

Title	ラット working heart-brainstem preparation を用いた嚥下運動の解析
Author(s)	青海, 哲也
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/55537">https://hdl.handle.net/11094/55537</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【4】

氏 名	青 海 哲 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯学)
学 位 記 番 号	第 2 5 7 6 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 25 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	ラット working heart-brainstem preparation を用いた嚥下運動の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 古 郷 幹 彦 (副査) 教 授 上 崎 善 規 准教授 社 浩 太 郎 講 師 齋 藤 充

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

嚥下は生命維持に重要な口腔機能であるにもかかわらず、嚥下活動を形成する中枢神経機構は未知の部分が多い。このひとつの原因として、これまでの研究に用いられてきた実験アプローチの限界が挙げられる。Working heart-brainstem preparation (WHBP) は、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、in vivoに極めて類似した実験環境を得ることができる実験標本である。さらに、本標本では体外循環を行うため、実験コンディションが標本の循環動態や生命維持に影響されない。このために、in vivo実験系やawake動物に対して選択することが困難であった様々な薬理学的アプローチが可能となる。そこでわたしは第一に、WHBPを用いて嚥下活動を解析し得る実験系を確立することを目的として研究を行った。次に、WHBPを用いて中枢神経内の嚥下のパターンジェネレーターにおける抑制回路の役割を明らかにすることを第二の目的として、中枢神経内の代表的な抑制性レセプターであるグリシン受容体及びGABA<sub>A</sub>受容体が嚥下活動に与える作用について検討した。

#### 【研究方法】

WHBP標本の作製には21~30日齢のSD系ラットを用いた。ハロタンを用いて麻酔を行った後、横隔膜下で下半身を切除し、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、大動脈からカニューレを通して毎分20-28mlの速度で灌流液を灌流し、バソプレッシン<sub>1</sub>を1.0~1.2nMを加えることによって、血圧が60-80mmHgになるように調節を行うと、筋電図および神経活動双方に同期した、自発性、かつ約7秒に1度の周期性を持つ呼吸活動が出現した。横隔神経の神経活動を記録し、安定した呼吸活動が出現したことを確認したうえで、嚥下活動の誘発を試みた。

#### 研究1. 嚥下活動の誘発

顎舌骨筋筋電図および横隔神経神経活動を記録しながら、上喉頭神経 (supralaryngeal nerve:SLN)に対して刺激強度5.0V、刺激時間1msの条件下で単発電気刺激を加えると、顎舌骨筋筋電図上に呼吸活動とは異なる波形の筋活動が記録された。この刺激誘発性の筋活動は呼吸活動を抑制した。この嚥下様の筋活動が嚥下活動であることを確認するために、顎舌骨筋の他、咬筋、中咽頭収縮筋、上部食道筋からの筋活動を記録しながら、SLNに対して刺激を加えると、咬筋から、顎舌骨筋、中咽頭収縮筋、上部食道筋へと連続した筋活動のシークエンスを記録した。また、筋活動による口腔内の物質の輸送を確認するため、5%ポントアミンスカイブルー溶液を口腔内に注入した上で、SLNに対して電気刺激を加え、食道内の染色範囲を検討した。結果、SLNへの電気刺激を行わず、自発性の呼吸活動のみの群では食道染色範囲は22.5±13.1%であったのに対し、SLN刺激反応性活動を誘発した群では、全ての実験標本において食道の尾側切断端より染色液の漏出を認め、食道内は全域にわたり染色され(100±0%)、両群間には統計学的有意差を認めた。以上の所見よりSLN刺激反応性に生じた活動は嚥下活動であることが確認された。

#### 研究2. GABA<sub>A</sub>受容体及びグリシン受容体拮抗薬投与前後の嚥下活動の変化

GABA<sub>A</sub>受容体拮抗薬であるピククリン(BIC:0.2μM)あるいはグリシン受容体拮抗薬であるストリキニーネ(STR:0.04μM)を人工脳脊髄灌流液に加え、薬剤投与前後における嚥下活動の変化について検討を行った。

1) 口腔、咽頭、食道における筋活動の持続時間および活動開始タイミングの変化について

顎舌骨筋、中咽頭収縮筋、及び上部食道筋から筋電図を記録し、嚥下活動を誘発し、A. 顎舌骨筋の活動時間、B. 刺激から中咽頭収縮筋の活動開始までの時

間、C. 中咽頭収縮筋の活動時間、D. 中咽頭収縮筋と顎舌骨筋の活動が重複する時間、E. 刺激から上部食道筋の活動開始までの時間、F. 上部食道筋の活動時間、G. 顎舌骨筋の活動終了から上部食道筋の活動開始までの時間を測定した。結果、BIC投与後(n=6)は、Fは有意に延長した。STR投与後(n=8)には、Dは有意に延長し、Gは有意に短縮した。

2) 一定回数の連続嚥下に要する時間の変化について

SLNに対して刺激強度5.0V、刺激時間1ms、刺激頻度1Hzの条件下で連続電気刺激を加え、繰り返し嚥下の誘発を行った上で、10回嚥下するまでに要する時間を薬剤投与前後で比較した。BIC投与下(n=4)では10回嚥下に要する時間が短縮したのに対し、STR投与下(n=4)では10回嚥下に要する時間が延長した。

#### 【考察および結論】

- 1、WHBPを用いて嚥下活動を解析し得る実験条件を確立した。
- 2、嚥下活動の咽頭相から食道相への移行のタイミング形成にグリシン受容体が関与している可能性が示唆された。またGABA<sub>A</sub>受容体は食道括約筋の活動時間の制御に関与している可能性が示唆された。
- 3、繰り返し嚥下の誘発速度に対してGABA<sub>A</sub>受容体は抑制的に制御するのにに対し、グリシン受容体が促進的に制御している可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、working heart-brainstem preparation (WHBP)を用いて安定した嚥下活動を誘発し得る実験条件を確立し、嚥下Central Pattern Generator (CPG)における抑制性神経ネットワークのグリシン受容体及びGABA<sub>A</sub>受容体の役割を明らかにすることを目的としたものである。

その結果、WHBPを用いて上喉頭神経を刺激することで安定した嚥下活動を誘発することが出来た。嚥下活動における筋活動のタイミングの制御にグリシン受容体が関与し、上部食道筋の活動時間にGABA<sub>A</sub>受容体が関与している可能性が示された。繰り返し嚥下の誘発速度に対してGABA<sub>A</sub>受容体は抑制的に制御するのにに対し、グリシン受容体は促進的に制御していた。

本研究によってWHBPは嚥下の神経ネットワークを保持しており、今後、嚥下活動を解析するうえで有用な標本であることが明らかとなった。さらに嚥下活動における筋活動の協調に脳幹内のグリシン受容体が関わる可能性が示されたことは、嚥下活動の中枢神経ネットワークに関する新しい知見をもたらすものと考えられる。

よって、本研究論文は博士(歯学)の学位論文として価値のあるものと認める。