The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ラット培養脳幹における嚥下様活動の解析
Author(s)	山西, 整
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42471
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【9】

氏　　名	山西　整（やまにし　ただし）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学位記番号	第　16136　号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	ラット培養脳幹における嚥下様活動の解析
論文審査委員	（主査） 教　授　松矢　篤三 （副査） 教　授　森本　俊文　　助教授　吉田　篤　　助教授　舘村　卓

論文内容の要旨

緒言

嚥下運動は口腔から咽頭、食道を経由して胃へと食物を送り込む口腔咽頭諸筋の複雑な協調運動であり、中枢神経内では延髄背側の孤束核及びその周辺がこの運動を形成するために重要な役割を果たしていることが知られている。嚥下運動の中枢神経回路の解析は現在まで *in vivo* の実験系からの報告のみであり、*in vitro* での実験は報告されていない。*in vitro* で中枢神経ネットワークの解析が可能な培養脳幹の手法は、①動物の生死や体動に影響されない、②薬物投与の際に血液脳関門に影響されることなく濃度のコントロールが正確にできる、③神経細胞のネットワークを解析しながらも同時に Patch-clamp や Intracellular recording のテクニックを用いた細胞レベルでの研究に比較的容易に移行できる等の利点を持つ。そこで本実験では、嚥下運動に関わる中枢神経回路をより詳細に明らかにすることを目的として、この培養脳幹の手法を用い *in vitro* で嚥下運動の中枢機構を解析することが可能な実験系を確立するとともに、嚥下中枢から三叉神経運動核への脳幹内伝達経路および嚥下運動と呼吸運動、嚥下運動と咀嚼様顎運動との中枢内の連繋について検討した。

研究材料と方法

実験1　嚥下様活動の誘発

研究には生後0－3日目のSD系ラットを用いた。Halothan による深麻酔後、吻側を上丘レベルで切断した脳幹と、下顎、舌、口蓋、咽頭、喉頭等の器官を一介として摘出した器官付き培養脳幹または、器官を付けない培養脳幹を作製した。作製した標本は人工脳－脊髄灌流液（ACSF）で満たされたチャンバーにピン固定した。ACSF は95% O_2－5%CO_2で飽和し、27±1℃に保ち適宜灌流した。脳幹以外の組織については器官運動が観察できるように正中で矢状断した。器官付き培養脳幹に対しては孤束核への薬剤刺激を、器官をつけない培養脳幹標本に対しては①迷走神経への電気刺激、②孤束核への電気刺激、③孤束核への薬剤刺激を行い、器官運動の観察および神経、筋活動の記録を行った。孤束核への刺激薬剤には $GABA_A$ receptor antagonist である Bicuculine methiodide（BIC）を用いた。

実験2　孤束核から対側三叉神経運動核（TMN）までの伝達経路の検討

孤束核から対側 TMN までの嚥下様活動の伝達経路を解析するために、孤束核へ BIC による薬剤刺激を与えて嚥下様活動を誘発しながら種々のレベルでの脳幹切断実験によって嚥下様活動の発現の有無について検討した。

実験3　三叉神経咀嚼様活動と嚥下様活動発現の関係

三叉神経咀嚼様活動と嚥下様活動との中枢内での連繋を解析する目的で以下の実験を行った。培養脳幹の顔面神経尾側端レベルでアクリル板にて吻尾側的にチャンバーを仕切り2チャンバーとし、尾側にBICを吻側に興奮性アミノ酸であるN－Methyl－D、L－aspartic acid（NMA）を投与し、TMNを含む吻側脳幹の興奮が嚥下様活動の誘発に与える影響を検討した。さらにTMN周辺へNMAをインジェクションし同様の検討を行った。

結果及び考察

実験1

器官付き培養脳幹において、孤束核へBICをインジェクションすると、咽頭、喉頭部の収縮を伴った舌の後方への送り込み運動と下顎の閉口運動を特徴とする極めて嚥下運動に類似した器官運動が観察された。さらに舌骨上筋の筋電図と第4頚神経の神経活動を同時記録することによって、この運動と呼吸性活動の相反性が示された。また器官を付けない培養脳幹標本に対して同様の刺激を行ったところ、舌下神経から上述の器官運動を司ると考えられる神経活動が記録された。さらにBICのチャンバー内投与を必要としたものの、従来より嚥下運動を誘発し得ることが知られている迷走神経または孤束核への電気刺激を行っても同様の神経活動が誘発された。

NMDAおよびnon－NMDA receptor antagonistの薬剤投与実験を行った結果、NMDA receptor antagonistの投与によってこの活動は抑制され、non－NMDA receptor antagonistの投与では影響を受けないといった過去の*in vivo*での報告と一致するものであった。これらの結果から本実験で誘発された器官運動及び神経活動は、食塊の輸送を伴わないものの嚥下活動であると考えられた。

実験2

刺激側脳幹のObexから500μm 吻側のレベル（Aレベル）での前頭断、脳幹標本吻側端からAレベルまでの正中矢状断、記録側脳幹のY－cross pointからAレベルまでの外側1／2の切除、記録側脳幹のY－cross pointからAレベルまでの背側1／2の切除、を行っても三叉神経運動根から舌下神経と同期した嚥下様活動が記録された。しかし、Aレベルで記録側脳幹を前頭断すると三叉神経運動根からは嚥下様活動が記録されなかった。

これらの結果から片側の孤束核への薬剤刺激によって誘発された嚥下様活動はObexから500μm 吻側のレベルより尾側で反対側へ伝達され、延髄の腹内側を通り三叉神経運動核へ伝達されることが示唆された。

実験3

尾側チャンバーへBICを投与した後に、吻側チャンバーへNMAを投与すると三叉神経から咀嚼様活動を認めた。三叉神経咀嚼様活動の発現を確認した後、迷走神経に電気刺激を与えても、嚥下様活動は発現しなかった。チャンバー内へBICを投与した後に、TMN周辺へNMAをインジェクションした時も嚥下様活動は誘発されたものの、その活動時間及び活動振幅は減少した。

結論

本研究から、培養脳幹においても嚥下様活動を誘発できることが明らかとなった。また呼吸運動と嚥下様運動の相反性が観察された。嚥下中枢からTMNまでの経路については、Obexから500μm吻側のレベルよりも尾側で反対側に伝わり、脳幹腹内側を通ってTMNへ伝達されることが示唆された。さらにTMN及びその周辺にNMAを投与することによって嚥下様活動の発現が抑制されることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

嚥下運動の中枢神経回路の解析は現在まで*in vivo*の実験系からの報告のみであり、*in vitro*の実験系で嚥下運動を誘発することはこれまで不可能であるとされてきた。

本研究は、培養脳幹での嚥下様活動の誘発に成功し以下の結果を得ている。

嚥下中枢から三叉神経運動核（TMN）までの経路については、Obexから500μm吻側のレベルよりも尾側で反対側に伝わり、脳幹腹内側を通ってTMNへ伝達されることを明かとし、さらにTMN及びその周辺に興奮性アミノ酸を投与することによって嚥下様活動の発現が抑制されることを示した。また呼吸活動が嚥下様運動の発現によって

抑制されることを確認した。

本研究は *in vitro* の実験手法である培養脳幹で嚥下様活動が誘発され得ることを明かとし、嚥下活動の中枢神経回路の解析において新たなアプローチを可能とした。さらに本実験系を用いて嚥下運動の神経機構に新しい知見を見い出したという点で、本研究者は博士（歯学）の学位を得る資格があることを認める。