

平成 2 2 年 4 月 27 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19791211

研究課題名（和文）IGF-1 の下咽頭収縮筋内投与による加齢に伴う嚥下機能低下の予防に関する研究

研究課題名（英文）A Study about the Protection of Functional Deterioration of Deglutition Decline with the Aging by the Hypopharyngeal Constrictor Muscle dosage of IGF-1

研究代表者

田口 亜紀（TAGUCHI AKI）

愛媛大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：00380238

研究成果の概要（和文）：加齢ラットの下咽頭収縮筋に神経栄養因子のひとつである IGF-1 を投与し、嚥下関与筋の神経下装置の観察を行うことで、嚥下機能低下の予防効果を検討した。輪状咽頭筋においては IGF-1 を投与しなかった加齢群においては陥凹型が 63.4% だったのに対し、IGF-1 投与群では 60% とわずかに減少していたが大差はなかった。加齢群と比較して IGF-1 投与加齢群では未熟な神経下装置が加齢群より多く散見された。また一次シナプスの溝より外側に二次シナプスが観察された神経下装置を約 27% に観察できた。

研究成果の概要（英文）：We studied about the protection of functional deterioration of deglutition decline by IGF-1. In the present study, aging effects in the subneural apparatus (SNA) were histologically investigated in the inferior pharyngeal muscle of a rat using scanning electron microscopy. In the cricopharyngeal muscle, the depression type of the primary synaptic clefts were 63.4%, while the IGF-1 dosage group were 60%. There was more it than aging group, and an unripe nervous system bottom device appeared in the group of IGF-1 dosage aging in comparison with the aging group. In addition, about 27% were able to observe the nervous system bottom device that a secondary synapse was observed outward from the ditch of the primary synapse.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	0	2,100,000
2008 年度	500,000	150,000	650,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	360,000	3,660,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 耳鼻咽喉科学

キーワード：下咽頭収縮筋、加齢、神経栄養因子、嚥下機能予防低下

1. 研究開始当初の背景

近年、高齢者の死因の一つとして嚥下性肺炎が注目されている。高齢者社会を迎えた現在、高齢者における嚥下障害発症メカニズムの解明とその対策は急務である。加齢に伴う嚥下機能の低下の原因としては、様々なものが考えられているが、そのメカニズムについては不明な点も少なくない。国内でも様々なアンチエイジングの研究が近年積極的に行われるようになってきた今、嚥下に関する筋の加齢による機能低下に着目して、形態学的側面からアプローチを行ってきた。その過程において嚥下関与筋、特に下咽頭収縮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た。そこで本研究は、加齢による嚥下機能の低下予防として神経栄養因子(IGF-1)を下咽頭収縮筋に投与し、機能障害の予防が可能ならば高齢者の嚥下障害の治療法の開発につながると考えている。

2. 研究の目的

加齢ラットの下咽頭収縮筋に神経栄養因子のひとつである IGF-1 を投与し、嚥下関与筋の神経下装置の観察を行うことで、嚥下機能の予防効果を検討する。

3. 研究の方法

1) 下咽頭収縮筋の組織学的検討

加齢群には 24 ヶ月齢のラットを用いる。ペントバルビタールにて安楽死処置後、生物顕微鏡を用いて下咽頭収縮筋を一塊に摘出し、液体窒素内で冷却したイソペンタンに浸し、急速凍結固定する。クリオスタット内で厚さ

12 μ m の連続横断切片を作成する。myosin ATPase 染色を行って、顕微鏡用デジタルカメラシステムを用いて甲状咽頭筋、輪状咽頭筋の切片を撮影し、各筋の筋線維をタイプ 1、2A、2B、2C に分類して、筋線維タイプ構成比を算出し、成熟群と加齢群での構成比の違いを検討する。

2) 下咽頭収縮筋神経下装置の観察

加齢群として 24 ヶ月齢のラットにペントバルビタールを腹腔内投与し、安楽死処置後、速やかに喉頭、下咽頭収縮筋、頸部食道を一塊に摘出し、実体顕微鏡下に両側の甲状咽頭筋・輪状咽頭筋を採取。筋をリン酸緩衝グルタルアルデヒドに浸漬固定した後、1% オスミウム酸にて 30 分間後固定。次いで 8N 塩酸で 30 分処理し、筋内結合組織を除去する。続いて、脱水、臨界点乾燥し、白金蒸着した後、走査型電子顕微鏡(日立 S-800A)で筋線維上に存在する神経下装置の 1 次シナプスおよび 2 次シナプスの形状を観察する。神経下装置の走査型電子顕微鏡画像をパーソナルコンピュータに取り込み、画像解析ソフトを用いて 2 次シナプス面積と 1 次シナプス面積の比、及び 2 次シナプスの幅と長さの比を算出する。成熟群と比較し、加齢群において迷路型、陥凹型の形態の変化について検討する。

3) IGF-1 投与モデルの作成

ラットは加齢群として 24 ヶ月齢を用いた。まず、IGF-1 投与モデルを作成した。

神経栄養因子 IGF-1 を持続的に 2 週間投与するために DDS を用いた。2 週間後、ペント

バルビタールにて安楽死処置後、速やかに生物顕微鏡にて喉頭、下咽頭、頸部食道を一塊として摘出し、実体顕微鏡下に両側の甲状咽頭筋および輪状咽頭筋を採取した。採取した筋は3%リン酸緩衝グルタールアルデヒドにて固定後、1%オスミウム酸にて後固定した。次いで塩酸加水分解法に従って筋内結合組織を除去し、脱水、乾燥、白金蒸着後に走査型電子顕微鏡で神経筋接合部に属する神経下装置の観察を行った。

4. 研究成果

加齢群として24ヶ月齢のウィスター系ラットを用いた。

1) 下咽頭収縮筋神経下装置の観察：走査型電子顕微鏡を用いて神経下装置の観察を行った。

1次シナプス間隙は、甲状咽頭筋の成熟群では迷路型が76.3%と多数を占めたのに対し、加齢群では陥凹型が72.5%を占め、構成比率が逆転した。輪状咽頭筋の成熟群では陥凹型が68.4%と優位であり、加齢群においても陥凹型が多くを占め、成熟群と加齢群で構成比率に有意差はなかった。両筋の成熟群・加齢群の陥凹型では、浅い1次シナプス間隙と、少数で浅い2次シナプス間隙を有する神経下装置が、特に輪状咽頭筋にて観察された。このような神経下装置の筋線維径は小さく、神経再生過程にある未熟な神経下装置および筋線維と考えられた。

2) 下咽頭収縮筋の組織学的検討：、myosin

ATPase染色を行って、甲状咽頭筋、輪状咽頭筋の筋線維を分類し、各筋ごとに筋線維タイプ構成比を算出し、成熟群と加齢群での構成比の違いを検討した。甲状咽頭筋および輪状咽頭筋ともに筋線維はタイプ a、b、c線維に分類された。甲状咽頭筋の成熟群ではタイプ b線維が大半を占め、タイプ a線維は少数であった。タイプ c線維はほとんど認めなかった。加齢群ではタイプ b線維の割合が成熟群より減少し、タイプ c線維が3.1%と増加した。

輪状咽頭筋の成熟群でもタイプ b線維が約半分を占め優位であったが、タイプ a線維の割合は甲状咽頭筋よりも高かった。加齢群ではタイプ b線維が減少し、タイプ a線維が過半数を占めたが、加齢による筋線維タイプ構成の変化は甲状咽頭筋より少なかった。タイプ c線維は成熟群・加齢群ともに6.5%でいずれも甲状咽頭筋より多かった。

3) IGF-1投与モデルの作成

輪状咽頭筋においてはIGF-1を投与しなかった加齢群においては陥凹型が63.4%だったのに対し、IGF-1投与群では60%とわずかに減少していたが大差はなかった。加齢群と比較してIGF-1投与加齢群では未熟な神経下装置が加齢群より多く散見された。また一次シナプスの溝より外側に二次シナプスが観察された神経下装置を約27%に観察できた。甲状咽頭筋においては筋の結合織がうまく分解されず、観察できた神経下装置の一次シナプスの

形態は、迷路型、陥凹型それぞれ観察可能ではあったが少数で検討不能であった。

以上のことより、加齢ラットの輪状咽頭筋においては IGF-1 投与により筋線維の remodeling がより活発に行われているのではないかということが示唆された。よって加齢予防として IGF-1 投与することは有効な手段であることが示唆された。

今回は一次シナプスと二次シナプスの検討のみであった。今後、もう少し個体数を増やして甲状咽頭筋、輪状咽頭筋の両者の比較検討をすることと、定量的検討や筋線維タイプ構成の変化などを比較検討したい。

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1件)

Hyodo M, Taguchi A, Yamagata T, Desaki J. A complex muscle fiber network in the cricothyroid muscle: a scanning electron microscopic study. Laryngoscope 査読有、117, 2007, 600-603.

6. 研究組織

(1)研究代表者

田口 亜紀 (TAGUCHI AKI)

愛媛大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：00380238