



Title	嚔下活動に対するSubstance Pの中枢作用について
Author(s)	小橋, 寛薫
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34366
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 (小橋 寛薫)	
論文題名	嚔下活動に対する Substance P の中枢作用について
<p>論文内容の要旨</p> <p><緒言></p> <p>Substance P (以下SP) は、neurokinin-1 (NK1) レセプターに作用する神経ペプチドであるが、近年、嚔下障害や誤嚔性肺炎を呈する患者において、SPの血清濃度が著明に低下していることが相次いで示され、SPは嚔下障害のマーカーとしての役割とともに、嚔下活動を制御する上で重要な役割を果たす神経伝達物質として注目されている。これまでの動物を用いた研究報告より、嚔下活動に関わるSPは、迷走神経下神経節で生成され、咽頭粘膜直下の迷走神経咽頭神経叢の神経末端から分泌されることにより、末梢における嚔下反射誘発の閾値を制御すると考えられている。一方で、NK1レセプターやSPは中枢神経内にも広く分布する。特に、中枢神経内で嚔下活動のトリガーおよびパターン形成を行う嚔下中枢が存在する延髄背側の孤束核内にも、NK1レセプターが局在することが報告されている。しかしながら、嚔下活動に対するSPの中枢作用を検討した研究はこれまでにない。</p> <p>そこで今回の研究では、SPの中枢作用が嚔下活動におよぼす影響を検討することを目的として、脳幹内の神経ネットワークが広い範囲で機能的に温存されているWorking heart brain stem preparation (以下WHBP) を用いて、以下の研究を行った。</p> <p><方法></p> <p>実験には21～30日齢のSD系ラットを用いた。ハロタンを用いて十分に麻酔を行った後、横隔膜下で下半身を切除し、4℃に冷却したリングル液内で、前四丘体より吻側で除脳を行った。横隔神経および下行大動脈を剖出し、大動脈に対してダブルルーメンカニューレを挿入、縫合固定した。レコーディングチャンバーに標本を移動し、95%O₂-5%CO₂ガスで飽和し31℃に調整した人工脳脊髄灌流液を、バブルトラップおよび30μmフィルターを通した上で、毎分20-28mlの速度で灌流した。灌流液は下行大動脈から入り、末梢組織より漏出し、チャンバーに集められ再度灌流されるという循環システムである。パソプレッシン (1.0～1.2nM) の投与と共に灌流液の流速を調節することによって、血圧が60-80mmHgになるように調節を行うと、横隔神経より自発性、かつ約5～7秒に1回の周期性を持つ呼吸活動が出現した。この呼吸活動の活動パターンが、in vivo標本から正常呼吸活動時に記録される「eupneic パターン」を示していることを確認した上で、嚔下活動の誘発を行った。</p> <p>嚔下活動の誘発には、これまでのin vivoの実験で一般的に用いられている方法である、上喉頭神経 (supra laryngeal nerve: SLN) に対する電気刺激を用いた。剖出した片側SLNの中枢端に、マニピレータに固定した双極電極を接触させ、電気刺激を行った。誘発にて生じた嚔下活動は、サクシオン電極を用いて舌下神経より記録した。</p> <p>NK-1レセプターの作動薬として[Sar9, Met (02) 11]-SPを、拮抗薬としてCP-100263を用い、全標本投与および延髄背側の孤束核内への局所微量投与 (マイクロインジェクション) を行った。</p> <p>マイクロインジェクションは、ガラスピペット内に人工脳脊髄液に溶解したNK-1レセプターの作動薬または拮抗薬を注入し、マイクロインジェクターを用いて行った。標本の延髄背側面のObex周囲を剖出しておき、背側表面からマイクロマニピレータによってアプローチすることでガラスピペット先端を孤束核内に固定した。マイクロインジェクションの位置を確認するために、染色剤 (ポンタミンスカイブルー) を2%となるように調整し、薬剤と同時に局所投与した。実験終了後は速やかに延髄標本をホルマリンにて固定後、凍結切片を作製し、マイクロインジェクションの位置を確認した。</p> <p>実験1</p> <p>SLNに対する、0.5秒間の連続刺激 (1回刺激時間;2m秒、頻度;20Hz、回数;10回) を行うことによって誘発された嚔下活動について、[Sar9, Met (02) 11]-SPを全標本投与した前後で、誘発された嚔下活動回数の変化を検討した。薬剤の濃度は、[Sar9, Met (02) 11]-SPでは10⁻⁷M、10⁻⁸M、および10⁻⁹Mとし、CP-100263では10⁻⁸Mとして検討を行った。</p>	

実験2

SLNに対する長時間の連続刺激（1回刺激時間;2m秒、頻度;4Hz）を行うことによって誘発した連続嚔下活動について、[Sar9, Met (02) 11]-SP投与前後の発現頻度の変化を検討した。使用薬剤およびその濃度は実験1と同様とした。

実験3

実験1と同様のSLN刺激条件下において、[Sar9, Met (02) 11]-SPを孤束核内へマイクロインジェクションした前後での、誘発される嚔下回数の変化を検討した。

実験4

実験2と同様のSLN刺激条件下において、[Sar9, Met (02) 11]-SPを孤束核内へマイクロインジェクションした前後での、連続嚔下の発現頻度の変化を検討した。

<結果>

実験1

[Sar9, Met (02) 11]-SPの全標本投与によって、SLN刺激によって誘発された嚔下活動の回数は、薬剤投与前と比較して 10^{-7} Mで $139.5 \pm 9.91\%$ 、 10^{-8} Mで $151.4 \pm 18.3\%$ 、 10^{-9} Mで $126.7 \pm 9.91\%$ と有意な増加を認めた。一方で、CP-100263 10^{-8} Mの全標本投与後の嚔下活動発現回数は、 $101.6 \pm 8.2\%$ で、有意差を認めなかった。

実験2

[Sar9, Met (02) 11]-SPの全標本投与によって、連続嚔下活動の発現頻度は薬剤投与前の発現頻度と比較して、 10^{-7} Mで $41.9 \pm 3.23\%$ 、 10^{-8} Mで $39.9 \pm 6.58\%$ 、 10^{-9} Mで $52.6 \pm 5.85\%$ と有意な減少を認めた。CP-100263では 10^{-8} Mの投与後は、連続嚔下の発現頻度は $96.7 \pm 20.0\%$ で、有意差を認めなかった。

実験3および実験4

[Sar9, Met (02) 11]-SP（0.025nm/50nl）を孤束核内へマイクロインジェクションした後に嚔下活動を誘発したところ、SLNに対する短時間刺激および長時間連続刺激双方とも、薬剤の全標本投与と同様の変化を示した。

<結語>

今回の研究によって、SPは延髄孤束核内のNK1レセプターを介して、嚔下活動の発現閾値を制御することが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (小 橋 寛 薫)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	古郷 幹彦
	副 査	教授	姜 英男
	副 査	准教授	舘村 卓
	副 査	准教授	中村 渉

論文審査の結果の要旨

本研究は嚔下活動に対する Substance P の中枢作用について Working heart brain stem preparation を用いて検討したものである。

その結果、嚔下活動において、Substance P が中枢に作用することを明らかにした。さらに、その中枢作用は延髄弧束核に対するものであり、嚔下活動の閾値に関与することが明らかとなった。

この研究結果は、Substance P による嚔下活動の促進作用に関する中枢神経機構を理解する上で、重要な知見を得るものであり、博士（歯学）の学位に十分値するものであると認める。