al, Int J Mol Sci, 2018)。しかし、カプサイシンは嚥下の促進作用は強いが、口腔内に炎症を起し、連続した使用は困難であるため、広く嚥下促進物質の探索が必要である。TRP チャンネル・ファミリーには、TRPV1 と TRPM8 以外にも数多くのチャンネルがあり、嚥下誘発への関与の有無は明らかにされていない。

従って、本研究で、1)咽頭・喉頭の感覚を支配する上喉頭神経にどの TRP チャンネルが発現しているのか、2)この TRP チャンネルを介した感覚は、嚥下を促進することができるのかを明らかにできれば、嚥下を誘発する感覚モダリティーの解明につながり、嚥下機能の低下から生じる誤嚥の改善に貢献できると考えられる。

2. 研究の目的

嚥下の誘発には、飲食物を飲み込むときの、咽頭・喉頭領域の感覚情報が重要である。本研究では、次の2点を明らかにする。

1)咽頭・喉頭の感覚を支配する神経における TRP チャンネルの発現

咽頭・喉頭領域を支配している上喉頭神経の感覚神経における TRP チャンネルの分布を免疫組織学的方法により調べる。

2)TRP チャンネルの嚥下誘発への関与

TRP チャンネルの作動薬を投与した時の誘発嚥下が TRP チャンネル阻害剤により変調されるかを検討することで、嚥下に関与する感覚モダリティーとその受容器となる TRP チャンネルを解明する。

3. 研究の方法

(1) 免疫組織学的実験

実験動物はラットを用いる。低温やワサビ等で活性化される TRPA1 咽頭・喉頭粘膜における発現分布について調べた。さらに、咽頭・喉頭領域の感覚を支配する上喉頭神経の細胞体が含まれる神経節において TRPA1 チャンネルの発現を調べた。近隣の領域を支配する舌咽神経等を切断した後、咽頭・喉頭粘膜に逆行性トレーサーであるフルオロゴールドを注入した。これにより上喉頭神経の感覚神経の細胞体を神経節で特定して、TRP チャンネルの発現を観察できる。免疫組織化学は、これまでに申請者の研究グループにより報告された方法 (Hossain et al, Int J Mol Sci, 2018) を用いた。

(2) 電気生理学的実験

TRPA1 チャンネルの作動薬の効果

咽頭・喉頭領域に TRPA1 の作動薬 (AITC:ワサビの成分)、あるいは生理食塩水を室温や冷却して投与した。顎舌骨筋より筋電図を記録すると同時に、肉眼で嚥下を確認し、一定時間内の嚥下回数を調べることで、嚥下の誘発効果を調べた。

TRPA1 チャンネルの阻害薬の効果

咽頭・喉頭領域への TRPA の阻害薬をあらかじめ投与し、TRPA1 の作動薬 (AITC)、生理食塩水を室温あるいは冷却して投与した。嚥下の誘発効果の変調を観察した。電気生理学的方法は、これまでに申請者の研究グループにより報告された方法 (Hossain et al, Int J Mol Sci, 2018) を用いた。

4. 研究成果

(1) TRPA1 チャンネルの咽頭・喉頭領域をはいする感覚神経における発現

ワサビやからしに含まれるアリル・イソチオシアネート (AITC) に応答する TRPA1

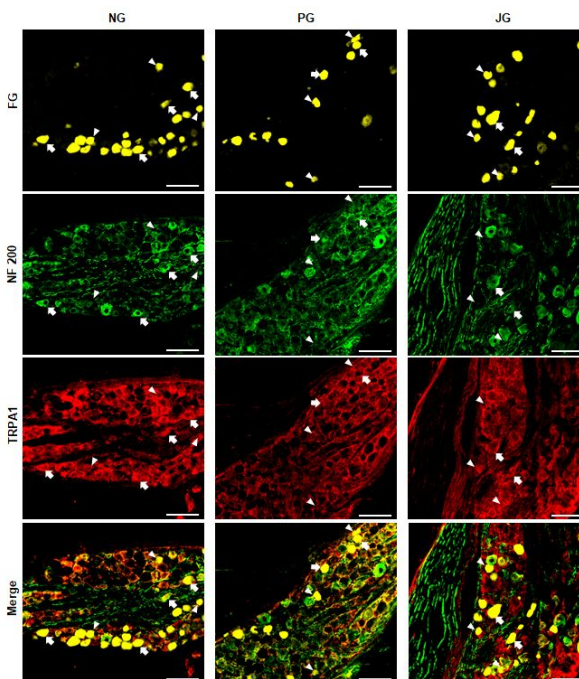


図1 上喉頭神経NPJcにおけるTRPA1免疫陽性細胞
上喉頭神経の感覚神経の細胞体が含まれる神経節はnodose ganglion (NG), petrosal ganglion (PG)およびjugular ganglion (JG)の複合体を形成する。上喉頭神経の感覚神経の細胞体を逆行性トレーサーFGで染色し、有髄神経のマーカーNF200とTRPA1との共存を調べた。白矢印は有髄神経、白矢頭は無髄神経を示す。バーは100 μm。

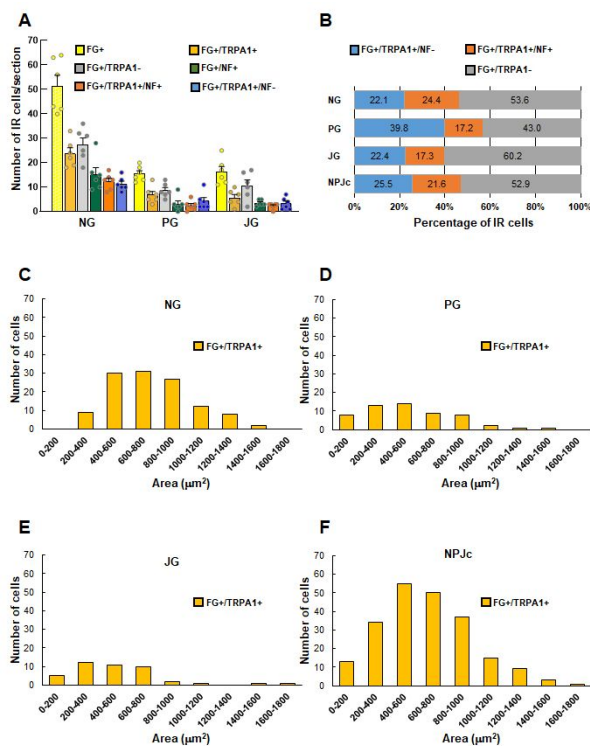


図2 TRPA1免疫陽性細胞体のNPJcにおける分布
A) NG, PG, JGの有髄神経、無髄神経におけるTRPA1免疫陽性の細胞体の数。B) NG, PG, JGの有髄神経、無髄神経におけるTRPA1免疫陽性の細胞体の割合。C) NG, D) PG, E) JG, F) NPJcにおけるTRPA1免疫陽性細胞の細胞体の大きさの分布
FGで染色された上喉頭神経の感覚神経の細胞体の約半数がTRPA1免疫陽性細胞であり、有髄神経と無髄神経いずれにも免疫陽性反応が観察された。TRPA1免疫陽性の細胞体の大きさの割合は、小型(0-600 μm)が49.1%、中型(600-1200μm)が45.3%であり、小型～中型が多数を占めた。

が、咽頭・喉頭領域を支配する上喉頭神経の感覚神経に発現していることを明らかにした(図1)。上喉頭神経における TRPA1 免疫陽性反応は、中程度から小型の細胞体をもつ感覚神経に観察され、これには有髄と無髄の両神経が含まれた。(図2)

(2) TRPA1 チャンネルの嚥下誘発機能への関与

咽頭・喉頭領域への TRPA1 チャンネルのアゴニストである AITC(ワサビの成分)による化学刺激が嚥下誘発を亢進し、TRPA1 アンタゴニストは、この嚥下促進効果を減弱した。TRPA1 受容体は 17 以下の冷刺激で活性化すると考えられているが、17 以下の生理食塩水刺激による嚥下の誘発効果は観察できなかった。また、咽頭・喉頭領域への低温と室温の AITC 溶液による嚥下誘発効果に優位な差はなかった。また、咽頭・喉頭領域への機械刺激は嚥下誘発を促進するが、この促進効果は、TRPA1 アンタゴニストにより減弱されなかった。

考察と今後の展望

これまで、TRPA1 は、ワサビなどの成分アリルイソチオシアネート(AITC)や 17 以下の低温を受容すること、機械刺激にも応答することが報告されていた。

咽頭・喉頭領域へ投与した AITC による化学刺激により、嚥下の誘発が促進されたが、低温刺激では嚥下の誘発効果は観察されなかった。機械刺激は嚥下を誘発するが、TRPA1 のアンタゴニストはこれを減弱しなかった。

以上の結果から、食べ物や飲み物を嚥下するとき、上喉頭神経に発現している TRPA1 チャンネルを介して、咽頭・喉頭領域における化学感覚の一部が受容されていることが示唆された。今後は、別の TRP チャンネルや、機械受容器である Piezo チャンネルの上喉頭神経における発現と嚥下誘発への関与を調べる予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hossain Mohammad Zakir, Ando Hiroshi, Unno Shumpei, Kitagawa Junichi	4. 巻 21
2. 論文標題 Targeting Peripherally Restricted Cannabinoid Receptor 1, Cannabinoid Receptor 2, and Endocannabinoid-Degrading Enzymes for the Treatment of Neuropathic Pain Including Neuropathic Orofacial Pain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1423 ~ 1423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21041423	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hossain Mohammad Zakir, Ando Hiroshi, Unno Shumpei, Kitagawa Junichi	4. 巻 21
2. 論文標題 Targeting Chemosensory Ion Channels in Peripheral Swallowing-Related Regions for the Management of Oropharyngeal Dysphagia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6214 ~ 6214
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21176214	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hossain Mohammad Zakir, Ando Hiroshi, Unno Shumpei, Nakamoto Tetsuji, Kitagawa Junichi	4. 巻 32
2. 論文標題 Functional involvement of acid sensing ion channel 3 in the swallowing reflex in rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurogastroenterology & Motility	6. 最初と最後の頁 e13728
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/nmo.13728	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hossain Mohammad, Bakri Marina, Yahya Farhana, Ando Hiroshi, Unno Shumpei, Kitagawa Junichi	4. 巻 20
2. 論文標題 The Role of Transient Receptor Potential (TRP) Channels in the Transduction of Dental Pain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 526 ~ 526
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20030526	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hossain Mohammad Zakir, Ando Hiroshi, Unno Shumpei, Kitagawa Junichi	4. 巻 12
2. 論文標題 TRPA1s act as chemosensors but not as cold sensors or mechanosensors to trigger the swallowing reflex in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3431
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-07400-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Ando H, Hossain MZ, Unno S and Kitagawa J
2. 発表標題 Involvement of TRP and Piezo channels expressed on the superior laryngeal nerve afferents in swallowing reflex
3. 学会等名 The 18th International symposium on Olfaction and Taste (Virtual meeting) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安藤宏, Mohammad Zakir Hossain, 海野俊平, 増田裕次, 北川純一
2. 発表標題 上喉頭神経に発現しているTRP、ASICおよびPiezoチャネルと嚥下誘発
3. 学会等名 日本味と匂学会第53回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mohammad Zakir Hossain, 安藤宏, 海野俊平, 増田裕次, 北川純一
2. 発表標題 咽頭・喉頭領域に発現している様々なイオンチャネルと嚥下反射の関連
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤宏, Mohammad Zakir Hossain, 海野俊平, 増田裕次, 北川純一
2. 発表標題 喉頭・領域を支配する上喉頭神経におけるTRP, ASIC およびPiezo チャネルの発現
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mohammad Zakir Hossain, Hiroshi Ando, Shumpei Unno, and Junichi Kitagawa
2. 発表標題 Acid-sensing ion channels 3 (ASIC3s) in the larynx and associated laryngopharyngeal region is functional to induce the swallowing reflex
3. 学会等名 第13回三叉神経領域の感覚-運動統合機構研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hossain MZ, Ando H, Unno S, Kitagawa J
2. 発表標題 The role of transient receptor potential ankyrin 1 channels (TRPA1s) in triggering the swallowing reflex in rats
3. 学会等名 11th European Society for Swallowing Disorders Congress (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤宏, Hossain MZ, 海野俊平, 北川純一
2. 発表標題 上喉頭神経に発現しているTRPA1チャネルと化学刺激により誘発される嚥下反射
3. 学会等名 日本味と匂学会第55回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	Hossain M. Zakir (Hossain M. Zakir) (40792445)	松本歯科大学・歯学部・講師 (33602)	
研究 分担者	北川 純一 (Kitagawa Junichi) (50373006)	松本歯科大学・歯学部・教授 (33602)	
研究 分担者	海野 俊平 (Unno Shunpei) (80418920)	松本歯科大学・歯学部・講師 (33602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------