

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K19414

研究課題名（和文）サルコペニア嚥下障害のメカニズム解明と筋萎縮予防薬の有効性の検討

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanisms of sarcopenia dysphagia and examination of the effectiveness of preventive drugs for muscular atrophy

研究代表者

勢井 洋史（Sei, Hirofumi）

愛媛大学・医学部附属病院・助教（病院教員）

研究者番号：40601034

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では嚥下関連筋の筋萎縮の病態解明を目的としてラット動物モデルで分子生物学的検討を行なった。成熟群及び加齢群ラット10匹ずつを用いてスーパーオキシドディスムターゼ（SOD-1）と血管内皮細胞増殖因子（VEGF）を下咽頭収縮筋で測定した（測定値：対象をコントロールで割った値）。分子生物学的検討の結果、SOD-1は成熟群で 0.41 ± 0.15 、加齢群で 1.86 ± 0.07 であり、有意に増加していた。また VEGFは成熟群で 0.72 ± 0.12 、加齢群で 3.86 ± 0.10 であり、有意に増加していた。本研究の結果、加齢に伴う酸化ストレスが嚥下関連筋の筋萎縮に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

嚥下関連筋の筋萎縮の病態解明を目的としてラット動物モデルで分子生物学的検討を行なった。成熟群及び加齢群ラット10匹ずつを用いてスーパーオキシドディスムターゼ（SOD-1）と血管内皮細胞増殖因子（VEGF）を下咽頭収縮筋で測定した（測定値：対象をコントロールで割った値）。分子生物学的検討の結果、SOD-1は成熟群で 0.41 ± 0.15 、加齢群で 1.86 ± 0.07 であり、有意に増加していた。また VEGFは成熟群で 0.72 ± 0.12 、加齢群で 3.86 ± 0.10 であり、有意に増加していた。本研究の結果、加齢に伴う酸化ストレスが嚥下関連筋の筋萎縮に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, I conducted a molecular biology study using rats as an animal model to elucidate the pathophysiology of muscular atrophy of swallowing-related muscles. Superoxide dismutase (SOD-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the inferior pharyngeal contractile muscle were measured using ten rats in mature and aging groups, respectively (measured values: the values obtained by dividing the target values by the control ones). As a result of molecular biology studies, SOD-1 was 0.41 ± 0.15 in the mature group and 1.86 ± 0.07 in the aging group, showing a significant increase in the latter group. In addition, VEGF was 0.72 ± 0.12 in the mature group and 3.86 ± 0.10 in the aging group, showing a significant increase in the latter group. This study suggested that age-related oxidative stress may be involved in the muscular atrophy of swallowing-related muscles.

研究分野：嚥下障害

キーワード：嚥下障害 サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

2011年、日本の死因第3位は肺炎となった。その95%以上は高齢者でその多くは誤嚥性肺炎と言われており高齢者の嚥下障害は社会的にも医療的にも大きな問題となっている。さらに、東日本大震災時において高齢者の誤嚥性肺炎による災害関連死が多数報告された。今後さらなる高齢化や予測されている大震災時に向けても、加齢や廃用などに起因するサルコペニアによる嚥下障害の予防方法確立への対策は急務である。

近年サルコペニアに関する研究が始まっているが、嚥下関連筋の領域においてはこれに関する研究の報告はほとんどない。申請者の教室では加齢による嚥下機能変化に着目し、形態学的側面からのアプローチを数々行い、その過程において嚥下関連筋の形態変化が嚥下機能の変化と密接に関わっていることを明らかにしてきた。また申請者は内喉頭筋の筋萎縮に関する研究や予防効果について研究を行ってきた (Sei et al, *Acta Oto Laryngologica*, 2015)。

加齢による嚥下機能低下は脳血管障害や神経筋疾患など、明らかに嚥下に関与する神経、運動系の障害にて嚥下障害が顕在化する場合と、加齢による嚥下予備能による嚥下機能低下に加え、呼吸機能低下、ADL低下、意欲の低下、介護環境の変化等様々な要因が重複して嚥下障害が顕在化する場合等、様々なパターンで起こりうる。さらに、東日本大震災などの大災害時において、誤嚥性肺炎の増加等による災害関連死が多数報告され、加齢や廃用などによるサルコペニア嚥下関連筋の筋萎縮の予防に努めることの重要性を痛感したため、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

サルコペニア嚥下障害の病態

サルコペニアにおける嚥下機能低下については、臨床的研究において舌骨や外喉頭筋の一つで喉頭挙上に関与する舌骨上筋群の筋萎縮が指摘されているが、現時点では組織化学的裏付けはされておらず不明な点も多い。本研究にて嚥下関連筋の筋萎縮促進を抑制することが判明できれば、サルコペニアにおける嚥下機能低下の予防に直結する嚥下障害の治療法の開発につながるかと考えた。

サルコペニア関連筋萎縮の予防

整形外科領域では特にギプス固定や長期臥床による廃用性筋萎縮が問題となっておりその予防に関する研究が進められている。今回、酸化ストレスマーカーであるスーパーオキシドディスムターゼ (Cu/Zn-superoxide dismutase:SOD-1) と、廃用性筋萎縮に伴い発現量が減少する血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) を舌筋・下咽頭収縮筋・内外喉頭筋でそれぞれ測定し、加齢や廃用による筋萎縮の動態を解明する。また筋萎縮予防薬としてアスタキサンチンを選択する。抗酸化物質の中でもカルテノイド色素の一種であるアスタキサンチンは、強力な抗酸化作用があり、その抗酸化力はビタミンEの1,000倍、 β -カロテンの40倍であると言われている。整形外科領域における研究にて非荷重で生じる骨格筋におけるSOD-1の増加に対し、ビタミンEやエストロゲンなどの抗酸化物質が、SOD-1の増加を抑制し酸化ストレスを軽減するとの報告がある。また臨床においては、近年リハビリテーション栄養として廃用性筋萎縮の予防に早期臥床・運動療法・栄養療法がよく用いられているが、誤嚥性肺炎を生じた場合、経口摂取を一旦中止して経管栄養や静脈栄養等の代用栄養を行い肺炎治療のために安静を余儀なくされ、サルコペニアが進行することが少なくない。そのため、安静期間中の筋萎縮による酸化ストレスが増加すると言われている。そこで、サルコペニアにおける酸化ストレスをアスタキサンチンにて減少することができれば、より効果的に骨格筋毛細血管退行を予防することができ、サルコペニアによる摂食嚥下障害の予防法の確立につながるのではないかと考えた。

3. 研究の方法

1) 成熟群での検討: Wister系雄性ラット(12週齢)の舌筋、下咽頭収縮筋における筋総タンパク量を1.0mg/mlに調整し、80度で15分間の熱処置を行う。続いて、Laemmli法により電気泳動(40mA、90分間)にて筋タンパク質の分離を行う。電気泳動終了後、セミドライ法によりタンパク質をPVDF膜に転写し、VEGFモノクローナル抗体とインキュベートさせ、洗浄後にHRP標識二次抗体と反応させる。SOD-1とVEGF発現量は、化学発光法でシグナル検出し、光化学発光装置で検出を行う。検出したSOD-1およびVEGFの各バンドは、画像解析ソフトでデンシトメリー測定を行う。内在性コントロールとして β -actinを使用し、CON群を100とした時の割合を算出する。

2) 加齢群での検討: Wister系雄性ラット加齢モデル(24カ月齢)を用いて、同様に舌筋、下咽頭収縮筋、内外喉頭筋におけるSOD-1とVEGF発現量を、化学発光法でシグナル検出し、光化学発光装置で検出を行う。次にアスタキサンチンをラット加齢モデル(24カ月齢)に投与することでSOD-1増加を軽減できれば、骨格筋毛細血管の退行性変化を予防できるという仮説を立て、検証する。

4. 研究成果

まず嚥下関連筋の筋萎縮の病態解明を目的としてラット動物モデルで分子生物学的検討を行った。成熟群及び加齢群ラット10匹ずつを用いて、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD-1)と血管内皮細胞増殖因子(VEGF)を下咽頭収縮筋で測定した(測定値:対象をコントロールで割った値)。

分子生物学的検討の結果、SOD-1は成熟群で 0.41 ± 0.15 、加齢群で 1.86 ± 0.07 であり、有意に増加していた(右図)。

また VEGF は成熟群で 0.72 ± 0.12 、加齢群で 3.86 ± 0.10 であり、有意に増加していた(右図)。

本研究の結果、加齢に伴う酸化ストレスが嚥下関連筋の筋萎縮に関与している可能性が示唆された。その後も加齢モデルラットの飼育を継続していたが、2020年12月にラット盲腸原虫への感染が疑われた。本学動物実験センターと協議した結果、『飼育室からのラットの持ち出しおよび処置室・行動実験室の使用を禁止とする』との結論に至り実験動物を安楽死処分したため、本研究期間中にアスタキサンチンによる筋萎縮予防効果の検証を行うことは困難であった。



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 2件）

1. 著者名 Hirofumi Sei, Takashi Kitani, Naohito Hato	4. 巻 3
2. 論文標題 Effective Detection of Laryngeal Foreign Bodies with 320-row Computed Tomography.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Image Case Rep J	6. 最初と最後の頁 148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Hirofumi Sei, Naohito Hato, Asami Tozawa	4. 巻 3
2. 論文標題 Treatment of Intractable Hair Growth After Partial Laryngectomy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Image Case Rep J	6. 最初と最後の頁 149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 勢井 洋史, 細川 裕貴, 岡田 昌浩, 羽藤 直人	4. 巻 114
2. 論文標題 ダブルルーメンチューブによる気管内挿管後の高度声門下浮腫例	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床	6. 最初と最後の頁 145-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 勢井 洋史, 林 祐志, 青石 邦秀, 吉田 正	4. 巻 92
2. 論文標題 呼吸困難を伴った振り子様に腫大した高度ポリープ様声帯の1例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 耳喉頭頸	6. 最初と最後の頁 837-840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 勢井 洋史, 小西 泰礼, 河内 和誉, 岩田 真治, 大六 鉄兵, 瀬知 亜有未, 三上(飴矢) 美里, 保田 和則, 羽藤 直人	4. 巻 39
2. 論文標題 愛媛大学医学部附属病院で使用しているとろみ調整食品と液体のレオロジー解析について	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 愛媛医学	6. 最初と最後の頁 123-126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 勢井 洋史、田中 加緒里、飴矢 美里、大六 鉄兵、瀬知 亜有未、羽藤 直人
2. 発表標題 当院における入院時全例嚥下スクリーニングの導入について
3. 学会等名 第44回日本嚥下医学会総会ならびに学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飴矢美里、勢井洋史、田中加緒里、羽藤直人
2. 発表標題 スマートフォンアプリを用いた新規代用音声に関する探索的研究
3. 学会等名 第33回日本喉頭科学会総会ならびに学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勢井洋史
2. 発表標題 当院で使用しているとろみ調整食品と液体のレオロジー解析について
3. 学会等名 第 42 回日本臨床栄養学会総会・第 41 回日本臨床栄養 協会総会 第18回大連合大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 勢井洋史、羽藤直人
2. 発表標題 味認識装置を用いたテストディスクの検討
3. 学会等名 第 33 回日本口腔・咽頭科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020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

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