

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：32703

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23660047

研究課題名(和文) 摂食・嚥下機能療法による高齢者の認知脳機能回路の賦活と抗酸化機構との関連性の探索

研究課題名(英文) Search for relevance and the mechanism of antioxidant system and the activation of a system of cognitive brain function in the elderly by function therapy of eating and swallowing

研究代表者

李 昌一 (Lee, Masaichi)

神奈川歯科大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：60220795

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：嚥下体操による高齢者の認知機能増進のメカニズムに酸化ストレスが関与していることを独自に開発した筋電図法と電子スピン共鳴(ESR)法を用いて証明すること目的とした。筋電図による解析から嚥下体操を行うことは、若年者、高齢者ともに、嚥下関連筋の筋活動を円滑にし、嚥下を容易にすることが示唆された。また、健常者においては、嚥下体操を行うことにより、唾液中の活性酸素消去能が高くなっていた。これは嚥下体操を行うことで抗酸化システムを亢進する可能性が考えられた。

これらの結果は、活性酸素種の酸化ストレスによる脳血管疾患が原因である摂食・嚥下障害を防ぐことから、嚥下体操の誤嚥性肺炎の予防効果を示唆している。

研究成果の概要(英文)：We purposed that cognitive enhancement in the elderly by swallowing exercises, which was eating and swallowing function training, would be essential on the mechanism due to oxidative stress using original developed-electromyography (EMG) and electron spin resonance (ESR). As a result of using the EMG, both young and the elderly may facilitate the muscle activity of swallowing-related muscle during performing swallowing exercises. By performing swallowing exercises, it was also observed the enhancement of antioxidant system. From these results, swallowing exercises may prevent for aspiration pneumonia induced by Dysphagia, which is caused by cerebral vascular diseases due to oxidative stress.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：看護学・臨床看護学

キーワード：嚥下体操 唾液 抗酸化能 活性酸素種 酸化ストレス 筋電図 電子スピン共鳴法 咀嚼筋

1. 研究開始当初の背景

2006年介護保険法の改正施行により、介護予防プログラムとして「栄養改善」、「運動機能の向上」、「口腔機能の向上」が介護予防の中心として位置づけられた。摂食・嚥下機能訓練はADLの改善、QOLの維持、向上、誤嚥性肺炎の予防など全身的にもきわめて有用である。また、高齢期の介護予防に対して音読、体操などが前頭前野機能を改善し認知機能低下を防止することが報告された。活性酸素による酸化ストレスが脳血管障害や認知症などの神経変性疾患に深く関わることが知られている。研究代表者は活性酸素を検出可能な電子スピン共鳴 (ESR)法を用いて、口腔機能の活性化が亢進した脳内活性酸素による酸化ストレスを減弱することを明らかにした。臨床応用可能な抗酸化薬剤におけるESR法による抗酸化能評価法を確立し、現時点で本研究代表者らは唾液を用いた活性酸素消去能(抗酸化能)評価に成功している。このような背景から、摂食・嚥下機能訓練である嚥下体操による高齢者の認知機能増進を目指した神経科学的解明が必須であり、このメカニズムに酸化ストレスが関与していることをESR法を用いて証明する本研究プロジェクトに着想した。

2. 研究の目的

総人口に占める高齢者の割合は約23%に達し、今や活性酸素種による酸化ストレス疾患である脳血管障害や認知症に起因する摂食嚥下障害の改善策が強く叫ばれている。本研究では、嚥下体操を実施した直後としない時に独自に開発した筋電図測定法と我々が一貫して行ってきた電子スピン共鳴 (ESR)法による唾液中の活性酸素消去能を同時計測し、嚥下体操による酸化ストレスを介した神経認知機能の向上を世界に先駆けて解明し、摂食嚥下リハビリテーシ

ョンにおける口腔刺激の神経科学的意義を確立することをゴールとする。

3. 研究の方法

(1) ボランティア募集

反復唾液嚥下テスト (RSST) により評価し、摂食・嚥下機能に問題のない高齢者ボランティア (60~75歳) に対し、本研究の代表者と小松が十分なインフォームドコンセントを行い書面による同意が得られたものを対象とする。ボランティアは社会活動を営んでいるか或いは家庭で健常に生活しているものに限定して行った。

(2) 嚥下体操の実施

体操方法を図示し分かりやすく説明し、習得したうえで、嚥下体操を1回行う。

(3) 高齢者における嚥下体操の効果を嚥下関連筋の表面筋電図の計測により定量的に評価

嚥下体操前後の水分嚥下時の左側舌骨下筋群、オトガイ舌骨筋、顎舌骨筋、咬筋の筋電図をワイヤレスEMG systemを用いて計測した。測定した生波形を全波整流し、5Hzのローパスフィルターで平滑化処理を行い、整流平滑化筋電図を求め、嚥下関連筋の機能評価を行った。

実際には、過去において嚥下障害を認めなかった同意が得られた若年者 (Y) 群13名 (男性9名、女性4名、平均年齢23.9±4.7歳) と高齢者 (E) 群4名 (男性1名、女性3名、平均年齢83.5±45.0歳) を対象とした。

(4) 唾液の活性酸素消去能 (抗酸化能) の解析

嚥下体操を行った直後と行わなかったときの全被験者よりコットンロール法にて少量の安静時唾液を採取する。得られた唾液は、申請者らが報告した (*J. Biol. Chem.* 2000 275, 9369-9376, *J. Biol. Chem.* 275: 38965-38972, 2000.) 方法に従って処理し、主

要活性酸素である $O_2^{\cdot-}$ と HO^{\cdot} に対する消去能を解析する。 $O_2^{\cdot-}$ または HO^{\cdot} を産生系に被験者の唾液を加えた後、それら活性酸素を ESR 法で捕捉するためのスピントラップ剤を用い *in vitro* X-band ESR 法で検出を行い、唾液の活性酸素消去能（抗酸化能）を解析する。

実際には研究に同意が得られた者で、嚥下障害を認めなかった健常者 9 名を対象とした。方法は、飲食、歯磨きを唾液採取 2 時間前より禁止し、嚥下体操前後に安静時唾液を採取し、6000rpm、5 分間遠心後、上清中のヒドロキシラジカル (HO^{\cdot})、スーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$)、一重項酸素 (1O_2) の消去活性を電子スピン共鳴 (ESR) 法により測定し、嚥下体操との関連性を検討した

4. 研究成果

(1) 嚥下関連筋の表面筋電図の計測により定量的評価

大振幅値は、Y 群では変化を認めなかったが、E 群では有意に増加した。オトガイ舌筋の最大振幅値は Y 群、E 群ともに嚥下体操後で増加傾向を示した。咬筋の嚥下活動持続時間は Y 群では減少傾向を示したのに対し、E 群では増加傾向を示した。また、舌骨下筋群、オトガイ舌骨筋、顎舌骨筋の嚥下活動持続時間は Y 群、E 群ともに減少傾向を示した。

(2) 唾液中の抗酸化能に対する効果

嚥下体操後の唾液中の各消去活性は嚥下体操前と比較して、 HO^{\cdot} については Fe^{2+}/H_2O_2 系で $13.57 \pm 9.51\%$ 、 H_2O_2 -UV 系で 2.82 ± 1.44 、 $O_2^{\cdot-}$ の消去率は $2.56 \pm 2.17\%$ 、 1O_2 消去活性は $5.11 \pm 2.07\%$ 上昇した。すなわち HO^{\cdot} 、 $O_2^{\cdot-}$ 、 1O_2 のすべての活性酸素種において嚥下体操前に比較して嚥下体操後で消去活性は上昇した。

以上の実験成果から、咬筋に対する相違は、高齢者ではより嚥下を意識した慎重な

運動が行われた可能性が考えられた。嚥下体操を行うことは、若年者、高齢者ともに、その後の水分嚥下時の嚥下関連筋の筋活動を円滑にし、嚥下を容易にすることが示唆され、筋活動の円滑化がむせや誤嚥の予防につながると考えられた。若年者、高齢者ともに嚥下体操の効果がみられたことより、摂食・嚥下機能障害の予防や機能回復の両方の観点から高く評価できると考えられた。

また、健常者においては、嚥下体操を行うことにより、唾液中の活性酸素消去能が高くなっていた。これは嚥下体操を行うことで、活性酸素産生を消去する抗酸化システムを亢進する反応がみられた可能性が考えられる。食前に嚥下体操を行うことで、摂食・嚥下に関する筋機能の活性化のみではなく、唾液中の抗酸化作用による生体に対する抗酸化システム強化することで、活性酸素種の酸化ストレスによる脳血管疾患が原因である摂食・嚥下障害を防ぐことから、誤嚥性肺炎の予防効果も期待できると考えられた。

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 10 件)

1. Yoshino F., Yoshida A., Nakajima A., Wada-Takahashi S., Takahashi S-S., Lee M-C.: Alteration of the redox state with reactive oxygen species for 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters, PLoS ONE, 査読有, Vol.8, No.12, 2013. P.1-6, doi:10.1371/journal.pone.0082834
2. Lee M-C.: Assessment of oxidative stress and antioxidant property using electron spin resonance (ESR) spectroscopy, Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 査読有, Vol.52, No.1, 2013, p.1-8,

- doi: 10.3164/jcfn.12-58. 2013.03.017.
3. Komatsu T., Yoon D., Ito A., Kurosawa K., Maehata Y., Kubodera T., Ikeda M., Lee M-C.: Increased oxidative stress biomarkers in saliva of down syndrome patients, Archives of Oral Biology, 査読有, Vol.58, No.9, 2013, p.1246-1250, doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.03.017..
 4. Kobayashi K., Maehata Y., Kawamura Y., Kusubata M., Hattori S., Tanaka K., Miyamoto C., Yoshino F., Yoshida A., Wada-T. S., Komatsu T., Otsuka T., Takahashi S.-S., Lee M-C., Medical-grade collagen peptide in injectables provides antioxidant protection, Pharmaceutical Development and Technology, 査読有, [Epub ahead of print], 2013, doi:10.3109/10837450.2013.860547
 5. Miyake S., Wada-Takahashi S., Honda H., Takahashi SS., Sasaguri K., Sato S., Lee M-C., Stress and chewing affect blood flow and oxygen levels in the rat brain, Archives of Oral Biology, 査読有, Vol.57, No.11, 2012, p.1491-7, doi: 0.1016/j.archoralbio.2012.06.008.
 6. Mishima K., Inoue H., Nishiyama T., Mabuchi Y., Amano Y., Ide F., Matsui M., Yamada H., Yamamoto G., Tanaka J., Yasuhara R., Sakurai T., Lee M-C., Chiba K., Sumimoto H., Kawakami Y., Matsuzaki Y., Tsubota K., Saito I., Transplantation of side population cells restores the function of damaged exocrine glands through clusterin, Stem Cell, AlphaMed Press, 査読有, Vol.30, No.9, 2012, p.1925-1937, doi: 10.1002/stem.1173.
 7. Yoshino F., Yoshida A., Wada-Takahashi S., Sugiyama S., Tokutomi F., Maehata Y., Miyamoto C., Komatsu T., Takahashi S.-S., Kobayashi K., Lee M-C., Assessments of salivary antioxidant activity using electron spin resonance spectroscopy, Archives of Oral Biology, 査読有, Vol.57, No.6, 2012, p.654-662, 2012, doi:10.1016/j.archoralbio.2011.12.009.
 8. Komatsu T., Kurihara T., Ito Y., Lee M-C., Miyagi A., Ikeda M., Oral characteristics of a patient with Ekman-Westborg-Julin trait: a case history, Special Care Dentistry, 査読有, Vol.32, No. 2, 2012, p.70-74, doi: 10.1111/j.1754-4505.2012.00238.x.
 9. Yoshino F., Yoshida A., Umigai N., Kubo K., Lee M-C., Crocetin reduces the oxidative stress induced reactive oxygen species in the SHRSPs brain, Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 査読有, Vol.49, No.3, 2012, p.182-187, doi: 10.3164/jcfn.11-01.
 10. Ohno A., Yoshino F., Yoshida A., Hori N., Ono Y., Kimoto K., Onozuka M., Lee M-C., Soft-food diet induces oxidative stress in the rat brain, Neuroscience Letters, 査読有, Vol.508, No.1, 2012, p.42-46, doi: 10.1016/j.neulet.2011.12.015.
- 〔学会発表〕(計13件)
1. 小松知子 植田郁子, 大塚剛郎, 早野 愛, 阪本貴史, 中村ミゲル, 村井朋代, 井田侑子, 池田正一, 宮城 敦, 浜田信城, 李 昌一: Down 症候群患者における口腔内 Candida 菌と唾液中活性酸素種の関連性, 第 30 回日本障害者歯科学会総会および学術大会, 神戸, 2013. 10.11-13
 2. 李 昌一, 小松知子, 植田郁子, 伊藤 愛, 村井朋代, 井田郁子, 池田正一, 宮城 敦, 浜田信城: 若年ダウン症候群における唾液中ヒスタミン 5 含有量と Candida 菌分離頻度に関する検討, 第 6 回日本口腔検査学会総会・学術集会, 2013 . 9.22-23
 3. 小松知子, 植田晃弘, 小野弓絵, 宮城 敦, 浜田信城, 李 昌一: 嚥下体操の嚥下関

- 連筋に対する効果-高齢者と若年者との比較-,第 19 回日本摂食・嚥下リハビリテーション学会学術大会,岡山, 2013. 9.22-23
4. Komatsu T, Kumada H, Helmerhorst, E J, Salih E, Oppenheim FG, Hamada N, Lee C-II: Salivary histatin levels and fungal colonisation in Down syndrome , 101th FDI 2013 World Dental congress, Istanbul, 2013. 8.28-31
 5. 小松 知子, 大塚剛郎, 岡部愛子, 小林杏, 前谷崇志, 宮城敦, 池田正一, 李 昌一: Down 症候群患者の唾液中活性酸素消去能と歯周病の関連性. 第 13 回日本抗加齢医学会学術大会, 横浜, 2013. 6. 28-30
 6. 李 昌一: 抗酸化療法はどこまで進んでいるのか?-アンチエイジング医学臨床応用への可能性,第 13 回日本抗加齢医学会総会, 横浜, 2013. 6-28-30
 7. 植田晃弘, 小野弓絵, 小松知子, 李昌一: 嚥下体操は飲水に必要な筋活動を軽減する. 第 36 回日本神経科学大会. 国立京都国際会館. 2013. 6. 20-23
 8. 小松知子, 大塚剛郎, 高野知子, 宮城敦, 李昌一: 歯周病における唾液中活性酸素の作用 -Down 症候群患者における検討-. 日本老年歯科医学会第 24 回学術大会, 大阪, 2013. 6.4-7
 9. 吉野 文彦, 吉田 彩佳, 李 昌一: 電子スピン共鳴法を応用した唾液抗酸化作用による歯周病評価法の可能性, 日本歯科保存学会 2012 年度 春季学術大会 (第 136 回), 沖縄, 2012. 6.28-29.
 10. 李 昌一, 口腔機能を活かすことで活性酸素を減らすアンチエイジングライフの実現-幸福な人生は歯の健康から-,第 12回日本抗加齢医学会総会, 横浜, 2012. 6.22-24
 11. 小松知子, 植田郁子, 坂本貴史, 熊田秀文, 伊藤 愛, 高野知子, 岡部愛子, 鶴屋俊輔, 小林 杏, 前谷崇志, 浜田信城, 宮城 敦, 池田正一, 李 昌一: 高齢 Down 症候群患者の日常生活動作 (ADL) と歯科的所見との関連性, 第 12 回日本抗加齢医学会総会, 横浜市, 2012. 6.22-24.
 12. 吉野 文彦, 吉田 彩佳, 高橋 聡子, 徳富 文彬, 李 昌一: 唾液抗酸化能を用いた客観的歯周病評価法の検討, 第 65 回酸化ストレス学会学術集会, 徳島, 2012. 6.7-8.
 13. Yoshino F., Yoshida A., Wada-Takahashi S., Tokutomi F., Lee M-C, Assessment of Salivary Antioxidant Activity Involved in Periodontitis, 2012 FDI Annual World Dental Congress, Hong Kong, 2012, 8.29-9.01
- 〔図書〕(計 7 件)
1. 李 昌一, (編者)鈴木敬一郎, 活性酸素の本当の姿, 「目からウロコのヘルスサイエンスシリーズ」 第 2 巻 『活性酸素の本当の姿』 第 4 章 活性酸素はどう計るか, ナップ社, 2013, 57-75
 2. Lee M-C, (Eds.) Ekuni D.: Role of Oxidative stress and Antioxidant system on Periodontal disease. Studies on Gingivitis and Periodontal Disease, Series: Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice, Human Press, c/o Springer Science+Business Media, 2013, 3-14
 3. Komatsu T, Lee M-C, (Eds.) Ekuni D.: Oxidative stress and Periodontal disease in Down syndrome. Studies on Gingivitis and Periodontal Disease, Series: Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice, Series: Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical

- Practice, Human Press, c/o Springer
Science+Business Media, 2013, 211-223
4. Yoshino F., Kobayashi K., Lee M-C., (Eds.)
Basu Samar., Wiklund Lars., Assessment of
Oxidative Stress in the Brain of
Spontaneously Hypertensive Rat and
Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive
Rat Using by Electron Spin Resonance
Spectroscopy. Studies on Experimental
Models, Series: Oxidative Stress in Applied
Basic Research and Clinical Practice,
Human Press, c/o Springer
Science+Business Media, 2011, p.91-104
5. 吉田彩佳, 吉野文彦, 李 昌一, 皮膚にお
ける UV 照射による酸化ストレスと抗
酸化剤による UV 防御作用, 食品と開発,
UBM メディア株式会社, 2011, 33-34
6. 李 昌一, (編者) シーエムシー出版, 第4
章 抗酸化機能の基準化に向けた取り組
み, 抗酸化素材の開発と市場, シーエム
シー出版, 東京, 2014, 57-79
7. 李 昌一, 唾液を用いた抗酸化能測定
の新規口腔検査への可能性, 食品と開発,
食品と開発, 2014. Vol.49, No.1, 47-48-34

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

<http://www.labs.kdu.ac.jp/yakuri/>

<http://www.aoxdent.org/>

<http://www.graduate.kdu.ac.jp/saigai/research/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

李 昌一 (LEE Masaichi)

神奈川歯科大学・歯学部・教授

研究者番号 : 60220795

(2) 研究分担者

小野塚實 (ONOZUKA Minoru)

神奈川歯科大学・歯学部・名誉教授

研究者番号 : 90084780

小松知子 (KOMATSU Tomoko)

神奈川歯科大学・歯学部・講師

研究者番号 : 20234875

(3) 連携研究者

兼松雅之 (KANEMATSU Masayuki)

岐阜大学・医学部付属病院・准教授

研究者番号 : 40252134

小野弓枝 (ONO Yumie)

明治大学・理工学部・准教授

研究者番号 : 10360207