

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06409

研究課題名(和文)食道横紋筋運動の物理的・化学的因子による調節機構の解明

研究課題名(英文)Regulatory mechanisms of esophageal striated muscle motility by physical or chemical factors

研究代表者

椎名 貴彦 (Shiina, Takahiko)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：90362178

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)：本研究の目的は、蠕動運動の基盤となる食道横紋筋の弛緩(収縮の抑制)あるいは収縮反応に対する調節機構を解明することである。食物由来の物理的・化学的因子として、温度、浸透圧、pH、伸展(食物の量)などが食道横紋筋運動の制御機構に影響するかどうかを検討した。その結果、食道横紋筋の反応が物理的・化学的因子の変化に応じて増強または抑制することを明らかにした。また、食道壁への伸展刺激を起点とした、迷走神経-中枢神経系による食道蠕動運動の制御機構の一端を解明した。得られた成果は、食道横紋筋運動における中枢性および末梢性制御機構を解明する上で重要な知見といえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ほ乳類の食道筋層は、口に近い部分が横紋筋で胃に近い部分が平滑筋で構成されているか、もしくは全長に渡って横紋筋で構成されている。これは、小腸や大腸とは異なった、食道に独特の特徴である。食道横紋筋の機能を解明することで、食道梗塞や巨大食道症といった食道特有の運動疾患の解決に向けて有効な情報を得られると考えられる。本研究をさらに発展させることで、例えば、食物の温度を適度に調節する、あるいは温度感覚に影響する食物成分を活用することで適切な嚥下運動を実現することが可能となるかもしれない。すなわち、薬物や手術などによらない新たな嚥下障害の治療法の開発に結びつくことが十分に期待できるといえる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to clarify regulatory mechanism on esophageal striated muscle motility in mammals. I investigated whether physical or chemical factors such as temperature, osmotic pressure, pH and extension can affect esophageal striated muscle motility. My experiments demonstrated that mechanical activity of esophageal striated muscle was enhanced or attenuated by applications of these physical or chemical factors. In addition, I clarified vagus-central nervous system-mediated motor regulation of esophageal striated muscle. These findings provide novel insights into the regulatory mechanisms of esophageal striated muscle motility.

研究分野：病態生理学

キーワード：食道 横紋筋 蠕動運動 温度 pH 伸展 迷走神経

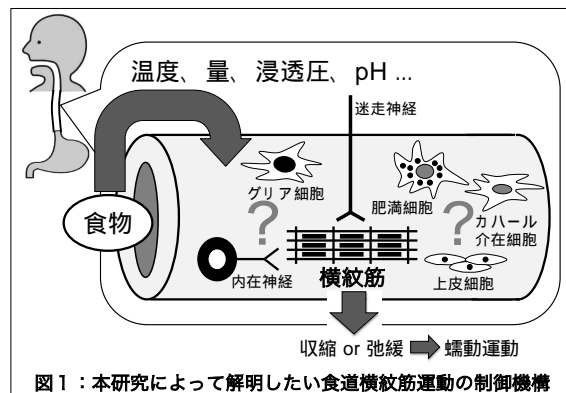
## 1. 研究開始当初の背景

ほ乳類の食道筋層は、口に近い部分が横紋筋で胃に近い部分が平滑筋で構成されているか、もしくは全長に渡って横紋筋で構成されている。これは、小腸や大腸といった他の消化管の筋層が平滑筋で構成されているのとは異なった、食道に独特の特徴である。食道横紋筋の機能を解明することで、食道梗塞や巨大食道症といった食道特有の運動疾患の解決に向けて有効な情報を得られると考えられる。

食道横紋筋は「骨格筋」とみなされており、専門書や学术论文でもそのように記載されている。実際、運動制御に関わると思われる因子は骨格筋と共通あるいは類似している。骨格筋が中枢由来の運動神経によって支配されているように、食道横紋筋は延髄に由来する迷走運動神経によって支配されている。ニコチン性受容体を介してアセチルコリンによって収縮する点も、食道横紋筋は骨格筋と共通している。一方、食道は摂取した食物を胃まで運搬する役割を持つことから、食道横紋筋も小腸や大腸の平滑筋と同様に蠕動運動を担っている。蠕動運動は、筋の収縮のみならず、適切な弛緩も必要とすることから、中枢由来の運動神経による収縮だけでは食道横紋筋の運動制御を十分には説明できない。応募者はこれまで、食道横紋筋の収縮を抑制する局所神経回路が存在すること、この神経回路の一部を破壊すると、食道横紋筋による蠕動運動が不調になることを明らかにしてきた。このことは、食道横紋筋の運動制御における「弛緩(収縮の抑制)」の重要性を示唆するものである。そのため、食道横紋筋の制御を真に理解するためには、「収縮」とともに「弛緩(収縮の抑制)」する制御機構の解明は重要であり、既知の機構以外についてさらに探索する必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、蠕動運動の基盤となる食道横紋筋の弛緩(収縮の抑制)あるいは収縮反応に対する調節機構を解明することである。具体的には、食道内腔の食物に由来する物理的あるいは化学的因子(温度、食物の量、浸透圧、pHなど)により、食道横紋筋がいかに関節を調節されるかを明らかにすることを目指した(図1)。



## 3. 研究の方法

### (1) 実験動物

実験には、食道筋層が全て横紋筋で構成されているラット (**Sprague-Dawley** 系または **Wistar** 系、雄、**8~12** 週齢)、スunks (**Jic:SUN-Her** 系、雌雄、**10~30** 週齢)を用いた。飼育室の温度は **22±2** °C に調節し、明暗周期 **12** 時間：**12** 時間 (明期 **7:00~19:00**) の環境で飼育した。飼育期間中は水道水と固形飼料を自由に摂取させた。本研究における動物実験はすべて、岐阜大学動物実験委員会で審査を受けた後に許可されたものであり、岐阜大学動物実験取扱規程に従って実施した (実験承認番号：**2019-239**、**2019-246**、**2020-240**、**2020-252**、**2021-241**、**2021-255**)。

## (2) 摘出食道標本を用いた *in vitro* 実験系

末梢での制御の解明のため、摘出食道標本による *in vitro* 試験を実施した。ラットから食道を摘出して、オルガンバスにセットし、*in vitro* で食道運動を記録した(図2)。迷走神経あるいは横紋筋そのものを電気刺激することによって生じる食道横紋筋の収縮反応を解析した。

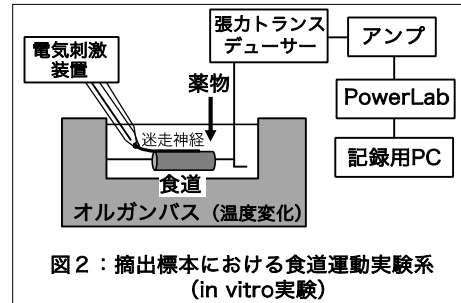


図2：摘出標本における食道運動実験系 (*in vitro*実験)

## (3) *In vivo* 実験系による食道横紋筋運動の評価

食道運動の中枢性制御機構を解明するため、中枢を含む丸ごと動物を用いた *in vivo* 実験系を用いた実験を行った(図3)。ウレタンで麻酔したラットの食道内腔にバルーンを設置し、バルーンの移動速度や移動距離、バルーン内圧の変化を指標にして、*in vivo* で食道蠕動運動を評価した。

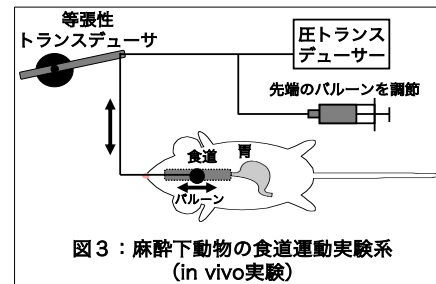


図3：麻酔下動物の食道運動実験系 (*in vivo*実験)

## 4. 研究成果

### (1) 温度変化が食道横紋筋運動に与える影響

食道横紋筋運動に対する温度変化の影響を調べた。動物から食道を摘出してオルガンバスにセットし、*in vitro* 実験系を用いて食道運動を記録、解析した。オルガンバスの温度を変化させて食道運動を評価した。迷走神経を電気刺激し、単収縮様の反応を引き起こした。まず、オルガンバスの温度を体温付近の  $35^{\circ}\text{C}$  にセットし、食道筋の収縮反応を記録した。温度条件を  $35^{\circ}\text{C}$  から  $30^{\circ}\text{C}$  に低下させたところ、食道筋の収縮反応は増強した(図4)。再び  $35^{\circ}\text{C}$  戻したところ、収縮反応は減弱した。

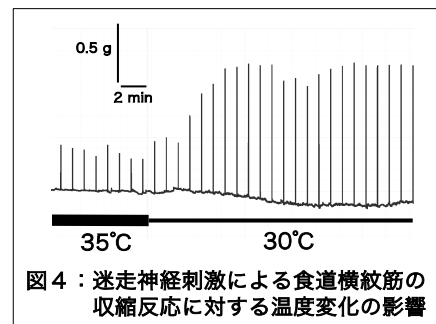


図4：迷走神経刺激による食道横紋筋の収縮反応に対する温度変化の影響

また、この変化に温度感受性イオンチャンネルとして知られている **TRP** ファミリーが関与しているかどうかを検討した。高温に反応する **TRP** チャンネルの活性化薬を投与すると、食道運動は減弱した。一方、低温に反応する **TRP** チャンネルの活性化薬を投与した場合は、食道運動に顕著な変化は認められなかった。

### (2) pH 変化が食道横紋筋運動に与える影響

pH の変化が食道横紋筋運動に与える影響を検討した。*in vitro* 実験系を用いて食道運動を記録、解析した。オルガンバス内栄養液の pH を変化させて食道運動を評価した。迷走神経を電気刺激し、単収縮様の反応を引き起こした。オルガンバス内栄養液の pH を  $7.4$  から  $6.0$ 、 $4.0$  へと低下させたところ、食道筋の収縮反応は減弱した(図5)。

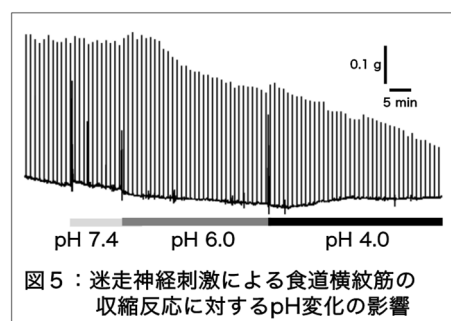


図5：迷走神経刺激による食道横紋筋の収縮反応に対するpH変化の影響

### (3) 食道壁に対する伸展刺激が食道横紋筋運動に与える影響

*In vivo* 実験系を用いて検討した。食道内腔にバルーンを設置し、物理的的刺激として伸展刺激を加えると同時に、バルーンに付加される圧変化を記録した。食道内腔のバルーンによって食道壁に伸展刺激を付加したところ、食道横紋筋の収縮反応が誘発された。この食道横

紋筋の収縮反応は迷走神経を切除することで消失した。また、迷走神経を電気刺激した場合も食道横紋筋は収縮した。これらの結果から、食道壁への伸展刺激は、迷走神経を活性化し、中枢神経系を介して食道蠕動運動を誘発することが示唆された。

以上、3年間の研究期間全体を通じて、食物由来の物理的・化学的因子として、温度、浸透圧、**pH**、伸展（食物の量）などが食道横紋筋運動の制御機構に影響するかどうかを検討した。その結果、食道横紋筋の反応が物理的・化学的因子の変化に応じて増強または抑制することを明らかにした。また、食道壁への伸展刺激を起点とした、迷走神経-中枢神経系による食道蠕動運動の制御機構の一端を解明した。得られた成果は、食道横紋筋運動における中枢性および末梢性制御機構を解明する上で重要な知見といえる。

本研究をさらに発展させ、食物由来の物理的・化学的因子が食道横紋筋運動に与える影響とその機構を詳細に解明することで、例えば、食物の温度を適度に調節する、あるいは温度感覚に影響する食物成分を活用することで、適切な嚥下運動を実現することが可能となるかもしれない。すなわち、高齢者の嚥下障害に対して、薬物や手術などによらない新たな治療法の開発に結びつくことが十分に期待できるといえる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8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 Shiina Takahiko, Shimizu Yasutake	4. 巻 21
2. 論文標題 Temperature-Dependent Alternative Splicing of Precursor mRNAs and Its Biological Significance: A Review Focused on Post-Transcriptional Regulation of a Cold Shock Protein Gene in Hibernating Mammals	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7599 ~ 7599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21207599	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 Ueda Hiromi H., Naitou Kiyotada, Nakamori Hiroyuki, Horii Kazuhiro, Shiina Takahiko, Masatani Tatsunori, Shiraishi Mitsuya, Shimizu Yasutake	4. 巻 11
2. 論文標題 -MSH-induced activation of spinal MC1R but not MC4R enhances colorectal motility in anaesthetised rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-80020-x	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 Horii Kazuhiro, Ehara Yuka, Shiina Takahiko, Naitou Kiyotada, Nakamori Hiroyuki, Horii Yuuki, Shimaoka Hiroki, Saito Shouichiro, Shimizu Yasutake	4. 巻 599
2. 論文標題 Sexually dimorphic response of colorectal motility to noxious stimuli in the colorectum in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1421 ~ 1437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP279942	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 Shimaoka Hiroki, Shiina Takahiko, Suzuki Hayato, Horii Yuuki, Horii Kazuhiro, Shimizu Yasutake	4. 巻 71
2. 論文標題 Successful induction of deep hypothermia by isoflurane anesthesia and cooling in a non-hibernator, the rat	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-021-00794-1	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 HORII Yuuki, OKADERA Kanako, MIYAWAKI Shingo, SHIINA Takahiko, SHIMIZU Yasutake	4. 巻 43
2. 論文標題 Suncus murinus as a novel model animal that is suitable for elucidating the mechanism of daily torpor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 53 ~ 57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.43.53	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 Horii Kazuhiro, Sawamura Tomoya, Onishi Ayaka, Yuki Natsufu, Naitou Kiyotada, Shiina Takahiko, Shimizu Yasutake	4. 巻 323
2. 論文標題 Contribution of sex hormones to the sexually dimorphic response of colorectal motility to noxious stimuli in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G1 ~ G8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00033.2022	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 Naitou Kiyotada, Iwashita Honoka, Ueda Hiromi H., Shiraishi Mitsuya, Fujimoto Yoshikazu, Horii Kazuhiro, Sawamura Tomoya, Shiina Takahiko, Shimizu Yasutake	4. 巻 323
2. 論文標題 Intrathecally administered substance P activated the spinal defecation center and enhanced colorectal motility in anesthetized rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G21 ~ G30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00342.2021	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 Horii Kazuhiro, Sawamura Tomoya, Yuki Natsufu, Shiina Takahiko, Shimizu Yasutake	4. 巻 59
2. 論文標題 Sex differences in the central regulation of colorectal motility in response to noxious stimuli	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Smooth Muscle Research	6. 最初と最後の頁 28 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1540/jsmr.59.28	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11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川瀬里紗、堀井和広、椎名貴彦、志水泰武
2. 発表標題 食道横紋筋部における蠕動運動の迷走神経による制御機構：ラットを用いたin vivo実験系による解析
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川瀬里紗、堀井和広、椎名貴彦、志水泰武
2. 発表標題 ラットを用いた食道横紋筋部における蠕動運動制御機構の解明
3. 学会等名 第68回中部日本生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 椎名貴彦、堀井和広、澤村友哉、志水泰武
2. 発表標題 ATPによるラット食道運動の調節機構に対するカリウムチャネルの役割
3. 学会等名 第30回日本病態生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 椎名 貴彦、堀井 和広、澤村 友哉、志水 泰武
2. 発表標題 プリン作動性機構によるラット食道運動の制御におけるカリウムチャネルの役割
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 椎名貴彦、堀井和広、齋藤正一郎、尾之内佐和、志水泰武
2. 発表標題 ラット食道横紋筋運動の制御に対するATP感受性カリウムチャネルの関与
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 椎名貴彦、堀井和広、志水泰武
2. 発表標題 ラット食道横紋筋の運動制御におけるATP感受性カリウムチャネルの役割
3. 学会等名 第67回中部日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 椎名貴彦、堀井和広、志水泰武
2. 発表標題 ATPによるラット食道平滑筋弛緩反応におけるカリウムチャネルの役割
3. 学会等名 第62回日本平滑筋学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 椎名貴彦
2. 発表標題 横紋筋食道に存在する粘膜筋板平滑筋の役割（*若手の会シンポジウム『食道研究の基礎と臨床』演題）
3. 学会等名 第64回日本平滑筋学会総会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 椎名貴彦、志水泰武
2. 発表標題 ラットにおけるプリン作動性食道運動制御に対するカリウムチャネルの関与
3. 学会等名 第69回中部日本生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 椎名貴彦、志水泰武
2. 発表標題 ATPによるラット食道平滑筋の弛緩反応に対するカリウムチャネルの関与
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 椎名 貴彦、志水 泰武
2. 発表標題 炎症性腸疾患モデル動物の結腸における神経筋伝達機構の特性 (Characterization of neuromuscular transmissions in the colon of inflammatory bowel disease model animals) (*シンポジウム「腸内環境に起因する消化管・血管病態生理研究のフロンティア」演題)
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

岐阜大学獣医生理学研究室ウェブサイト  
<https://www.abios.gifu-u.ac.jp/education-member/vetpage/yshimizu/achievement.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------