

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17487

研究課題名（和文）嚥下障害のメカニズム解明と治療法開発：運動失調症モデルマウスを用いた検討

研究課題名（英文）Evaluation and development of treatment for dysphagia

研究代表者

矢島 健大（Yajima, Takehiro）

東北大学・歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：40779550

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：嚥下機能は、感覚神経からの情報が運動ニューロンへ伝わり、口腔周囲の筋が収縮することで役割をはたしている。この過程で異常があると嚥下障害が発症する。本研究では嚥下障害のメカニズム解明のためにジストニンノックアウトマウスを対象とした。嚥下に関わる頭頸部の筋組織に萎縮が認められた。また、各種組織によって末梢神経の分布密度が異なることが示唆された。ジストニンノックアウトマウスの耳下腺や口腔咽頭粘膜では神経線維の分布密度が低かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

嚥下障害は超高齢社会における重要な社会的課題であり、その詳細な病態究明や効果的な予防法・治療法の開発が求められている。本研究では運動失調症モデルマウスを用いた嚥下障害のメカニズム解明を進め、原因の可能性となる評価対象の同定を行った。今後は生理学的な評価やヒトを対象とした研究に応用することで、運動失調症のみならず、加齢や他の疾患によっても生じる嚥下機能の低下に対する予防や治療にも広く応用可能な学術的・社会的意義の高い研究成果であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The swallowing function is begun when stimulation of sensory nerves is transmitted to motoneurons, and muscles contraction. In this study, to elucidate the mechanism of dysphagia, one of the motor disorders mouse model were used. In this mouse model, atrophy was observed in the muscles of head and neck. The density of nerve fibers were decrease in parotid gland and oral mucosa.

研究分野：歯学

キーワード：嚥下障害

1. 研究開始当初の背景

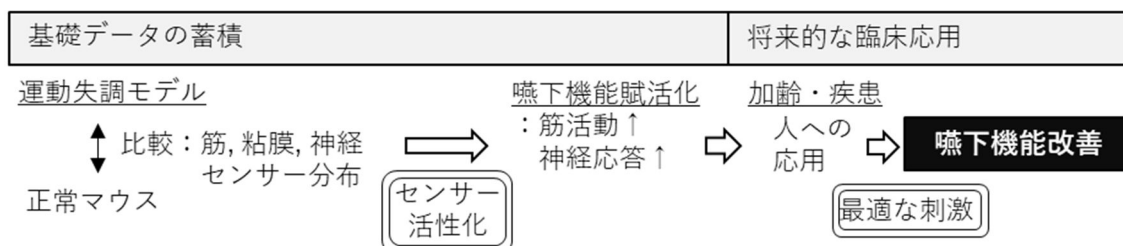
嚥下機能は現代の超高齢化社会において健康的な生活を営む上で、あるいは生活の質(QOL)の向上という点からも重要な機能の1つである。嚥下機能の低下により、食事摂取量の低下から低栄養状態や脱水を惹起し、日本人全体の死亡原因の第6位である誤嚥性肺炎の原因ともなり得る。嚥下障害を有する患者に対しては、摂食嚥下リハビリテーションが多職種連携のもとに行われているが、これらは誤嚥性肺炎の予防にもつながる。嚥下機能を保持し改善することはQOLを維持し健康寿命を延伸する大きな手段であると考えられ、その障害の原因究明や機能回復は社会的に重要な意義を持っている。

嚥下運動には口腔・咽頭などの末梢部位からの感覚情報ならびに、口腔・咽頭・喉頭に分布する筋の運動情報が関与しており、これらは大脳や脳幹部において調整されている。運動障害性疾患では、これらの異常により摂食嚥下が困難となることが知られている。運動障害性疾患は多くの病気が存在し、それぞれの病気によって原因が異なり、あらわれてくる病状も異なっている。運動障害性疾患では筋の萎縮や神経の障害により徐々に全身の様々な筋が動かなくなってくるが、腕や手や足といった病状がはっきりわかりやすく見えやすい部位だけでない。とくに、嚥下機能は口腔内の筋や咽頭・喉頭周囲の筋であるため外からわかりづらく、周囲の人だけではなく本人にも、筋が動きにくくなっている状態が発見しづらく、病気の進行が理解しづらいのが現状である。さらに、嚥下機能は食べ物を飲み込むという機能であるため、食事の際に多少嚥下しづらくても、工夫して飲み込むことで食事が出来てしまうため、初期の嚥下障害では周囲からは気が付きにくいことも考えられる。そのため、誤嚥がおこるなどのわかりやすい嚥下障害の症状がでるまで周囲の人からはわかりにくいことが欠点としてあげられる。嚥下障害が頻発するようになると上述の低栄養や誤嚥性肺炎へ直結してしまうため、病症の進行がわかりにくいにも関わらず、可能な限り早期発見が可能になり、早期治療が可能になるようになることが必要である。

そこで本研究課題では、現代の超高齢社会における重要な課題である嚥下機能の改善を目指し、とくに、嚥下障害の病態と原因を明らかにしてその改善方法を同定するために、運動失調症モデルマウスであるジストニンノックアウトマウスを用いて、筋や神経の組織学的分析を実施し、嚥下機能の生理学的解析をおこなうことにした。本研究を進めることで、嚥下機能の低下に対する予防や治療にも広く応用可能となると考えられる。また、さらなる応用研究が進むことで運動失調症だけでなく、加齢などによる筋力低下や筋緊張能調和による嚥下障害のメカニズム解明と予防・治療にまで発展できる研究課題である。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、現代の日本の現状である超高齢社会において重要な課題である嚥下機能の改善である。とくに、嚥下機能は、口腔・咽頭・喉頭領域に分布する感覚神経からの感覚情報を受けて、脳幹などに分布する運動ニューロンへ刺激が伝わり、口腔・咽頭・喉頭などの筋が収縮をすることで役割をはたしている。この過程で、いずれかに異常が認められると嚥下障害が発症すると考えられる。そこで、本研究では嚥下障害原因のひとつになりうる運動障害性疾患に着目し研究をすすめることにした。具体的には、運動障害性疾患のモデルマウスである運動失調症モデルマウスのひとつであるジストニンノックアウトマウスを使用し、コントロールマウスと比較しながら嚥下にかかわる筋や嚥下にかかわる頭頸部の感覚神経などを精査することで、運動失調症における嚥下障害のメカニズム解明をおこなうことを目的としている。さらなる応用研究がすすむことで、予防法の確立や治療法の開発にまで応用可能であると考えられる。さらには、運動失調症だけでなく、加齢などによる筋力低下や筋緊張能調和による嚥下障害のメカニズム解明と予防・治療にまで発展できると考える。



3. 研究の方法

(1) 動物の処置と切片作成

ジストニンノックアウトマウスとそのコントロールマウスについて、還流固定をおこない、嚥下機能に関連する口腔・咽頭・喉頭の各種組織を取り出した。具体的には、舌、臼歯、切歯、口蓋、耳下腺、顎下腺・舌下腺のセット、下顎骨、咀嚼筋など分離し取り出した。さらに、口腔より後方に位置する咽頭領域や喉頭領域と口腔の後方部を一塊にして取り出した。切歯や臼歯、口蓋や下顎骨などの硬組織を含むサンプルについては、10% EDTAにて脱灰した。その後、それぞれの組織に対してクライオスタットを使用し、8ミクロンの厚さで連続凍結切片の作成をおこなった。

(2) H-E染色と免疫染色

各種組織ごとにジストニンノックアウトマウスとコントロールマウスの間で比較検討をおこなうために、連続凍結切片の一部はまずヘマトキシリン-エオジン染色を実施した。その後、光学顕微鏡をもちいて、筋の萎縮や変性の有無について観察をおこなうこととした。また、他の切片を使用して、感覚に関連すると考えられる各種神経ペプチドやイオンチャネルに対する抗体を用いて免疫染色を実施した。一部の物質については神経線維の長さを計測し、組織における密度として比較をおこなった。

(3) 各種センサーの分布

組織切片をもちいて各種センサーについての免疫染色を実施した。また、粘膜での発現や神経線維の分布を確認し、それぞれの長さや密度について比較を行った。レーザー顕微鏡や超解像顕微鏡を用いた詳細な観察も進めた。脳や神経節については、ニッスル染色や caspase3、運動調節系に關与するドパミンやセロトニン合成酵素に対する免疫染色により、神経細胞の変性や細胞死について比較検討した。

4. 研究成果

ジストニンノックアウトマウスとワイルドタイプマウスの各種組織（筋、顎骨、舌、耳下腺、顎下腺、口唇、皮膚、ヒゲ、口蓋粘膜、切歯乳頭、咽頭、外耳道、三叉神経節、舌咽迷走神経節、脳、脳幹）を取り出し、クライオスタットを用いて凍結組織切片を作成した。H-E染色を施し、それぞれの比較を行った。その結果、ジストニンノックアウトマウスでは頭頸部の筋に萎縮が認められた。

次に、各種組織の免疫染色を行った。神経線維のマーカーである PGP9.5 や、温度刺激受容チャネルである TRP イオンチャネルのうち、TRPV1、TRPV2、TRPM8 を用いた。また、侵害刺激受容マーカーである CGRP や神経伝達物質である substance P も用いた。これらを含む数種のチャネルやペプチドの発現が認められた。

さらにこれらの分布について詳細な比較を行った。PGP9.5 について、神経線維の長さを計測し、組織の面積に対しての密度として比較を行った。その結果、組織によって末梢神経の分布密度が異なることが示唆された。具体的には、ジストニンノックアウトマウスの耳下腺の腺房では、ワイルドタイプマウスと比較して神経線維の分布密度が低かった。一方、顎下腺の腺房や導管、耳下腺の導管においては、両者での差は認められなかった。また、各種口腔咽頭粘膜に分布する神経線維も、ジストニンノックアウトマウスではワイルドタイプマウスよりもその分布密度が低い傾向にあった。一方、皮膚においてはその差は小さいと考えられた。

現在のところ生理学的な評価までは十分に至らなかった。今後はより詳細な解析を行い、ヒトとの関連性を検討することにより、実際に嚥下障害を有する方の新たな治療法や予防法へと展開が可能のため、社会的な意義の大きな研究課題であると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------