

令和元年6月19日現在

機関番号：32703

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15859

研究課題名（和文）高齢者の高次脳機能と酸化ストレスに対する効果的な摂食嚥下機能療法の探索

研究課題名（英文）Search for Effective Dysphagia Functional Therapy for Higher Brain Function and Oxidative Stress in the Elderly

研究代表者

松澤 直子（Matsuzawa, Naoko）

神奈川歯科大学・歯学部・特任講師

研究者番号：70277911

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：20歳以上50歳未満の要介護度の高い脳血管障害後遺症患者と認知症患者において口腔機能訓練である嚥下体操前後において活性酸素種を減弱する抗酸化活性の増加が確認したが、50歳以上の患者では確認されなかった。すでに活性酸素種産生が亢進した高齢患者においては、嚥下体操によっても十分な抗酸化システムのバランスの回復が難しい可能性が確認された。したがって、早期の口腔機能訓練の重要性が示唆された。

さらに、健常ボランティアに対して、fMRIを用いて、摂食・嚥下運動に関わる口腔機能訓練について脳活動の賦活部位を確認した。本研究プロジェクトにより、高次脳機能の改善による口腔機能訓練の重要性が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知機能を含めた高次脳機能障害は、脳血管障害、認知症、パーキンソン病、その他の様々な疾患で出現する症候である。本研究は摂食嚥下リハビリテーションである嚥下体操の効果がもたらす認知機能増進を目指した神経科学的解明を目指すものである。

今回の研究成果として、高齢者の嚥下体操の有用性をESR法による唾液の抗酸化能の測定により評価した。さらにfMRIによる口腔機能と高次脳機能との関連性を解明するための糸口を確認できた。認知機能と脳活動を直接結びつけるシステムの研究は、今後の研究戦略で認知機能のヘルスプロモーションに果たす摂食嚥下関連器官の役割を国内外に発信するための一歩として、社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：An increase in antioxidant activity that attenuates reactive oxygen species was confirmed before and after swallowing exercises that are oral function training in patients with sequelae of severe cerebrovascular disorder and dementia patients who are 20 to 50 years old who have a high degree of care required. It was not confirmed in patients with in more elderly patients who have already increased reactive oxygen species production, suggesting that it is difficult to restore the balance of a sufficient antioxidant system even by swallowing exercises. Therefore, early oral function training was suggested to be important. Furthermore, for healthy volunteers, fMRI was used to confirm the activation site of brain activity for oral function training related to feeding and swallowing movements. This research project confirmed the importance of oral function training through improvement and recovery of oral function in higher brain function.

研究分野：障害者歯科

キーワード：口腔機能 摂食嚥下リハビリテーション 活性酸素種 酸化ストレス 唾液 核磁気共鳴法 fMRI

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脳卒中に罹患した患者は急性期で約30%に誤嚥を認め、そのうち約5%は慢性期まで残存するといわれている。また、65歳以上の認知症高齢者は、2012年の時点で約462万人存在することが厚生労働省の研究班の調査で報告され、2015年に「認知症施策推進5か年計画」が改められ、新たに「認知症施策推進総合戦略」が策定された。本プランでは認知症の容態に応じた適時・適切な医療・介護の提供が主な取り組みとして掲げられている。認知症の進行は、摂食嚥下における食物の認知や摂食に影響し、嚥下障害の増悪因子となる。BPSD(認知症の精神・行動症状)も食事介助の場面において大きな問題となる。認知症患者の摂食嚥下障害では、治療・訓練の効果は少なく、食物形態や食事方法の工夫による代償法などの対応も、口から食べること、栄養摂取を支援する面から必要である。しかし、高齢者の尊厳の保持の面から考えると、人にとって食事の楽しみは、単に口から食べるではなく、咀嚼して食材の食感や香りを堪能することであり、それが生きる喜びにつながると考えられる。したがって、認知症を初期段階で発見し、摂食嚥下機能の低下を予防することは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。研究分担者である小野塚らはこれまでに機能的磁気共鳴画像(functional magnetic resonance imaging; fMRI)を用い、高齢者がガムチューイングを行うことにより思考、計画、学習、創造、意欲、情操、注意などの高次元の内容を処理する働きが集中している前頭連合野(特に前頭前野)の神経活動が増強されることを、世界に先駆けて発見し(J Dent Res 82: 657-60, 2003)、多くの関心を得てきた。一方、活性酸素種(Reactive oxidative species; ROS)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与していることが知られている。研究分担者である李らはROSを検出可能な電子スピン共鳴(Electron spin resonance; 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(Redox Rep, 2005, J Dent Res, 2005)。また、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、高次脳認知機能と前頭前野の連携を先端医療技術であるfMRIにより明らかにし、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法により証明する本研究プロジェクトを着想した。

### 2. 研究の目的

本研究では、脳血管障害患者や認知症患者において、嚥下体操を実施した前後の唾液中のROS消去能をESR法にて計測し、さらに、fMRIを用い、前頭前野の賦活と再生および認知機能への影響を解明する。これにより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を中心とした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

被験者に、嚥下体操の効果を唾液のROS消去能(抗酸化能)の解析により評価することにより酸化ストレスとの関連性を証明する。さらにfMRIを用い、嚥下体操のうち特に舌の運動の効果を前頭前野の機能マッピングとその定量分析により評価する。最終的に、fMRIの脳の賦活状態と活性酸素消去能の評価を関連づけることにより、嚥下体操など口腔機能が及ぼす効果を多角的に評価する。

#### (1) ボランティア募集

ボランティアに対し、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。

#### (2) 嚥下体操の実施

被験者に対して、摂食嚥下リハビリテーション学会が提唱する嚥下体操を図示し、分かりやすく説明し、習得したうえで、嚥下体操を1回行わせる。

#### (3) 唾液のROS消去能(抗酸化能)の解析

嚥下体操の前後にコットンロール法にて安静時唾液を採取する。得られた唾液は、李らが報告した(J. Biol. Chem. 2000 275, 9369-9376, J. Biol. Chem. 275: 38965-38972, 2000.)方法に従って処理し、主要なROSであるスーパーオキシド( $O_2^{\cdot -}$ )とヒドロキシラジカル( $HO^{\cdot}$ )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ROSを捕捉する

ためのスピントラップ剤を用いて in vitro X-band ESR 法で検出を行い、唾液の ROS 消去能(抗酸化能)を解析する。

#### (4) fMRI 法を用いた実験

ボランティアは fMRI 装置に入ることが可能な者を無作為に選出する。被検者に課題を適切に行わせるために課題を図示して、十分に説明し、スキャン中の体動、とくに頭部の動きを最小限に抑えることも検討する。実験デザインにはブロックデザインを採用し、課題としては嚙下体操の中で、特に咀嚼や舌の運動に注目し、「舌の口蓋への押し付け」「ガムチューイング」「クレンチング」の3つの課題について検討する。ブロックデザインでは課題と休憩を繰り返し行い、課題と休憩の MRI 画像を比較し、差分から脳活動の賦活部位を捉える。本研究では、課題 15 秒および休憩 30 秒の計 45 秒を 1 ブロックとして、3 回繰り返す計 3 ブロックを行う。異なる課題間では休憩を 60 秒に設定する。撮像は T2 強調画像を用い、一方の脳機能画像に対しては gradient echo EPI を使用して行う。嚙下体操による賦活部位を検討するために、撮像した脳機能画像に関しては、嚙下体操を行った群とコントロール群間の BOLD シグナル強度に有意差 ( $p < 0.01$ ) が認められた画素のみを検索する(J Dent Res 82: 657-60, 2003)。次に、嚙下体操により fMRI シグナルが有意に増強された画素を T2 強調画像上にスーパーインポーズさせ、嚙下体操による賦活される脳部位を同定する(NeuroReport 11: 1301-6, 2000)。一方、脳機能画像の解析には MATLAB 上で作動する SPM 8 を用いる。さらに、BOLD シグナルの変化を評価するために画素毎に t 値 (T) を求め、これを標準化して Z 値に変換、この値の空間分布をマッピングする。多重比較は Gaussian random field theory を用いて補正する(Hum Brain Mapp 2: 189-210, 1995)。

#### 4. 研究成果

嚙下体操の前後に安静時唾液を採取した。得られた唾液を処理し、主要な ROS であるスーパーオキシド ( $O_2^{\cdot-}$ ) とヒドロキシルラジカル ( $HO^{\cdot}$ ) に対する消去能を ESR 法にて測定した。A 群: 20 歳以上 50 歳未満、B 群: 50 歳以上 70 歳未満、C 群: 80 歳以上の 3 群に分けて検討した。その結果、唾液分泌量は、嚙下体操前、後ともに C 群で減少傾向にあったが、個人差が大きく、有意な差を認めなかった。C 群で A、B 群に比較して、嚙下体操前の  $Fe^{2+}/H_2O_2$  系における  $HO^{\cdot}$  および  $O_2^{\cdot-}$  に対する唾液中の抗酸化能が有意に高値を示した。嚙下体操前後の比較では、唾液中の  $HO^{\cdot}$  消去能は A 群では有意な上昇を認めたが、B、C 群では有意差を認めなかった。

以上の結果から、C 群では嚙下体操前の  $O_2^{\cdot-}$  消去能が高値を示したことは、加齢や合併疾患の影響による酸化ストレスの亢進に対する抗酸化活性を示す適応反応がみられた可能性が考えられた。一方で、A 群で  $HO^{\cdot}$  消去能が上昇したことは、嚙下体操を行うことで唾液中の抗酸化力を高めたことから、口腔内の抗酸化システムにおける防御機構が有益に作用する可能性も考えられた。しかしながら、B、C 群においては有意な差がなかったことから、今回行なった 1 回の嚙下体操では口腔内の抗酸化活性に効果がみられなかった。このような各年代における抗酸化活性の相違に関して、さらなる検討が必要である。体操の継続による効果の評価と嚙下体操には様々な器官の賦活を期待する運動が組み込まれているため、どの器官の体操が効果的であるかを確認する必要がある。

嚙下体操をそのまま fMRI で忠実に再現することは、体動の問題があり、不可能である。そこで、特に重要と考えられた咀嚼や舌の運動につながる動作による高次脳機能の活性化を評価することを目的に研究を進めた。「舌の口蓋への押し付け」「ガムチューイング」「クレンチ

ング」の3つの課題についてfMRIシグナルを計測した。「手をグーパーする掌握運動」でfMRIでの課題の再現性を確認した。被験者は、神経疾患や精神疾患の既往のない、右利きの健常ボランティア（有歯顎者）男性3名、女性2名とした（平均年齢: 34.8 ± 11.0歳）。その結果、個人差はあるものの、健常または要介護高齢者の対照群としての健常者のデータの再現性を確認した。さらに唾液中の抗酸化活性の測定を行った。今後は、年齢階層別、疾患別にサンプル数を増やし、これらのデータの蓄積により、信頼性の高いデータとしていく必要がある。さらに、舌運動機能訓練が認知機能に及ぼす影響について、被験者ボランティアに対してfMRIを用いて高次脳機能の賦活化を捉えることで、舌運動機能訓練の効果を評価する必要がある。これらのデータと共に、ESR法により測定した唾液中の抗化能の結果を統合し、摂食嚥下機能訓練における舌運動機能の神経科学的意義および酸化ストレス制御との関連性の詳細を解明することが必要な課題があると考えている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

- (1) 李 昌一, 小松知子: 唾液を用いた食品の抗酸化評価-歯周病・生活習慣病予防のための食品抗酸化評価への展望-。食品と開発, 査読あり, 53, 2018, 214-216.
- (2) 林恵美, 森本佳成, 高城大輔, 飯田貴俊, 赤坂徹, 小松知子, 宮城敦, 藤川隆義: 障害者歯科診療における静脈内鎮静法の検討 - 管理法の変更状況の検討 -。障害者歯科, 査読あり, 38, 2017, 504-509.

〔学会発表〕(計 14 件)

〔一般発表・国際学会〕

- (1) Komatsu T, Shigefugi R, Morimoto Y, Lee MC: Total Oral Care of Down Syndrome Comorbid with Regression, FDI 2018, Buenos Aires, Argentina, 2018.9.5-8.
- (2) Lee MC, Shigefugi R, Komatsu T, Oxidative Stress and Periodontal Disease in Down Syndrome, FDI 2018, Buenos Aires, Argentina, 2018.9.5-8.
- (3) Komatsu T, Shimada S, Watanabe K, Morimoto Y, Hamada N, Lee MC: Effects of mouth cleansing using by reactive oxygen species for elderly with long-time care. International Conference on Dental Science and Oral Care 2017, Dubai, UAE, 2017.5.22-24.
- (4) Komatsu T, Shiota G, Lee MC: Evaluation of Antioxidant Properties of Salivary Proteins Using electron spin resonance-based techniques. SfrBM/SFRRRI 2016, San Francisco, CA, USA, 2016. 11. 16-19.

〔一般発表・国内学会〕

- (1) 李 昌一, 松澤直子, 重藤良太, 石井裕美, 岩崎克夫, 吉岡裕史, 高満幸宜, 西山和彦, 森本佳成, 小松知子: 障害者オーラルフレイル予防を目指した歯科・栄養連携による臨床展開への基礎的検討 魚肉ペプチドの抗酸化作用の臨床応用 第35回日本障害者歯科学会総会および学術大会, 東京, 2018.11.16-18.
- (2) 小松知子, 重藤良太, 能地玲子, 高野知子, 近藤 永, 宮城 敦, 森本佳成, 李 昌一, 高齢者オーラルフレイル予防の魚肉ペプチド臨床応用への基礎的検討 医科・歯科・栄養連携による新しい臨床展開. 第29回日本老年歯科医学会総会学術大会, 東京, 2018.6. 22-23.
- (3) 李 昌一, 菅野 範, 吉田圭司郎, 船木純三, 岡田康江, 岡田永三, 岡部愛子, 森本佳成, 小松

知子:電子スピン共鳴(ESR)法を用いた食品素材のヒト唾液抗酸化評価 健康長寿を目指した抗酸化医療への応用. 第 18 回日本抗加齢医学会総会, 大阪, 2018.5.25- 5.27.

(4) 小松知子, 西山和彦, 松澤直子, 新倉悠里, 高満幸宜, 岡部愛子, 能地玲子, 村井朋代, 李昌一, 宮城敦, 森本佳成: 中年期 Down 症候群者 3 症例における口腔機能の経時的変化. 第 34 回日本障害者歯科学会総会および学術大会, 福岡, 2017.10.27-29.

(5) 小松知子, 島田茂, 塩田剛太郎, 森本佳成, 李昌一: Down 症候群患者における抗菌・抗酸化作用を併用した歯周治療の効果. 第 14 回日本口腔ケア学会総会・学術大会, 宜野湾, 2017.4.22-23.

(6) 小松知子, 渡辺清子, 岡部愛子, 船木誠子, 岡田康江, 岡田栄三, 森本佳成, 浜田信城, 李昌一: 超高齢社会における安全で効果的な洗口剤の検討. 第 17 回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2017.6.2-4.

(7) 小松知子, 島田茂, 平良哲, 知念由紀, 高瀬敏子, 宮城敦, 森本佳成, 浜田信城, 李昌一: 要介護高齢者に対する活性酸素による抗菌作用を期待した口腔清拭の効果の検討. 日本老年歯科医学会第 28 回学術大会, 名古屋, 2017.6.14-16.

(8) 小松知子, 李昌一, 宮城 敦, 松澤直子, 西山和彦, 石井裕美, 岡部愛子, 三國 文, 佐久間悠里, 宮本晴美, 森本佳成: Down 症候群患者における唾液プロテオームと歯周病との関連. 第 33 回日本障害者歯科学会学術大会, 大宮, 2016.9.30 ~ 10.2 .

(9) 小松知子, 小林 杏, 船木誠子, 岡田康江, 岡田永三, 田中優作, 宮城 敦, 李昌一: 活性酸素の特性を生かした歯周療法の効果-Down 症候群患者における検討-. 第16回日本抗加齢医学会総会, 横浜, 2016.6.10 ~ 12.

(10) 小松知子, 島田 茂, 平良 哲, 知念由紀, 高瀬敏子, 宮城 敦, 森本佳成, 李昌一: 要介護高齢者における口腔 Candida 菌の保菌状態と関連要因 について . 第 27 回日本老年歯科医学会学術大会, 徳島, 2016. 6.18 ~ 19 .

〔図書〕(計 7 件)

(1) 小松知子: CHAPTER1-2.P5, CHAPTER3-2.P27, CHAPTER4-4.P49, CHAPTER6-1.P72, CHAPTER7-1.P80, 障害者の歯科治療 臨床編 .(一社)日本障害者歯科学会 編集, 秋山茂久・江草正彦・小笠原正・緒方克也・野本たかと・福田理 編集委員, 永末書店, 京都, 2018.

(2) 小松知子: VII.2. Down 症候群. pp.111-117. 日本口腔ケア学会編: ライフステージを考えた口腔ケア: スペシャルニーズのある人へ. 口腔保健協会, 東京, 2018.

(3) 小松知子: 総論 I 章.3.2). 老年症候群・フレイル. pp.5-8. 佐藤裕二 [ほか] 編集主幹: よくわかる高齢者歯科学. 永末書店, 京都, 2018.

(4) 小松知子, 李昌一: 「災害時の歯科診療 災害時の摂食嚥下サポートと栄養管理について」新潟大学医学部災害医療教育センター E-learning教材, 2017.

(5) 小松知子: 編 1 章 歯科治療時の工夫 1-概要 pp239-240 / 小松知子, 2 章 スペシャルニーズ別の支援 1-知的能力障害のある人への支援. pp269-270 . 日本障害者歯科学会編: スペシャルニーズデンティストリー障害者歯科. 第 2 版, 医歯薬出版, 東京, 2017.

(6) 小松知子: 第 2 章 知的能力障害 . pp40-43 / 小松知子: 第 5 章 障害者・有病者に対する歯周治療 (症例) 2) -②エーラス・ダンロス症候群. pp . 91-93 . / 小松知子: 第 5 章 障害者・有病者に対する歯周治療 (症例) 6) -④脳性麻痺. pp . 105-106 . / 小松知子: 第 5 章 障害者・有病者に対する歯周治療 (症例) 7) -⑤てんかん. pp . 107-110 . / 小松知子: 第 5 章 障害者・有病者に対する歯周治療 (症例) 18) -①ダウン症候群. pp . 143-146 . 長田 豊, 和泉雄一監・著: Periodontics for Special needs patients 障害者・有病者の歯周治療. 第 1 版 . デンタルダイヤ

モンド社，東京，2017．

(7) 小松知子、李昌一：第三章 ドライシンドローム医学の基礎 酸化ストレスとドライシンドローム．pp.106-112. 坪田一男，斎藤一郎監修：ドライシンドロームの基礎と臨床．第1版，メディカルレビュー社，大阪，2016.

## 6．研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：小松 知子

ローマ字氏名：Komatsu Tomoko

所属研究機関名：神奈川歯科大学

部局名：大学院歯学研究科

職名：講師

研究者番号(8桁)：20234875

研究分担者氏名：李 昌一

ローマ字氏名：Lee Masaichi

所属研究機関名：神奈川歯科大学

部局名：大学院歯学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：60220795

研究分担者氏名：小野塚 實

ローマ字氏名：Onozuka Minoru

所属研究機関名：神奈川歯科大学

部局名：歯学部

職名：名誉教授

研究者番号(8桁)：90084780

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。