

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月7日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591913

研究課題名（和文）喉頭挙上筋障害時における残存筋機能制御様式の変化に関する研究

研究課題名（英文）Compensation for swallowing function due to the impairment of the laryngeal elevator muscles

研究代表者

馬場 均（BANBA HITOSHI）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・客員講師

研究者番号：30360035

研究成果の概要（和文）：

嚥下障害には様々な障害パターンが存在するが、そのうち喉頭挙上障害に主に起因する嚥下障害患者に対しては喉頭挙上術の適応となる。しかし、その適応については個々の術者の経験による判断が主であり十分なエビデンスは得られていない。そこで喉頭挙上運動に関与する筋群の神経支配様式の解明と、喉頭挙上筋の部分障害時に残存筋機能を制御する神経回路における変化についての研究を行い、喉頭挙上術の有効性についての理論的背景を明らかにすることを試みた。

研究成果の概要（英文）：

Laryngeal elevation surgery could be performed for patients with swallowing impairment responsible for reduced laryngeal elevation during swallowing. However, it is still uncertain whether this procedure would become a reasonable treatment for each patient. We therefore have investigated the neuronal mechanism that regulates the laryngeal elevator muscles and the alteration of the neural network due to partially deterioration of the laryngeal elevator muscles using mice. We have tried to reveal the effectiveness of the laryngeal elevation surgery for patients with injured laryngeal elevator muscles in in vivo mouse model.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
22年度	2,100,000	630,000	2,730,000
23年度	600,000	180,000	780,000
24年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：耳鼻咽喉科学

科研費の分科・細目：喉頭科学

キーワード：耳鼻咽喉科学、咽頭科学、嚥下

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の到来により、嚥下障害患者は増加の一步をたどっている。嚥下障害の原因は様々であるが、脳血管障害に代表される嚥下パターンジェネレータの器質的あるいは機能的障害による嚥下障害は治療困難であり、それゆえ様々な治療法を試行錯誤し、嚥下機能改善治療を試みているという背景がある。嚥下障害に対する治療はリハビリテーション、手術治療、薬物治療等があるが、それぞれ単独治療では治療効果は限定的である。我々耳鼻咽喉科医は嚥下改善術あるいは誤嚥防止術を嚥下リハビリテーションと組み合わせる嚥下障害の治療にあたっているが、その手術の適応、効果は未だ一定の評価を得られているわけではなく、個々人の経験による主観的な評価にとどまっていることが多い。そのため、嚥下機能改善術の適応、効果を科学的に検証する必要がある。それにはまずそれぞれの手術法が嚥下機能改善にどのように寄与し、術後にどのような変化を末梢臓器あるいは中枢神経系に及ぼすのかを動物実験レベルで解析し、ヒトに応用することが適切であると考えた。嚥下機能改善術の一つに、輪状咽頭筋切断術、喉頭挙上術があり、これは現在嚥下障害患者に対して最もよく用いられる術式の一つとなっている。この術式による末梢レベルおよび中枢レベルでの嚥下機能改善効果を検証することを目的とし、その動物モデルでの解析を試みた。

## 2. 研究の目的

マウスモデルを用いて、喉頭挙上による嚥下機能改善効果を解析するためには、まず喉頭挙上運動に関与する各筋群の神経支配様式の解明が必要である。従って、各筋群を支配する延髄の神経核の解析とそれぞれに投射する前駆ニューロンの解析を目的として第1の実験テーマを構築した。この実験系により喉頭挙上を司る神経ネットワークの詳細な分析及び各ニューロンの機能解析を行い、支配様式に基づいた機能解析を達成することが目的である。次に、疾患モデルを用い嚥下機能の改善様式を解明することを試みた。これは脳幹レベルにおいて喉頭挙上筋支配神経ネットワークが障害後に可塑性を持って変化するか否かを解明することが手術による嚥下機能改善効果を検証する上で必要だからである。このため第2の実験として、喉頭挙上筋の部分障害時に残存筋機能を制御する神経回路における変化についての解析を行うこととした。上記の研究による成果が、喉頭挙上筋支配神経ネットワークの延髄レベルあるいはそれより上位中枢の障害が引き起こす嚥下障害に対

して、その障害部位によるリハビリテーションの効果、あるいは手術治療の効果を規定する理論的背景となり、最終的に手術適応を決定する画期的な基準を提唱することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 喉頭挙上関連筋群の神経支配様式に関する検討

喉頭挙上運動における重要な筋肉はオトガイ舌骨筋と甲状舌骨筋である。この2つの禁における支配神経様式の解明をまず行った。

マウスを用い、オトガイ舌骨筋または甲状舌骨筋に逆行性神経トレーサーであるコレラトキシンBサブユニットを注入し、一定の生存期間の後に灌流固定を行い脳幹及び延髄を摘出する。凍結連続切片を作製し、抗コレラトキシン特異抗体を用いた免疫組織化学法を施行、反応はDABにて可視化する。光学顕微鏡下に観察し、結果の解析を行う。これにより、マウスにおけるオトガイ舌骨筋、甲状舌骨筋を支配する運動神経細胞の局在を確認する。

この結果を踏まえ、オトガイ舌骨筋、甲状舌骨筋支配神経細胞への上位中枢からの投射についての検討を行う。オトガイ舌骨筋または甲状舌骨筋に、シナプスを越えた神経トレーサーとしての有用性が報告されている単純ヘルペスウイルスを注入し、一定の生存期間の後に灌流固定を行い全脳を摘出し、凍結連続切片を作成する。この切片に対して抗ヘルペスウイルス特異抗体を用いた免疫組織化学法を施行し、DABによって可視化する。光学顕微鏡下に観察し、結果の解析を行い、オトガイ舌骨筋、甲状舌骨筋支配神経細胞へ投射する二次ニューロンを同定する。

(2) 喉頭挙上障害の嚥下機能に与える影響とその代償に関する研究

研究(1)の結果を元にオトガイ舌骨筋に代表される舌骨上筋群と喉頭挙上に重要な役割を担っている舌骨下筋群の一つである甲状舌骨筋による代償機構の解明を試みる。舌骨上筋群を切断したモデルマウスを作製し、障害直後の体重減少を観察する。その後の代償による体重増加の経時的な変化を記録し、対照群と比較することでその代償機構の一部を解析する。

## 4. 研究成果

(1) 喉頭挙上関連筋群の神経支配様式に関する検討

マウスオトガイ舌骨筋および甲状舌骨筋を支配する運動神経細胞の局在の確認と、上位中枢からの投射経路を神経トレーサーを注入し確認した。マウスオトガイ舌骨筋および甲状舌骨筋の支配ニューロンが分布する延髄の神経核への逆行性トレーサーによる分布は一部確認できたが、その局在を詳細に検討するには検体が不十分であり機能解析も困難であった。

また、単ヘルペスウイルスによる上位中枢からの投射の追跡を行ったが、感染死などの原因で規定動物数に達しなかった。上位中枢から運動神経細胞への投射は解析可能な十分数を得ることが出来ず、その連絡を確認するに至らなかった。

## (2) 喉頭挙上障害の嚥下機能に与える影響とその代償に関する研究

研究1は十分数の検体による神経ネットワーク解析には至らなかったが、その支配領域の一部を解明するに至った。そのため、その結果を元にオトガイ舌骨筋に代表される舌骨上筋群障害時の、喉頭挙上に重要な役割を担っている舌骨下筋群の一つである甲状舌骨筋による代償機構の解明を試みた。

舌骨上筋群を切断したモデルマウスを作製し、その体重減少経過を観察したが、その内一部は体重増加を示さず感染死などで比較対象に登らなかった。一定の体重減少の後に体重増加を示したモデルマウスにおいて対照群との体重増加率を比較した。一部のモデルマウスは体重増加を示したが、対照群に対し有意な増加率を示し、代償機構を証明するには至らなかった。そこで、舌骨上筋群の一部を切断したモデルマウスを作製し、同様の実験を試みた。しかし、一定の傾向をしめす体重増加率は同群において観察できず、この実験系で喉頭挙上筋障害時の中枢代償機構を解明するには至らなかった。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

馬場 均 (BANBA HITOSHI)  
京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究  
院)・客員講師  
研究者番号：30360035

(2) 研究分担者 なし  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし  
( )

研究者番号：