

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11188

研究課題名（和文）中枢性筋萎縮症における嚥下障害とその改善

研究課題名（英文）The study of dysphagia on spinal muscular atrophy mouse models

研究代表者

立谷 大介（Tachiya, Daisuke）

東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：20814263

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、中枢性筋萎縮症のモデル動物としてspinal muscular atrophy mouse modelsを使用してその影響を形態的に解析した。2種類のモデル動物を精査した結果、重症モデルでは三叉神経節の大型ニューロンに変性が生じ、小型から中型のニューロンについては分布に変化がみとめられなかった。これらの結果から、中枢性筋萎縮症モデル動物ではその種類によって異なる症状を示し、三叉神経節の大型ニューロンに変性が生じこれらの粘膜における感覚の伝達が障害され、摂食困難をもたらすと推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、中枢性筋萎縮症としてSMNマウスを二種類使用し口腔咽頭領域を精査した。その結果、同じ脊髄性筋萎縮症をターゲットにしたモデル動物であっても、遺伝子異常の発現の差により、病症が異なることが明らかになった。特に、重症型モデルマウスでは三叉神経節において大型のニューロンが減少することから、これらの異常により、摂食困難症状や嚥下障害が発生している可能性が推測された。特に大型のニューロンが減少していることから、感覚系に異常が生じていることとそれに付随する摂食嚥下機能に影響していることが考えられる。これらを改善することができれば嚥下機能の改善につながるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Histochemical and immunohistochemical methods were performed on two different spinal muscular atrophy mouse models. One model showed, the number of trigeminal ganglion neurons were decreased. There was a paucity of sensory neurons with medium-sized to large cell bodies. These findings suggest that the different severity of disease in the two mouse models have different effects on the trigeminal ganglion during developmental stages.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：摂食嚥下障害

## 1. 研究開始当初の背景

嚥下機能は現在の超高齢社会において生活を営む上で、重要な機能の1つである。嚥下機能が損なわれると、食事摂取量の低下や、低栄養状態、脱水を喚起し、誤嚥性肺炎の原因ともなる。現代の超高齢化社会においては種々の疾患により嚥下障害が生じており、それが長期間に及ぶことで生活の質(QOL)が低下している。さらには、嚥下障害が長期化することにより、誤嚥が生じ肺炎を発症することもあり、それが死因となってしまうこともある。嚥下障害に対する対応として、臨床的には摂食・嚥下機能を改善させる方法として、ペースト食の利用や摂取ペース管理のほか、味覚や嗅覚刺激を利用する方法など幅広い方法が用いられている。しかしながら、抜本的な治療法の確立や嚥下発症メカニズムの解明はされていない。そこで、本申請者らは、これまでに口腔・咽頭領域を支配する知覚神経に注目し、逆行性トレーサーを用いて、支配ニューロンの役割について報告してきた。

一方で、中枢性筋萎縮症を含む多くの運動障害性疾患では嚥下障害が発症しているが、その病態には不明な点が多い。そこで、本申請者らは様々な疾患についてその病状について研究してきた。そのひとつに、脊髄性筋萎縮症(Spinal Muscular Atrophy)があげられる。この病気は難病の一つであり、発症する時期によりI~IV型に分類されている。乳幼児期に発症するI型やII型では筋の発達遅滞がみられ、四肢の筋肉も発達しにくいことが知られている。頭頸部においては、摂食障害や嚥下障害が起こることが知られているが、その病状や原因については解明されておらず、治療法も未だ確立していない。近年の研究により、いくつかの原因遺伝子が発見され、遺伝子改変した脊髄性筋萎縮症モデル動物(SMNマウス)が数種作られている。本申請者らは、SMNマウスの一つを用い、三叉神経系に異常が発生していることを見つけたが、詳細な分析はできていない。本研究では、SMNマウスを用いて詳細に解析するとともに他のSMNモデルマウスを用いて比較することで、原因の究明・治療法の確立やヒトへの応用にもつながると考えられた。

現代社会の超高齢化による嚥下機能の異常や脊髄性筋萎縮症における嚥下障害が大きな問題であることから、いくつかの種類SMNマウスを用いて、嚥下機能に関わる筋並びに感覚神経や運動神経の異常を詳細に解明することで嚥下障害の原因を究明することができると考えられる。さらには、現在行われている、ペースト食の利用や摂取ペースの管理ならびに味覚、嗅覚、温度感覚など各種感覚刺激を行うことで、嚥下障害を軽減できると考えられた。

## 2. 研究の目的

本申請における学術的な特色は

- ・ SMNマウスの嚥下異常に着目し解析を行う点
- ・ 数種類のSMNモデルマウスを使用し嚥下異常に着目し解析を行い比較する点
- ・ 味覚、嗅覚、温度刺激などの各種感覚刺激を組み合わせて嚥下異常を軽減させる条件を検討できる点

があげられる。本研究は上記のようにSMNモデルマウスを使用し、脊髄性筋萎縮症の嚥下異常に着目した研究であり、このモデルマウスを数種類用いて比較検討することで病状の解明や嚥下機能障害の改善を目的とした研究である。これまで十分に解明されていなかった脊髄性筋萎縮症における嚥下機能に対する病的変化の影響、また嚥下機能に対する各種感覚刺激の改善効果を評価することができる点にこの研究の大きな意義があると考えられた。さらなる応用研究が進むと、筋萎縮症や筋失調症における嚥下異常の改善にとどまらず、他疾患や高齢者における嚥下機能低下への治療応用にも繋がるのが想定される。近年特に問題になっている難病や超高齢社会への対応という観点からも基礎的、臨床的な意義にとどまらず、医療、介護の分野に至るまで社会的意義は非常に大きいと思われた。

## 3. 研究の方法

本研究では数種類の脊髄性筋萎縮症モデルマウス、並びにそれぞれのコントロールマウスを用いて、嚥下にかかわる筋萎縮と機能を解析する。具体的には、嚥下にかかわる筋を採取し、組織切片を作成し、免疫染色にてタンパク、レセプターや神経伝達物質の発現を解析する。次に、嚥下に関わると考えられる咽頭周囲の感覚神経に注目し、末梢神経終末の分布や形状異常につい

て検討した。感覚刺激に関連があると思われる TRPV1 (カプサイシン受容体)、TRPV2 (圧受容体)、TRPV4 (温刺激受容体)、TRPM8 (冷刺激受容体) を有する知覚神経について免疫染色し、その分布状態を調査した。さらには、それらの運動を支配或いは感覚調整する延髄や脳神経系の神経節における神経細胞の変性を確認する。

#### 4. 研究成果

本研究は、脊髄性筋萎縮症患者における嚥下障害の原因究明とその改善を目指す目的で行われている。そのモデル動物として脊髄性筋萎縮症モデルマウスを2種類比較検討した。どちらのモデルマウスも、生後3週以内に死亡してしまうモデルマウスであり、長期間生存することが困難である。一つ目のモデルである重症型モデルマウスは、生後1週間以内に死亡してしまうモデルである。この重症型モデルマウスを使用し、ワイルドタイプマウスと比較したところ、三叉神経節では感覚ニューロンが約30%減少していた。特に重症型モデルマウスの三叉神経節では大型のニューロンが明らかに減少していた。さらに咽頭及び喉頭、特に喉頭蓋における粘膜の上皮下及び上皮内の感覚神経にも SMN マウスでの減少が認められた。二つ目のモデルである中等度のモデルマウスでは、生後2週間程度生存するモデルを利用した。こちらのモデルマウスでは、ワイルドタイプマウスに比べ肉眼的な大きさに変化が見られず、三叉神経節ニューロンの総数にも変化が見られなかった。二つの異なる脊髄性筋萎縮症モデルマウスを比較したところ、重症型モデルマウスでのみ三叉神経節ニューロンの総数に変化がみられ、特に大型のニューロンに影響が出ていることが明らかとなった。しかしながら、全体的に小型化している可能性と大型のニューロンが特異的に減少している可能性のどちらも考えられるため、さらなる解析をおこなった。

つづいて、三叉神経節ニューロンを用いて感覚刺激に関連があると思われるタンパクや受容体についてその分布を検討した。本研究では、カプサイシンに対する受容体として知られており、ほかに酸や42℃を超える高温に対する受容体でもある Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)、痛みに反応する神経伝達物質として知られている Calcitonin gene related peptide (CGRP) など、三叉神経節ニューロンの感覚刺激に関連する物質に対する各種抗体を用いて免疫染色を実施し、三叉神経節ニューロンにおける発現を脊髄性筋萎縮症モデルマウスとコントロールマウスで比較検討した。その結果、中等度のモデルマウスではとくに大きな変化は認められなかった。しかしながら、重症型モデルマウスを精査したところ、主に小型のニューロンに分布する CGRP 陽性ニューロン数には影響がみられなかったが、中型から大型のニューロンに発現することが知られているタンパクでは陽性ニューロンの数が優位に減少していた。これらの所見から、脊髄性筋萎縮症モデルマウスのうち、重症型モデルマウスでは大型のニューロンに変性が発現し、三叉神経節ニューロンのトータル数が減少していることが明らかになった。中等度ならびに重症型モデルマウスでそれぞれ解析することにより、同じ脊髄性筋萎縮症をターゲットにしたモデル動物であっても、遺伝子異常の発現の差により、病症が異なることが明らかになった。特に、重症型モデルマウスでは三叉神経節において大型のニューロンが減少することから、これらの異常により、摂食困難症状や嚥下障害が発生している可能性が推測された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tadasu Sato, Kenichiro Shimazaki, Takehiro Yajima, Daisuke Tachiya, Yves De Repentigny, Rashmi Kothary, Hiroyuki Ichikawa
2. 発表標題 The trigeminal ganglion in spinal muscular atrophy mouse models (Smn2B/- and Smn-/-;SMN2,)
3. 学会等名 Neuroscience 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究分担者	佐藤 匡  (Sato Tadasu)  (40637964)	東北大学・歯学研究科・講師    (11301)	

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
---------	---------