

<研究課題> 簡便で非侵襲的な咀嚼・嚥下機能測定法の開発と食品機能性を付加した嚥下調整食の開発

代表研究者 岡山県立大学保健福祉学部栄養学科 教授 山本 登志子
共同研究者 岡山県立大学情報工学部人間情報工学科 教授 穂苅 真樹
岡山県立大学保健福祉学部栄養学科 教授 川上 貴代
岡山県立大学保健福祉学部栄養学科 助教 津嘉山 泉

【まとめ】

咀嚼や嚥下時の筋収縮や咽頭音を、生体信号として採取し、簡便で非侵襲的な咀嚼・嚥下機能測定法の基盤構築を行った。また、生活習慣病や慢性疾患に深く関わる炎症誘導性脂質メディエーター合成系を標的とした食品機能性を探索し、いくつかの機能性食材や成分を明らかにした。これらの機能性食品を利用して、疾病予防効果を付加した新規嚥下調整食を開発し、我々が構築した機能測定法での評価に取り組んでいる。

1. 研究の目的

健康長寿を目指す我が国において、高齢者のフレイル対策と生活の質の維持、ならびに疾病予防は重要な課題である。咀嚼・嚥下機能の低下を早期から感知し、個人に適した食事や栄養を考えることは非常に重要であり、正確かつ汎用的で、非侵襲性でありながら簡便な咀嚼・嚥下機能測定法が望まれる。また、加齢により増加する生活習慣病や慢性疾患は、多くの場合、慢性炎症が発症や重症化の基盤となる。よって、慢性炎症予防効果を有する機能性食品の活用は、高齢者の疾病予防と、健康寿命の延伸や生活の質の向上に寄与すると考えられる。

我々は、生理的咀嚼・嚥下機能評価法を開発するために、咀嚼時や嚥下時の筋電図や咀嚼・咽頭音などの生体信号を利用することを考えた。加えて、粘度やかたさの食品物性を指標とした咀嚼・嚥下機能評価の標準食品の設定を試みた。また、慢性炎症惹起因子である炎症誘導性脂質メディエーターの合成系を標的として、食品機能性を探索し、それを利用した新規高齢者用食品の開発に取り組み、その咀嚼・嚥下困難者への適合性を、生体信号を利用した機能測定法で評価することを目指している。本研究では、生体信号を利用した咀嚼・嚥下機能評価系の構築と、慢性炎症予防効果を有する食品機能性の探索を中心に行った。

2. 研究方法と経過

2-1 嚥下機能測定法の構築

(1) 嚥下機能測定法

コンデンサマイクロフォンによって、咽頭部より嚥下時に発生する音のみを抽出し、得られた波形から評価パラメータとしての嚥下音パワーを算出した。嚥下試料は、市販とろみ剤（トロメリン V、ニュートリー株式会社）と、市販の食品、自然薯粉末溶液を使用した。被験者は、健常な20～23歳の男女で、各試料を一度に、3gを5～6回嚥下した。

(2) 嚥下用試料の物性測定

とろみ剤のようなゾル状溶液の物性指標である粘度は、日本摂食・嚥下リハビリテーション学会「嚥下調整食分類2013」の基準に従い、直径28mm、コーン角度3°のコーンプレート型回転粘度計を使用して、測定温度20°C、ずり速度50 s⁻¹における1分後の粘度を測定した。その他のゲル状食品については、厚生労働省の「えん下困難者用食品の許可基準」に従い、クリープメータを用いて Texture Profile Analysis (TPA) 試験を行い、「かたさ(N/m²)」、「凝集性」、「付着性(J/m³)」を測定した。

2-2 咀嚼機能測定法の構築

ワイヤレス筋電センサによって咬筋部より生体信号を採取し、電源ノイズの除去と全波整流（絶対値）処理をした後、データ30点毎の中心移動平均から算出して平滑化を行い、ピークを検出して咀嚼回数を計測した。咀嚼試料は、咀嚼チェックガム（株式会社ロッテ）を使用した。被験者は、健常な20～23歳の男性で、咀嚼回数は1～100回の任意とし、5回咀嚼した。

2-3 慢性炎症予防・改善効果を有する食品機能性の探索

(1) 炎症誘導性脂質メディエーターのプロ

スタグランジン (PG) E₂ 合成系酵素の発現抑制効果の解析

炎症誘導に関わる PGE₂ の合成系酵素のシクロオキシゲナーゼ (COX) -2 とミクロソーム型 PGE 合成酵素 (mPGES) -1 を高発現するヒト肺癌 A549 細胞あるいはマウス炎症細胞 RAW264 細胞を用いて、食品由来抽出物あるいは成分を添加し、それぞれの発現動態をリアルタイム PCR で解析した。

(2) 炎症誘導性脂質メディエーター合成系酵素の阻害効果の解析

慢性炎症惹起に関わる PGE₂ やロイコトリエン類 (LT) の合成の鍵となる mPGES-1 や 5-リポキシゲナーゼ (5-LOX) のリコンビナント酵素に対する阻害効果を酵素活性測定により解析した。

(3) 慢性炎症モデルマウスでの食品機能性の検証

慢性炎症性疾患である非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) や慢性炎症性皮膚疾患の乾癬のモデルマウスを作製し、(1) (2) の *in vitro* 実験により抗炎症効果の明らかとなった食品抽出物あるいは機能性成分を投与して、その効果を、発現解析、リポドミクス解析、病理組織化学解析によって検証した。

3. 研究の成果

3-1 嚥下機能測定法

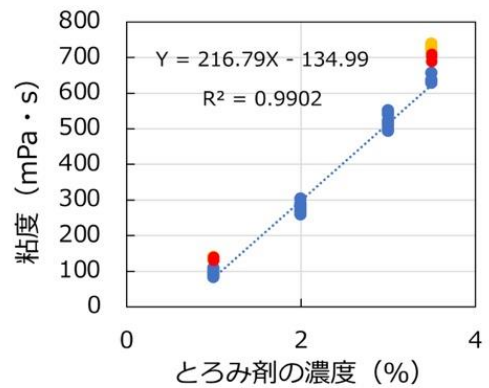
嚥下で使用した市販のとりみ剤は、常温の水に溶解し、日本摂食・嚥下リハビリテーション学会嚥下調整食分類 2013 の 3 段階 (薄い・中間・濃い) のとりみに準ずる嚥下試料を作製し、その粘度を測定したところ、試料濃度と正の相関が得られた (図 1)。このうち薄いとりみに準ずる濃度 1% と濃いとりみに準ずる濃度 3.5% を、被験者がそれぞれ 5~6 回嚥下して、得られた嚥下音波形から嚥下音パワーを求めた。

嚥下音パワーは、男性では、1% とりみ剤よりも 3.5% とりみ剤で有意な低下が認められたが、女性では 2 つのとりみ剤で大きな差は認められなかった。1% とりみ剤に対する 3.5% とりみ剤の相対値を男女で比較したところ、女性の方が約 1.3 倍有意に高い値であった (図 2)。

3-2 嚥下用モデル食品を用いた嚥下音パワーの解析

男性被験者を対象として、嚥下難易度の異なる水、ポタージュ、ヨーグルト、市販とりみ剤、プリンと、慢性炎症予防効果が認められた自然薯の粉末溶液を、被験者が嚥下し、

嚥下時の咽頭音と筋電図による生体信号を指標として解析したところ、咽頭音による嚥下音パワーが各食品の物性と良い相関性を示した (図 3)。嚥下しやすい物性の食品ほど、嚥下音パワーは低下し、食品のかたさ (N/m²) の常用対数に対する嚥下音パワーは、負の相関性を示した ($r = -0.615$)。この結果から、嚥下音パワーが嚥下機能評価の指標となることが期待された。



● 男性に使用した試料 ● 女性に使用した試料
1.0% : 138.4 mPa·s 1.0% : 133.7 mPa·s
3.5% : 731.6 mPa·s 3.5% : 702.8 mPa·s

図 1. とりみ剤濃度と粘度

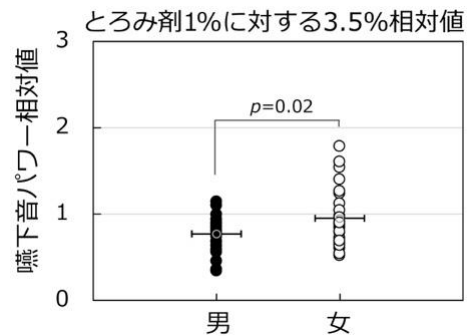


図 2. 男女の嚥下音パワー相対値の比較

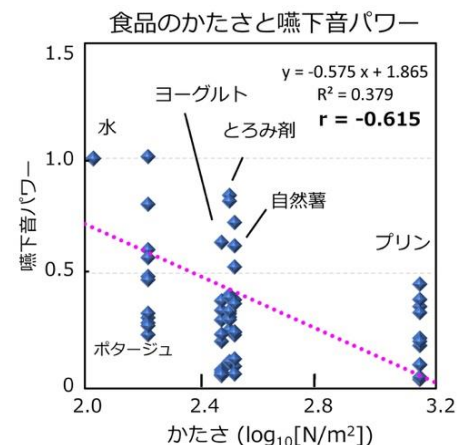


図 3. モデル食品と自然薯粉末溶液の嚥下音パワーとかたさ

さらに、機能性食品である自然薯粉末溶液のとりみ剤としての安定性について、日本摂食・嚥下リハビリテーション学会「嚥下調整食分類 2013」の基準に従い、様々な調理条件下での粘度安定性を解析したところ、温度変化に対してやや安定性に欠けるものの、pH 変化に対する安定性や唾液 α -アミラーゼ抵抗性については、市販のとりみ剤と同程度に良好な安定性を示した。さらに、市販の増粘剤では、食塩添加量に依存して粘度が大きく低下するのに対して、自然薯粉末溶液は優れた安定性を示した¹⁾。

3-3 咀嚼回数測定法

咀嚼機能測定として、咀嚼チェックガムを用いた筋電センサによる咀嚼回数の解析を行った。被験者が、咀嚼チェックガムを 40 回咀嚼し、咬筋部位の体表より筋電センサで得られた信号を分析したところ、40 回のピーク波形が検出された。さらに、量を定めた米飯を、被験者が任意に咀嚼し、ビデオカメラでの撮影画像から咀嚼回数を算出し、筋電センサでの波形ピーク数と比較したところ、ほぼ同じ計測数となった。これにより、筋電センサを用いた波形解析によって咀嚼回数を指標とした機能評価が可能であることが示された。

3-4 自然薯とその含有成分ジオスゲニンによる COX-2 と mPGES-1 の発現抑制と抗炎症効果

これまでに、自然薯抽出物が、炎症誘導に関わる PGE₂ 合成系酵素の COX-2 と mPGES-1 の発現を抑制し、癌モデル細胞や動物を対象として、抗炎症や抗腫瘍効果を有することを明らかにした (Toshiko Suzuki-Yamamoto *et al.* *J. Clin. Biol. Nutri.* 55(3), 162-167, 2014., Izumi Tsukayama *et al.* *J. Clin. Biol. Nutri.* 62(2), 139-147, 2018.). さらに、機能性の候補成分として植物ステロールのジオスゲニンを見出し、その作用機序について研究を進めたところ、ジオスゲニンはグルココルチコイド受容体を介して、COX-2 の強力な転写因子である NF- κ B の作用を調節することで、COX-2 の発現を抑制することを明らかにした。さらに、リポポリサッカライドで誘発した全身性急性炎症における肝炎では、ジオスゲニンが、炎症に関わるマクロファージの COX-2 を抑制し、一方で恒常性維持に必要な血管内皮細胞の COX-2 に影響せず、細胞選択的な効果を有することが明らかとなった (図 4)²⁾。次に、慢性炎症性の NASH においても、ジオス

ゲニンの細胞選択的な COX-2 発現抑制効果と NASH 改善効果を確認した³⁾。

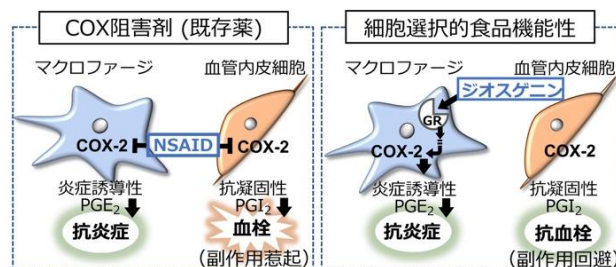


図 4. ジオスゲニンによる細胞選択的抗炎症効果

3-5 ザクロ葉含有エラジタンニン類による

mPGES-1 発現抑制効果と大腸炎改善効果
ザクロ葉由来エラジタンニン類の Granatin A と Granatin B, およびそれらの構造類似体である Geraniin が、ヒト肺癌 A549 細胞で、COX-2 の発現に影響せず、mPGES-1 や炎症関連因子の TNF- α や iNOS の発現を抑制することを見出した。加えて、抗アポトーシス因子 Bcl-2 の発現抑制や、*in situ* TUNEL 染色によるアポトーシス細胞の誘導を確認した。このように、ザクロ葉由来エラジタンニン類は、COX-2 の発現を抑制せず、mPGES-1 に対して強い発現抑制効果を示し、非小細胞肺癌 A549 細胞に対して抗炎症・抗腫瘍効果を有することが示唆された (Keisuke Toda *et al.*, *Biosci Biotechnol Biochem.* 84(4), 757-763, 2020.). 次に、デキストラン硫酸塩 (DSS) 誘導マウス大腸炎モデルを作製し、*in vivo* 実験での検証を行ったところ、ザクロ葉含有エラジタンニン類は、mPGES-1 と炎症性サイトカインの発現を抑制し、病理組織解析においても、大腸炎で見られる組織構造の異常を改善した⁴⁾。

3-6 ナツメグ含有成分 Malabaricone C による 5-リポキシゲナーゼ活性阻害と乾癬予防効果

in vitro 実験において、ナツメグに含まれる Malabaricone C に、5-LOX に対する強い活性阻害効果を見出した。さらに、イミキモドクリーム[®]の耳介塗布により誘導した乾癬モデルマウスへの Malabaricone C の局所塗布による効果を検討したところ、Malabaricone C は、乾癬誘導による表皮の肥厚を抑制し、局所への炎症細胞の浸潤を著しく減少させた。また、リアルタイム PCR 解析から、Malabaricone C は、乾癬によって誘導されるケラチノサイトの活性化マーカーや分化マーカー、乾癬特異的サイトカインの発現を有意に抑制した。加

えて、リピドミクス解析より、乾癬で上昇する LTB₄ を Malabaricone C は検出できない程度まで減少させ、一方で、アラキドン酸代謝の別経路への代謝シフトは認められなかった⁵⁾。

4. 今後の課題

本研究において、咀嚼・嚥下機能測定法の基盤が構築された。さらに、信頼性や汎用性の向上を目指して、幅広い被験者を対象とした測定を行い、性差や年齢差などとともに、食環境要因による影響なども解析を進めたい。しかしながら、現在は、未だコロナ感染症の収束の見通しが立たず、多くの被験者、特に高齢者を対象とした咀嚼・嚥下の測定実施は困難である。今後、感染症問題が改善されたならば、さらなる研究実施拡大を予定している。

我々が目指す、疾病予防の機能性を付加した嚥下調整食開発のために、本研究ではさらに効果の期待できる機能性食材や成分を見出した。その中で、自然薯の機能性成分としてジオスゲニンの作用とその作用機序が明らかとなり、さらには、急性や慢性の炎症モデルマウスへの投与によって、病態改善効果が認められた。また、自然薯粉末溶液のとろみ剤としての有用性を評価するために、我々が構築した嚥下機能評価系と物性測定によって、いずれの測定でも、市販のとろみ剤と同程度の適合性を示す結果が得られた。加えて、調理条件下での物性変化の解析をすすめ、自然薯粉末溶液は、その粘度において、優れた安定性を有することが明らかとなった。今後は、これを利用した加工食品としての嚥下調整食の開発にも取り組みたいと考えている。

本研究では、新たに、ザクロ葉に含まれるエラジタンニン類による mPGES-1 発現抑制効果と、大腸炎モデルマウスへの投与による抗炎症と大腸組織修復効果を見出した。また、ナツメグ含有 Malabaricone C の 5-LOX 阻害と、慢性皮膚疾患の乾癬モデルマウスへの投与による予防効果を明らかにした。今後は、これら成分の安全性の検証を進めるとともに、機能性食材あるいは成分として、嚥下調整食への応用を試みたいと考えている。

5. 研究成果の公表方法

- 1) Yuka Konoike, Izumi Tsukayama, Mei Oji, Takayo Kawakami, Kayoko Ishii, Toshiko

Suzuki-Yamamoto. Assessment of functional food *Dioscorea japonica* paste as a thickened liquid for elderly with dysphagia.

- 論文投稿中
 - 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition, Dec 6-11, 2022, Tokyo, JAPAN. 発表予定
- 2) Izumi Tsukayama, Takuto Mega, Nana Hojo, Keisuke Toda, Yuki Kawakami, Yoshitaka Takahashi, Toshiko Suzuki-Yamamoto. Diosgenin suppresses COX-2 and mPGES-1 via GR and improves LPS-induced liver injury in mouse.
 - *Prostaglandin and other lipid mediators*, 156, 106580, 2021. (掲載済み)
 - 22nd IUNS-ICN International Congress of Nutrition, Dec 6-11, 2022, Tokyo, JAPAN. 発表予定
 - 3) Izumi Tsukayama, Natsumi Yamakawa, Sayaka Fukuno, Keisuke Toda, Yuki Kawakami, Yoshitaka Takahashi, Toshiko Suzuki-Yamamoto. Diosgenin down-regulated PGE₂ synthetic pathway and improves NASH in mice.
 - 論文投稿準備中
 - 4) Mai Ueyama, Izumi Tsukayama, Haruka Sakaguchi, Keisuke Toda, Yuki Kawakami, Yoshitaka Takahashi, Toshiko Suzuki-Yamamoto. Ellagitannins from *Punica granatum* leaves suppress microsomal prostaglandin E synthase-1 expression and have preventive effects on DSS-induced colitis in mice.
 - 論文投稿準備中
 - 5) Izumi Tsukayama, Yuki Kawakami, Asako Tamenobu, Keisuke Toda, Saya Maruoka, Yuki Nagasaki, Yoshitaka Takahashi, Yoshimi Miki, Kei Yamamoto, Makoto Murakami, Toshiko Suzuki-Yamamoto. Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase activity and improvement of mouse psoriasis-like skin inflammation by Malabaricone C.
 - 第 62 回日本生化学会中国・四国支部例会. 2021 年 9 月 10-11 日, 岡山 Web 開催 (発表済み)
 - 論文投稿中

以上