

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23049

研究課題名（和文）胃食道逆流による咀嚼・嚥下変調機序の解明

研究課題名（英文）Neural mechanisms of modulation of mastication and swallowing following gastroesophageal reflux

研究代表者

吉原 翠（Yoshihara, Midori）

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：70882330

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は咽喉頭の持続酸刺激に伴って生じる浮腫と嚥下誘発の変調との関連を明らかにすることを目的とした。TRPV1受容体は酸刺激に反応しNK1受容体を介して神経原性炎症による浮腫を誘発することが知られるため、両受容体に着目した。実験には麻酔ラットを用いた。NK1ブロッカー単独投与は喉頭機械・化学刺激誘発嚥下に影響しなかった。喉頭持続TRPV1刺激後、機械刺激誘発嚥下はブロッカー投与群と対象群で差がなく、喉頭エバンスブルー溶出量も同様だった。よって、NK1ブロッカー投与はTRPV1活性化に伴う喉頭浮腫を抑制しなかった。本結果が喉頭領域特異的であるか他の領域と比較検討していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は咽喉頭の持続酸刺激に伴って生じる浮腫と嚥下誘発の変調との関連を明らかにすることを目的として、動物を対象に行われた。実験の結果、NK1受容体の阻害は機械刺激・化学刺激誘発嚥下に影響しないことが示唆された。

一方で、NK1ブロッカー投与によりTRPV1活性化に伴う喉頭浮腫は抑制されなかった。神経原性炎症により活性化される受容体にはNK1受容体の他、CGRP受容体やNK2、NK3受容体が知られており、喉頭浮腫の形成には上記の受容体が寄与する可能性がある。なお、本研究ではNK1ブロッカー投与による喉頭浮腫の抑制が生じなかったため、喉頭浮腫が嚥下誘発に与える影響については検証の余地がある。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to clarify the relationship between edema induced by sustained acid stimulation of the laryngopharynx and modulation of swallowing induction. Since TRPV1 receptors are known to respond to acid stimulation and cause edema due to neurogenic inflammation via NK1 receptors, we focused on both receptors. NK1 blocker administration did not affect laryngeal mechanical and chemical stimulation-induced swallowing in anesthetized rats. After continuous TRPV1 stimulation to the larynx, the number of mechanical stimulation-induced swallows did not differ between the blocker and the subject groups, nor did the amount of Evans blue eluted from the larynx differ between the two groups. The laryngeal edema associated with TRPV1 activation was not suppressed by NK1 blocker administration. We will compare our results with those of other regions to determine whether our findings are specific to the laryngeal region or not.

研究分野：嚥下障害学

キーワード：胃食道逆流症 摂食嚥下障害 口腔生理学

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会となった日本において、高齢者を中心とする医療や介護の需要の増加が見込まれている。高齢者の主たる死亡原因のひとつは肺炎であり、中でも摂食嚥下機能の低下に伴う誤嚥性肺炎の発症率は加齢とともに増加している。

誤嚥性肺炎の病因は嚥下障害に伴う下気道感染によるものである。Satou らは胃食道逆流症 (GERD) 患者において誤嚥性肺炎の発症率が高いと報告しているものの、誤嚥性肺炎の発症機序については不明な点が多い (Satou et al., 2013)。胃酸を含む刺激物の曝露が末梢・中枢において生体にどのような変化を与えるのかを明らかにすることは、GERD 患者における誤嚥性肺炎の予防・治療推進のために欠かせない課題である。

胃酸の主成分は塩酸であり、温度感受性 TRP チャンルの一つである TRPV1 を活性化する。TRPV1 は酸刺激の他、香辛料の成分であるカプサイシンに反応し、喉頭の TRPV1 刺激は嚥下反射を誘発する (Tsujiura et al., 2017)。申請者は過去の研究で、喉頭への 60 分間のカプサイシン持続刺激により嚥下反射が惹起されるが、5 分以内に嚥下誘発効果が消失すること、持続刺激後には咽喉頭のエアフローによる機械刺激誘発嚥下が低下することを報告した (Yoshihara et al., 2020)。このことから咽喉頭領域の持続的な TRPV1 活性化により嚥下誘発変調が生じることが示唆された。

また、TRPV1 刺激はサブスタンス P の放出を誘導し、NK1 受容体の活性化をもたらすことで血管透過性を亢進し、浮腫を誘発することが報告されている (Geppetti et al., 2006)。

慢性的に咽喉頭領域の TRPV1 活性化が生じていると考えられる GERD 患者では喉頭浮腫の併発が多く (Vaezi et al., 2003)、喉頭浮腫と嚥下障害のある GERD 患者では咽喉頭の機械刺激に対する応答が低下するという報告がある (Aviv et al., 2000)。

申請者の過去の研究では咽喉頭領域への持続的なカプサイシン刺激が機械刺激誘発嚥下を抑制するのみならず、喉頭浮腫を誘発することを示しており、浮腫が嚥下誘発の変調に関連する可能性が考えられた。

しかし、喉頭浮腫と嚥下誘発に直接的な因果関係があるかはわかっていない。

## 2. 研究の目的

本研究は麻酔下ラットを対象として、咽喉頭酸逆流によって生じる嚥下誘発の低下のメカニズムを検討するために、咽喉頭の持続酸刺激に伴って生じる浮腫と嚥下誘発の変調との関連を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 記録方法

実験には SD 雄性ラット (7-9 週齢) を用いた。ウレタン麻酔下 (1.3g/kg, i.p.) で、頭頸部領域を正中切開し、左側甲状舌骨筋および顎二腹筋に電極を留置して筋電図記録を行った。また、気管切開および喉頭切開を行った。試薬の全身投与のため、大腿静脈にカニューレを挿入した。嚥下誘発方法として、以下の刺激を用いた。1) フォンフライ式フィラメントを用いた機械刺激 2) 気管から喉頭へのエアフロー機械刺激 3) 蒸留水を用いた化学刺激。さらに、咽喉頭領域の持続的な TRPV1 活性化を目的に、喉頭切開部より咽喉頭から気管領域にかけてカプサイシンを 60 分間持続投与した。窒息を防ぐため、気管にカニューレを留置して分泌物を回収した。嚥下の同定には甲状舌骨筋および顎二腹筋の筋活動電位を用いた。

### (1) NK1 ブロッカー投与によるカプサイシン持続刺激誘発嚥下の変調についての検証

NK1 ブロッカー SR140333 を大腿静脈より投与、その 20 分後に咽喉頭領域へカプサイシンを 60 分間持続投与し、誘発嚥下回数を計測した。嚥下回数は SR140333 投与群および対象群で比較した。

### (2) NK1 ブロッカー投与による機械・化学刺激誘発嚥下の変調についての検証

SR140333 の投与前、投与 20 分後、およびカプサイシン 60 分間投与後にそれぞれフォンフライ式フィラメント、蒸留水およびエアフロー刺激を行って誘発嚥下回数を計測した。NK1 ブロッカー投与およびカプサイシン持続刺激による嚥下の変調について検証した。

### (3) NK1 ブロッカー投与による喉頭領域の血管透過性亢進についての検証

SR140333 の喉頭血管透過性への影響について調べるため、カプサイシン持続投与後、エバンスブルーを大腿静脈より全身投与した。投与後に喉頭を摘出、吸光度を計測し、喉頭のエバンスブルー溶出量を算出した。

#### 4. 研究成果

##### (1) NK1 ブロッカーによるカプサイシン刺激誘発嚥下への影響

60 分間のカプサイシン持続刺激において，SR140333 投与群，対象群ともに開始 5 分以内に多くの嚥下が生じ，5 分以降はほとんど嚥下を生じなかった．両群でカプサイシン持続刺激誘発嚥下回数に有意差を認めなかった（図 1）．

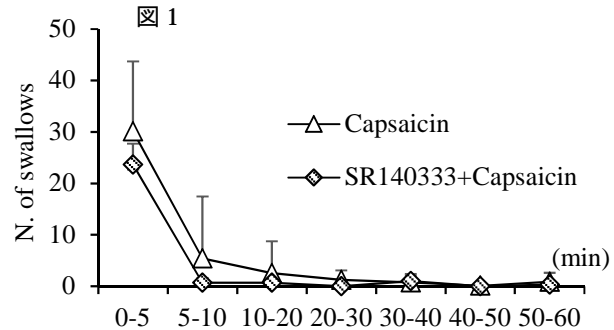
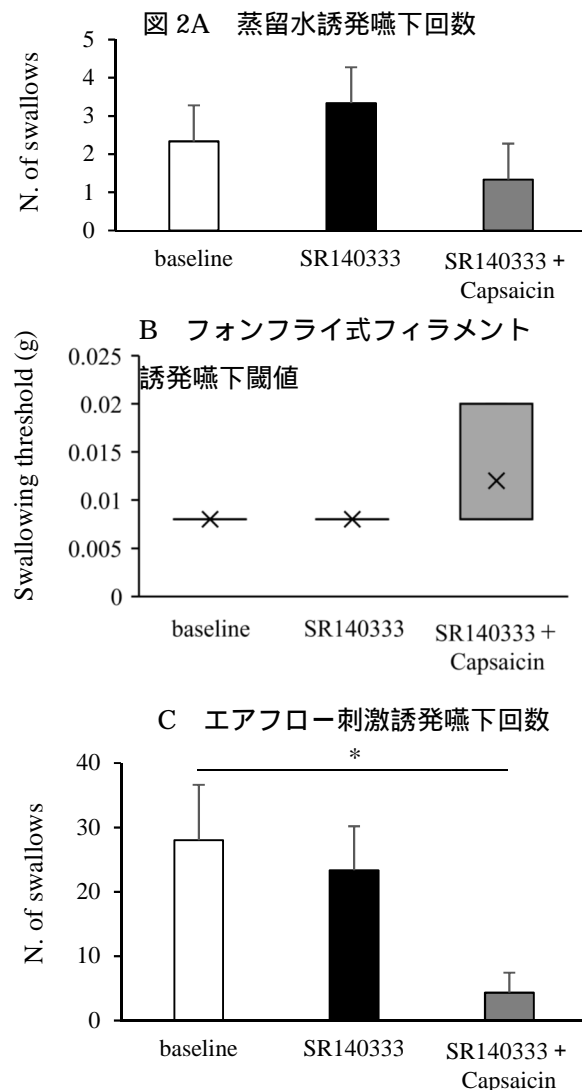


図 1 60 分間の喉頭カプサイシン持続刺激誘発嚥下回数の経時変化 .カプサイシン誘発嚥下回数は刺激開始 5 分後には大きく減少し，SR140333 (NK1 ブロッカー) 投与による影響を認めなかった .

##### (2) NK1 ブロッカーによる機械・化学刺激誘発嚥下閾値への影響

SR140333 投与前，SR140333 投与 20 分後，60 分間のカプサイシン持続刺激後にそれぞれフォンフライ式フィラメント，蒸留水およびエアフロー刺激誘発嚥下閾値を計測した．フォンフライ式フィラメント誘発嚥下閾値および蒸留水誘発嚥下回数はいずれも差がなく，SR140333 投与前後およびカプサイシン持続刺激による影響を受けなかった．一方で，エアフロー刺激誘発嚥下回数は SR140333 投与による影響を受けないものの，カプサイシン持続刺激後に有意に減少した（図 2）．

図 2 . NK1 ブロッカー投与前後およびカプサイシン持続刺激後の化学刺激，機械刺激誘発嚥下閾値の変化 . 蒸留水誘発嚥下は SR140333 (NK1 ブロッカー) 投与およびカプサイシン持続刺激により回数の変化は見られず (A)，フォンフライ式フィラメント誘発嚥下閾値も同様だった (B) . エアフロー刺激誘発嚥下回数は SR140333 投与による影響を認めなかったがカプサイシン持続刺激後に嚥下回数が有意に減少した (C) .



### (3) NK1 ブロッカーによるカプサイシン誘発性喉頭血管透過性亢進への影響

SR140333 投与群と対象群で喉頭の EB 溶出量は有意な変化を示さず，NK1 ブロッカーにより喉頭浮腫は抑制されなかった (図 3)。

TRPV1 受容体の活性化による浮腫の誘発については多数の報告があるが，マウスにおいて，NK1 ブロッカーの静脈投与により耳朶のカプサイシン誘発性浮腫が抑制されることが報告されている (Laird et al., 2001). 今後は本実験結果が咽喉頭領域に特異的であるか否か，耳朶領域と比較検討する予定である．また，Amann らはラットを用い，ヒスタミンが TRPV1 受容体を通じて浮腫を誘発すること，さらに，ヒスタミン誘発性の下肢の浮腫は NK1 ブロッカーではなく CGRP ブロッカーにより抑制されることを報告している (Amann et al., 1995). すなわち，浮腫の誘発には組織特異性があるかもしれない．

よって，サブスタンス P 以外の血管透過性亢進作用をもつ物質について，喉頭浮腫への関与を検証する必要があると考える．

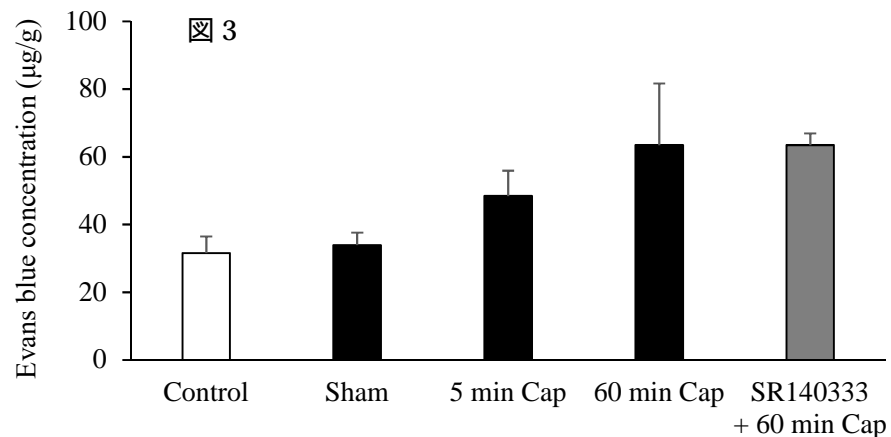


図 3. カプサイシン持続刺激後の喉頭エバンスブルー漏出量．

60 分間のカプサイシン持続刺激後 (60 min Cap) では投与前 (Control) や喉頭切開のみ行った群 (Sham) よりも喉頭エバンスブルー (EB) 漏出量が多くなる傾向があった．それは SR140333 前投与 (SR140333 + 60 min Cap 群) によって，変わりなかった．

当初は慢性 GERD モデル動物を作成し，咽喉頭から食道領域における酸逆流によって，嚥下誘発及び咀嚼運動がいかなる変調を受けるか検証する予定であったが，モデル動物作成が上手くいかなかった．そのため，咽喉頭領域の TRPV1 持続活性化による喉頭浮腫形成と嚥下誘発変調の関連について検討を行った．実験結果から，咽喉頭領域のサブスタンス P の作用を抑制しても，化学刺激および機械刺激誘発嚥下に影響がないことが示された．

NK1 ブロッカー投与により TRPV1 活性化に伴う喉頭浮腫は抑制されなかったため，喉頭浮腫が嚥下誘発に与える影響を評価できていない．

今後は過去の文献を参考に，喉頭以外の部位での NK1 ブロッカーによる浮腫の抑制について検討し，NK1 ブロッカーの全身投与の効果および EB を用いた実験手技について検証を行う．

さらに，CGRP やニューロキニン A，ニューロキニン B といった他の神経ペプチドの影響についても調べていく予定である．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsuji Kojun, Tsujimura Takanori, Sakai Shogo, Suzuki Taku, Yoshihara Midori, Nagoya Kouta, Magara Jin, Satoh Yoshihide, Inoue Makoto	4. 巻 319
2. 論文標題 Involvement of capsaicin-sensitive nerves in the initiation of swallowing evoked by carbonated water in anesthetized rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G564 ~ G572
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpgi.00233.2020	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6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takanori Tsujimura, Midori Yoshihara, Kouta Nagoya, Jin Magara, Makoto Inoue
2. 発表標題 Capsaicin-sensitive nerves are involved in the initiation of swallowing evoked by carbonated water in anesthetized rats.
3. 学会等名 Dysphagia Research Society Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kouta Nagoya, Takanori Tsujimura, Midori Yoshihara, Makoto Inoue
2. 発表標題 Physiological analysis of swallowing impairment caused by chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in rats.
3. 学会等名 Dysphagia Research Society Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉原 翠, 那小屋公太, 辻村恭憲, 井上 誠
2. 発表標題 麻酔下ラットにおけるAMPA受容体ポジティブアロステリックモジュレーターによる嚥下および呼吸の変調効果.
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嚥下医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 那小屋公太, 辻村恭憲, 吉原 翠, 井上 誠
2. 発表標題 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) モデルラットにおける嚔下動態の生理学的解析 .
3. 学会等名 第44回日本嚔下医学会総会ならびに学術講演会嚔下医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉原 翠, 那小屋公太, 辻村恭憲, 井上 誠
2. 発表標題 麻酔下ラットにおけるAMPA受容体ポジティブアロステリックモジュレーターによる嚔下誘発への効果 .
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 那小屋公太, 辻村恭憲, 吉原 翠, 井上 誠
2. 発表標題 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) に起因する嚔下機能低下の生理学的検証 .
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
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
---------	---------