

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861649

研究課題名(和文) PEG造設脳梗塞モデル動物の口腔リハビリが脳内酸化レドックスに及ぼす影響

研究課題名(英文) Reaction of brain redox on oral rehabilitation in cerebral infarction animal model under percutaneous endoscopic gastrostomy placement

研究代表者

川西 克弥 (KAWANISHI, Katsuya)

北海道医療大学・歯学部・講師

研究者番号：10438377

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、脳梗塞後遺障害の脳内抗酸化能の低下の回復に口腔リハビリテーションが寄与するか否かを検討することである。海馬のCA1領域における抗酸化能の測定には、HPLC-ECDを用いて行った。

抗酸化能は経口栄養摂取による刺激により増加したものの、経管栄養摂取では増加しなかった。これらの結果より、経口栄養摂取ではなく胃からの経管栄養摂取は脳梗塞からの回復過程に悪影響を及ぼしている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate whether the oral rehabilitation contributes the functional recovery from stroke-induced compromised antioxidant ability in cerebral ischemic rat model. The measurement of the antioxidant ability in the CA1 region of the hippocampus was performed by using the HPLC-ECD.

An antioxidant ability was increased at the stimuli by not tubal feeding, but oral nutrition intake. These results suggested that the nutritional support through a tube inserted into the stomach without oral intake may have a negative effect on recovery from cerebral infarction.

研究分野：医歯薬学

キーワード：脳梗塞 抗酸化能 舌運動 マイクロダイアリシス 尿酸

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会をむかえ、介護医療現場ではアルツハイマー型認知症や重度脳血管疾患などの摂食・嚥下障害を有する患者は増加傾向にある。なかでも摂食・嚥下障害に伴う“誤嚥”は、高齢者肺炎の原因の一つとされ、平成24年度人口動態統計(厚生労働省)の死因順位では、肺炎が脳血管疾患を上回り第3位となった。誤嚥性肺炎の予防としては、口腔ケアの有効性が多数報告されるようになり、その重要性は少しずつ国民に認知されるようになった。しかし、摂食・嚥下障害により経口摂取困難となった高齢者や誤嚥性肺炎を繰り返す高齢者に対しては、栄養摂取による健康維持・管理を行うことが極めて重要とされているため、とくに脳梗塞の急性期では、一時的な嚥下機能の低下により、人工栄養として経皮内視鏡的胃瘻造設術 Percutaneous Endoscopic Gastrostomy (PEG) を造設することが行われている。しかしながら、嚥下障害からの改善の見込みやその診断が難しいことから、経口摂取の遮断を余儀なくされ続ける症例が見受けられる。一方で、医師・看護師・言語聴覚士などの嚥下リハビリテーションの介入により PEG から離脱可能となった症例も散見されるようになり、その多職種連携の一員として、歯科医師はますます重要なポジションを担うことが予想される。近年ではこのような多職種連携によるリハビリテーション医療の重要性について見直されている。とくに脳神経科学分野における脳梗塞後のリハビリに注目が向けられているなかで、摂食・嚥下障害患者からの PEG 離脱は、患者の口腔 QOL の向上のみならず、その余生を左右する大きな課題の一つであると考えられる。

脳梗塞時における虚血・再還流障害においては、ミトコンドリア機能不全を誘導し、電子伝達系の不安定によってスーパーオキシドラジカルの生成や、ビタミン C (アスコルビン酸) グルタチオンなどの抗酸化物質の減少を招くことが報告されており、生体における活性酸素の生成系と消去系のバランスの崩壊(酸化ストレス)が、脳梗塞後遺障害の悪化を招く要因となっている。

顎口腔系機能のなかで摂食・嚥下機能かつ発音・咀嚼機能など様々な役割を担う“舌”に着目し、三叉神経の一つである下顎神経の舌神経への刺激や顎口腔機能としての舌運動が、脳梗塞により PEG 造設に伴う非経口摂取となった場合のリハビリテーションとして活用できるか否かを、脳内抗酸化能の変化から検証する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、PEG 造設した脳梗塞モデルラットを用いて顎口腔機能の刺激が脳梗塞後遺障害の脳内抗酸化能の低下からの回復にどのように影響するのかを検証する

ことである。

3. 研究の方法

(1) マイクロダイアリスの設置と HPLC-ECD 法の手技の確立

4%イソフルラン麻酔下において、8週齢の Wistar/ST ラットを脳固定装置に設置し、健常側の海馬 CA1 領域 (Bregma: 後方 3.8 mm、側方 2.0 mm、下方 2.5 mm) にガイドカニューレを設置し、ダミーカニューレを挿入した。ラットの脳切片を作成し、HE 染色にてカニューレの位置が海馬 CA1 領域に到達していること確認した。

マイクロダイアリスの測定 24 時間前に絶食を行った。測定前にマイクロダイアリスプローブを脳内に留置し、リンゲル液を 2 μ L/min の速度で灌流し、マイクロフラクションコレクタ(4)を用いて 10 分間隔で継続的に細胞外液を回収した。回収した試料は、HPLC-ECD 法にて測定した。

(2) 脳梗塞モデルラット(右側中大脳動脈の虚血モデル)の作製

Longa らの方法に従い、4%イソフルラン麻酔下において、頸部正中切開を行い右側総頸動脈と外頸動脈を露出しナイロン糸で結紮する。次に右側外頸動脈を切断し、切断面から 4-0 ナイロン糸で製作した栓塞子を、右側中大脳動脈に向けて挿入し、その起始部からの血流を遮断する。発症後 2 時間が経過した時点で、感覚運動機能評価として Limb Placement Test を用いて、脳梗塞の有無を確認した。

(3) PEG 造設(経管栄養摂取モデル)した脳梗塞モデルラットの作製

脳梗塞が確認されたのち、大岡らの方法に従い、4%イソフルラン麻酔下において、左側腹部切開を行い、胃体の一部を撮子にて把持した状態で、カニューレを胃内に挿入した。ストッパーを用いてカニューレを固定し注射針を除去後、プラスチックシリンジに入った液体飼育飼料をカニューレに接続し、0.5ml/分の速度で投与し、漏れがないことを確認した上で胃内切開部を縫合した。液体飼育飼料の投与は 8ml/250g(weight)/回とし、2~3 時間間隔で 5 回とした。

(4) 顎口腔運動群と非刺激群を用いた学習記憶能および脳内抗酸化能の比較

脳梗塞+PEG 造設+液体飼育飼料の経口摂取する顎口腔運動群と、対照群として脳梗塞+PEG 造設+液体飼育飼料の経管栄養摂取する非刺激群を設定した。

飼育後 14 日が経過した時点で、顎口腔運動群と非刺激群間における短期的記憶能の差を調べるため、Y-maze 試験を行った。さらに、顎口腔運動群では一定時間の無刺激状態から液体飼育飼料の摂取による自発的

な舌運動刺激行為までの一連の動作について、マイクロダイアリシスを用いて連続的に脳内から細胞外液を回収した。一方、非刺激群では、一定時間の無刺激状態の後、液体飼育飼料の経管栄養を行い、顎口腔運動群と同様に試料を回収した。回収した試料は、HPLC-ECD法によって脳内抗酸化物質（アスコルビン酸と尿酸）を測定した。

なお、これらの動物実験はすべて北海道医療大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った（承認番号：26号）

4. 研究成果

(1) 顎口腔運動群と非刺激群における短期記憶能の比較

飼育後14日の時点におけるY-maze試験の結果、交替行動率は顎口腔運動群が非刺激群と比較してやや高くなる傾向を示したが、両群間に有意な差を認めなかった。また、総侵入アーム数においても有意な差は認めなかった。

(2) 顎口腔運動群と非刺激群における脳内抗酸化物質の比較

全てのラットにおいて尿酸値の測定は可能であったが、アスコルビン酸に関しては、分析値が測定限界値を超えおり、正確な比較を行うことができなかった。

顎口腔運動群に対して、液体飼育飼料の摂取による自発的な舌運動刺激行為を行わせたところ、摂食行動開始時に即時反応して、尿酸値が上昇する傾向が認められた(図1)。また、同一個体に対し、間隔を空けて再度刺激を行った際にも、同様の上昇反応を認めた(図2)。一方、非刺激群において、液体飼育飼料の経管栄養を行ったところ、刺激直後の反応は不明瞭であったものの、緩やかに上昇する傾向を認めた(図3)。

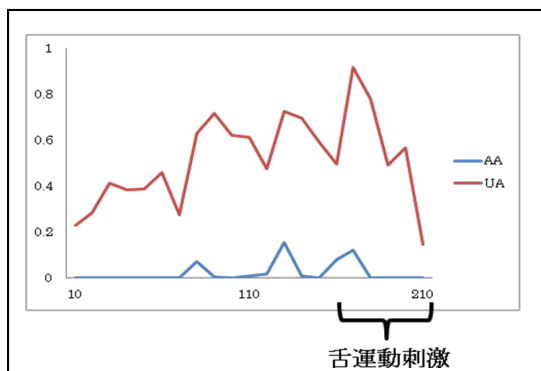


図1 自発的摂食行動（舌運動）による刺激

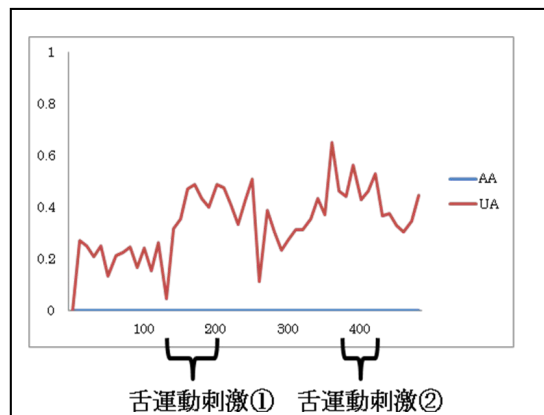


図2 自発的摂食行動（舌運動）による刺激

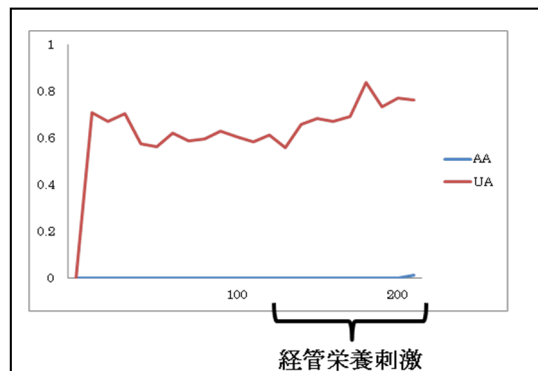


図3 経管栄養による刺激

当初の予定よりサンプル数が少なく、最終的な結論を出すには十分とは言い難い結果となった。ところが、舌運動による顎口腔機能を介した刺激は、海馬における脳内抗酸化能の何らかの影響を与えていることを確認することができ、顎口腔機能への刺激が脳梗塞後のリハビリテーションに有用であることを示す有益な情報を得ることができた。

(5) 今後の展開・課題

今回の結果より、顎口腔機能による刺激が海馬に何らかの影響を与えている可能性が示された。海馬歯状回顆粒細胞下帯においては、脳梗塞後に細胞増殖することが認められている。今後は、栄養摂取経路（経口・非経口）の違いが海馬での細胞増殖にどのように影響しているのかについて免疫組織学的に検討していきたいと考える。

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3件)

T Hara, K Kawanishi, A Ohno, S Iida: The

evolution of research on occlusion and brain function, Journal of Prosthodontic Research Letter to the Editor, 査読有, 61 (1): 6-8, 2017

川西克弥、佐々木みづほ、豊下祥史、會田英紀、越野 寿、脳梗塞モデル動物を用いた咬合・咀嚼機能と脳機能との関係、日本補綴歯科学会誌、査読無、8 卷 4 号、358-363、2016 年

佐々木みづほ、豊下祥史、川西克弥、會田英紀、越野 寿、脳梗塞モデルラットにおける高次脳機能障害の回復に対する咀嚼の有効性、日本咀嚼学会雑誌、査読有、24 卷 2 号、50-58、2014 年

〔学会発表〕(計 2 件)

原 哲也、川西克弥、大野晃教、飯田祥与、咬合支持の有無と脳機能研究の展開、公益社団法人日本補綴歯科学会第 124 回学術大会、2015 年 5 月 30 日～2015 年 5 月 31 日、大宮ソニックシティ 埼玉県(さいたま市)

川西克弥、佐々木みづほ、菅 悠希、豊下祥史、會田英紀、越野 寿、飼料摂取経路の違いが脳梗塞モデルラットの抗酸化能低下からの回復に及ぼす影響、日本咀嚼学会第 25 回総会・学術大会、2014 年 9 月 20 日～2014 年 9 月 21 日、静岡県立大学谷田キャンパス 静岡県(静岡市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川西 克弥 (KAWANISHI . Katsuya)

北海道医療大学・歯学部・講師

研究者番号：10438377