

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10201

研究課題名(和文)嚥下障害モデル動物を用いた摂食嚥下障害の病態解明

研究課題名(英文)Researching for a dysphagia using pathological animal model

研究代表者

白石 成 (Shiraishi, Naru)

東北大学・歯学研究科・助教

研究者番号：60585355

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：無麻酔無拘束下の(自由行動が可能な)ラットから、咀嚼(噛む運動)や嚥下(飲み込み)に関与する筋からの筋活動記録に成功した。筋活動記録から嚥下のタイミングを同定することが可能であった。作成したモデルを利用して解析を行い、咀嚼に関するパラメータにラットの個体差は認められないが、嚥下に関するパラメータ(甲状腺舌骨筋活動)には差を認めることが示唆された。顎顔面領域の栄養動脈である外頸動脈の結紮(血管の閉鎖による栄養の遮断)の影響は、筋電図学的に(筋肉の活動的に)短期間では認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

咀嚼はCPG(セントラルパターンジェネレータ)や口腔からの感覚刺激によって制御されており、咀嚼が開始されてしまえばリズムカルな運動となることが知られており、自由行動下のラットにおいても確認された。また、嚥下運動については、食塊量や口腔内環境による影響を受けやすいことが推測された。咀嚼から嚥下に至る一連の摂食嚥下の過程を、自由行動下のラットで筋電図学的に記録、解析できるようになった意義は大きい。このラットモデルを使用することにより、摂食嚥下障害の原因となりうる病態を再現することで、その過程を詳細に把握でき、効果的なりハビリの開発に有効であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in recording the muscle activities involved in mastication and swallowing from an unrestrained rat. It was possible to identify the timing of swallowing from the muscle activity record and its sound. Analysis was performed using the created model, and although there were no individual differences in the parameter for mastication, it was suggested that there was a difference in the swallowing parameters (ex thyrohyoid muscle activity). The effect of ligation of the external carotid artery, which is the feeding artery in the maxillofacial region, was not observed electromyographically in a short period after ligation.

研究分野：補綴歯科

キーワード：摂食嚥下 咀嚼 脳血管障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

摂食嚥下運動は単なるリズムカルな運動ではなく、「食べる」ことに関わる複雑な統合機能である。神経損傷や実質欠損に伴う機能障害を覚醒下の動物で評価した研究によれば、外側中心前皮質を両側性に破壊すると食塊の口腔内移送が障害される (Larson et al, 1980) , 同部位の一過性の障害は咀嚼行動のパターン変化や時間の延長をもたらす、嚥下運動のパターンをも変化させるものの基本的な摂食機能は代償性に維持する (Narita et al, 1999; Narita et al, 2002) , 大脳皮質咀嚼野を両側性に破壊すると自ら摂取行動は開始せず、咀嚼時間は延びるものの咀嚼運動パターンに変化はない (Enomoto et al, 1987; Inoue et al, 1989) などの報告がある。これらは脳血管疾患患者において「口腔内への取り込みがうまくできない」「咀嚼はできるが嚥下ができない」などの臨床症状に類似した所見であり、大脳皮質や皮質下領域における障害をもたらす摂食嚥下障害の病態を説明する根拠の一部を与えているがその情報量は限られている。一方、末梢神経障害など中枢神経障害以外のモデル動物を用いて摂食運動を評価した報告例は少なく、反回神経損傷における感覚・運動の変調を急性期で調べたものが散見されるのみである (Gould et al, 2017; Ding et al, 2015; Ding et al, 2013) . 大脳皮質運動野損傷後の治癒過程において神経回路の再構築に脳由来神経栄養因子 (BDNF) の関与が必要であること (Ueno et al, 2012) , リハビリテーションによりその増強効果が認められること (Mojtahedi et al, 2013; O'Callaghan et al, 2007; Rasmussen et al, 2009) などが報告されている。さらに、食形態の違いによってもたらされた咀嚼刺激の差によって、海馬における BDNF 発現量に変化が生じ、海馬依存的な認知機能や学習機能に影響を与えることが報告され (Fukushima-Nakayama et al, JDR 2017: 96(9): 1058-1066) , 末梢神経や三叉神経感覚の中枢神経系への感覚入力、脳の神経可塑性に影響をもたらすことが示唆されているものの、摂食嚥下リハビリテーション効果についてはいまだ明らかではなく、摂食嚥下障害に対する口腔機能を駆使したリハビリテーションのエビデンス構築については、覚醒動物モデルを含めた基礎研究の推進が期待されている。

2. 研究の目的

脳血管疾患や末梢神経・血管損傷モデル動物を対象として、無麻酔無拘束下における摂食運動時の神経筋活動の記録を通して、疾患をもたらす摂食嚥下運動への影響やその後の機能回復をもたらす機序を神経生理学的に明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 無麻酔無拘束動物の作成ならびにプロトコルの決定

咬筋、舌骨上筋、舌骨下筋群筋電図記録のための電極を挿入固定する。各筋電図の1咀嚼サイクル (Chewing cycle, CC) 時間、CC 当たりの各筋活動積分値、活動時間、活動のタイミングに関するデータを得る。これらをコントロールデータとする。これとは別に、体重計測、身体機能テストとして Limb movement test を実施する。

(2) 末梢血管障害モデルの作成

末梢血管障害のターゲットとして、外頸動脈結紮 (External carotid artery ligation, ECAL) モデルを作成する。

(3) 脳血管障害モデルの作成

脳血管障害のターゲットとして、中大脳動脈塞栓 (Middle cerebral artery occlusion, MCAO) モデルを作成する。

4. 研究成果

(1) 無麻酔無拘束動物の作成ならびにプロトコルの決定

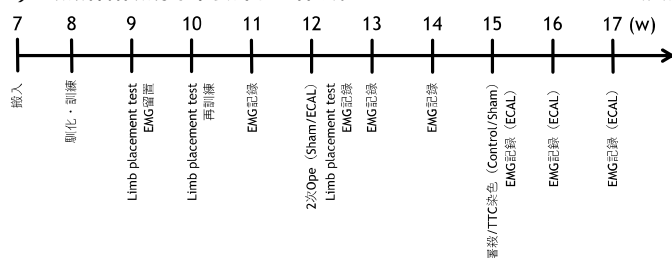


図1. 実験プロトコル

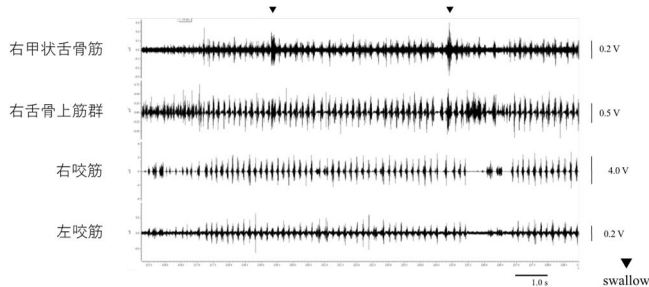


図2 . コントロール動物の摂食嚥下時の筋活動の一例

図1の実験プロトコールに従い、ターゲットとする甲状舌骨筋、舌骨上筋群、咬筋に双極電極を挿入、固定した。回復後に、無麻酔無拘束下において、全ての筋から筋電図が記録できることを確認した。図2に固形飼料を摂取時の筋電図を一例として記す。上段から甲状舌骨筋、舌骨上筋群、両側咬筋となり、リズムカルな咀嚼運動が記録されている。また、嚥下のタイミング()は甲状舌骨筋波形ならびに嚥下音から同定される。

筋電図の評価パラメータとして、下記項目を検討した。

- 1 . Chewing duration (s) : 咀嚼開始からの嚥下開始までの時間
- 2 . N of chewing cycles (N) : 咀嚼回数
- 3 . Cycle time (s/N) : 咀嚼のサイクル時間
- 4 . EMG duration during swallowing : Thy , Dig の嚥下中の筋活動量
- 5 . Time intervals of swallowing-related muscle activities
- 6 . Coefficient of variance (CV) : Time interval の CV 値 (SD/mean) 比較

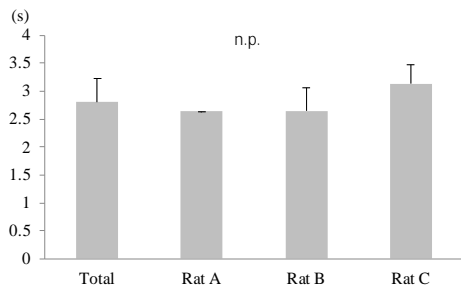


図3 . Chewing duration (s)

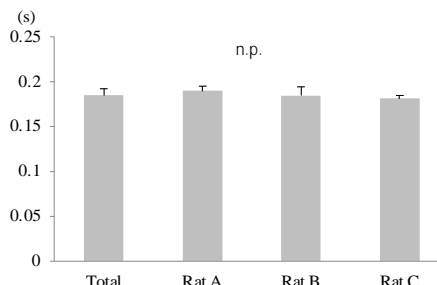


図4 . N of chewing cycles (N)

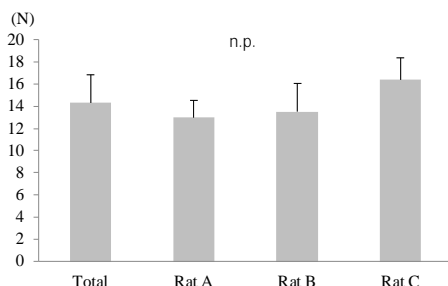


図5 . Cycle time (s/N)

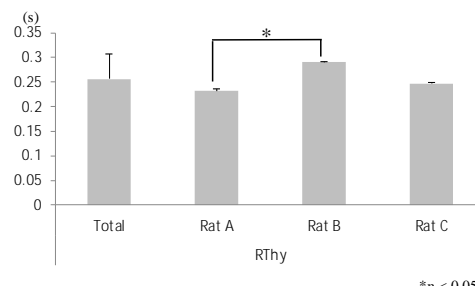


図6 . EMG duration during swallowing : Thy

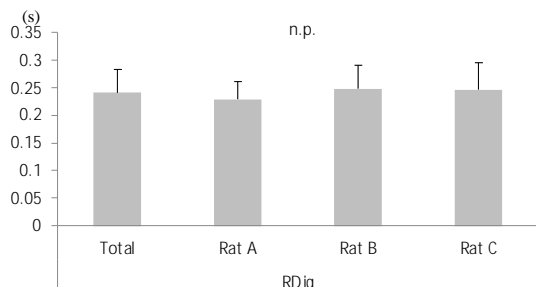


図7 . EMG duration during swallowing : Dig

咀嚼開始から嚥下開始までの時間に有意差は認められなかった(図3)。咀嚼開始から嚥下開始までの咀嚼回数に有意差は認められなかった(図4)。咀嚼のサイクル時間に有意差は認められなかった(図5)。嚥下中の甲状舌骨筋筋活動時間に有意差を認めた(図6)。嚥下中の顎二腹筋筋活動時間に差を認めなかった(図7)。

以上の結果から、嚥下までの咀嚼に関連するパラメータは個体間の差は小さいが、嚥下に関連するパラメータでは甲状舌骨筋の筋活動時間に差を認めることは判明した。また、嚥下前後における筋活動の間隔にはバラツキがあると推測された。

(2) 末梢血管障害モデルの作成

末梢血管障害のターゲットとして、外頸動脈結紮 (External carotid artery ligation, ECAL) モデルを作成する。外頸動脈は、顔面動脈、舌動脈、顎動脈などに分枝しており、頭頸部領域の主要な栄養動脈である。左側外頸動脈を結紮することにより遮断し、顎顔面領域への影響を調べた。

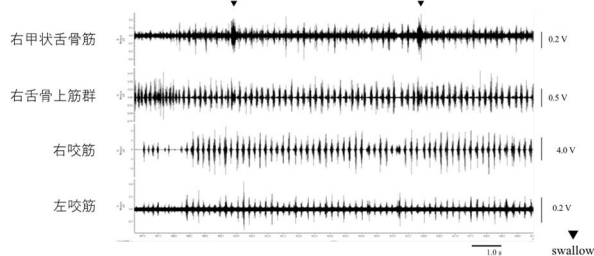


図 8 . ECAL 後のラットの摂食嚥下時の筋活動の一例

図 2 ならびに図 8 に示すように、ECAL 前後で得られた筋電図波形を解析し、ECAL の影響を比較検討した。結紮前 (Baseline), 結紮 3 日後 (ECAL_D3), 結紮 5 日後 (ECAL_D5) とした。

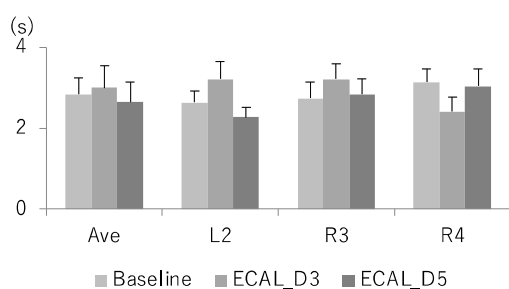


図 9 . Chewing duration

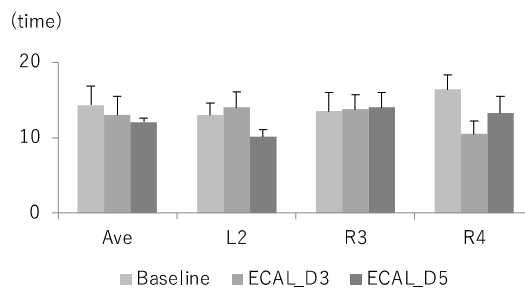


図 10 . Number of chewing cycles

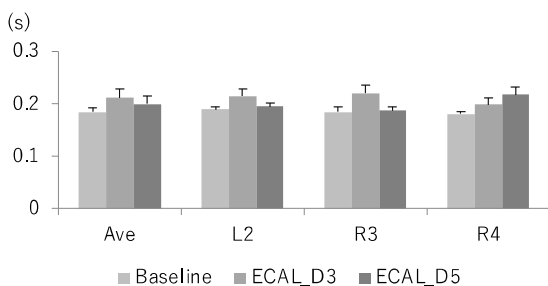


図 11 . Cycle time

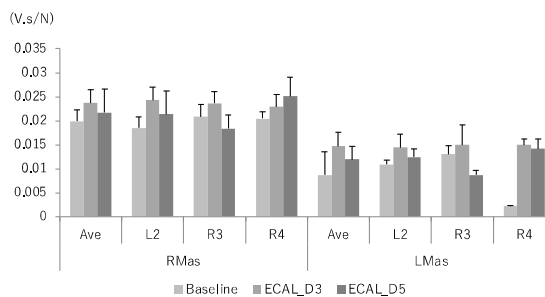


図 12 . EMG activity / cycle (V.s/N)

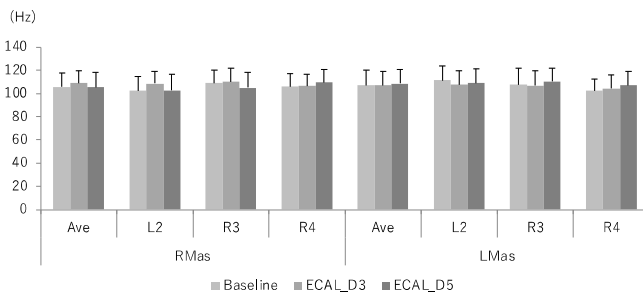


図 13 . SD Power Frequency (Hz)

外頸動脈結紮前後で咀嚼時間に有意差は認められなかった (図 9)。外頸動脈結紮前後で咀嚼回数に有意差は認められなかった (図 10)。外頸動脈結紮前後で咀嚼のサイクル時間に有意差は認められなかった (図 11)。外頸動脈結紮前後の筋活動量に有意差を認めなかった (図 12)。周波数解析により、外頸動脈結紮前後で変化を認めなかった (図 13)。

以上から、外頸動脈結紮による顎顔面領域への影響は、短期間 (発症 5 日間) では認められな
いと考えられた。また、周波数解析により、咀嚼運動における筋疲労の所見は認められなかった。

(3) 脳血管障害モデルの作成

脳血管障害のターゲットとして、中大脳動脈塞栓 (Middle cerebral artery occlusion, MCAO) モデルの作成については、安定確保するには至らなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tsujiura Takanori, Ueha Rumi, Yoshihara Midori, Takei Eri, Nagoya Kouta, Shiraishi Naru, Magara Jin, Inoue Makoto	4. 巻 597
2. 論文標題 Involvement of the epithelial sodium channel in initiation of mechanically evoked swallows in anaesthetized rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 2949 ~ 2963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP277895	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshihara Midori, Tsujimura Takanori, Suzuki Taku, Nagoya Kouta, Shiraishi Naru, Magara Jin, Terunuma Miho, Inoue Makoto	4. 巻 319
2. 論文標題 Sustained laryngeal transient receptor potential vanilloid 1 activation inhibits mechanically induced swallowing in anesthetized rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G412 ~ G419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00082.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	井上 誠 (Inoue Makoto) (00303131)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究分担者	辻村 恭憲 (Tsujiura Takanori) (00548935)	新潟大学・医歯学系・准教授 (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	那小屋 公太 (Nagoya Kouta) (10806491)	新潟大学・医歯学総合病院・助教 (13101)	
研究分担者	佐々木 啓一 (Sasaki Keiichi) (30178644)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	

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