

# 学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	太田 亮
<b>学位論文題目</b>			
Contribution of the lateral lemniscus to the control of swallowing in decerebrate cats. (外側毛帯の嚥下調節における機能的役割)			
共 著 者 名			
高草木 薫、片田 彰博、原田 広文、野中 聡、原渕 保明			
掲 載 雑 誌 名			
Neuroscience 254:260-274 (2013)			
<b>研 究 目 的</b>			
<p>摂食行動に欠かせない嚥下は、延髄の網様体外側部に存在すると考えられる嚥下中枢からの運動指令によって遂行される反射運動である。様々な疾患や加齢により嚥下障害が生じると患者のQOLは低下し、誤嚥性の肺炎によって生命に危険がおよぶこともある。したがって、嚥下障害の病態を理解し、嚥下の調節に関与する神経機構を解明することは非常に重要である。脳血管障害によって高頻度に生じる中枢性の嚥下障害では、延髄よりも上位中枢の障害が原因となることが多く、嚥下中枢に対する上位中枢からの様々な入力、正常な嚥下の遂行や嚥下調節に重要な役割を担っていることが示唆される。</p> <p>外側毛帯は橋の背側部に位置する聴覚の中継核の一つであるが、外側毛帯で中継される聴覚入力は発声運動を調節するという報告がある(引用文献1)。これは、外側毛帯からの出力が呼吸筋や咽喉頭筋の筋活動を変化させる可能性を示唆している。また、外側毛帯やその周辺からの出力が呼吸のパターンを調節するという報告もある。そこで我々は、呼吸と密接な関係があり咽喉頭筋群が特異的な活動パターンを示す嚥下においても、外側毛帯の神経細胞がその調節に関与しているという仮説を立てた。</p> <p>本研究では、外側毛帯の嚥下調節における機能的役割を解明するために、外側毛帯を電気刺激することで生じる嚥下の変化を解析し、外側毛帯における嚥下調節部位の局在を解明した。さらに嚥下調節に関係する神経伝達物質について検討した。外側毛帯の神経細胞はガンマアミノ酪酸(<math>\gamma</math>-aminobutyric acid : GABA)系神経線維やグルタミン系神経線維の投射を受けているため、GABA受容体作動薬やグルタミン受容体作動薬を外側毛帯の嚥下調節部位の近傍に注入して、生じる嚥下の変化を解析した。</p>			

## 材 料 ・ 方 法

### 1. 実験動物モデルの作成

実験方法は旭川医科大学・動物実験規定に従った。実験には成ネコ15頭（体重1.8-3.3 kg）を用いた。ハロセン・笑気麻酔下に、外科的に上位脳を離断した除脳ネコモデルを作製した。嚥下を誘発するために、上喉頭神経（superior laryngeal nerve : SLN）に刺激電極を装着した。外科処置の終了後に麻酔を停止し、ネコを脳定位固定装置に固定した。

### 2. 筋活動の測定と嚥下の誘発

筋活動は、声門開大筋である後輪状披裂筋(PCA)、声門閉鎖筋である甲状披裂筋(TA)、舌骨挙上筋であるオトガイ舌骨筋(GH)、および吸気筋である横隔膜(DIA)から記録した。嚥下はSLNに0.2 ms, 20-80  $\mu$ A, 10-20 Hzの電気刺激を20秒間加えて誘発した。

### 3. 外側毛帯の電気刺激による嚥下の変化

脳定位固定装置で確認された外側毛帯の位置に刺激用電極を刺入した。外側毛帯およびその周辺の様々な部位で電気刺激(30-50  $\mu$ A, 50 Hz, 10-20 s)を行い、SLN刺激で誘発される嚥下の変化を確認し、嚥下調節に関与する神経細胞の局在を確認した。

### 4. 外側毛帯への神経作動薬注入による嚥下の変化

電気刺激で嚥下の変化が確認された部位に、神経作動薬であるN-methyl-D-aspartate (NMDA : グルタミン受容体作動薬)、ムシモール (GABA<sub>A</sub>受容体作動薬)、ピククリン (GABA<sub>A</sub>受容体拮抗薬)、バクロフェン (GABA<sub>B</sub>受容体作動薬)を各々5 mM, (0.1-0.15  $\mu$ l)封入した微小ガラス管を刺入、油圧ポンプにより各薬剤を微量注入した。注入前と注入後のSLN刺激で誘発される嚥下の回数や嚥下の筋活動パターンの変化を解析した。

### 5. 組織標本の作製

電気刺激実験では、刺激部位確認のため30  $\mu$ Aの直流電流を30秒間通電し標識した。また薬剤注入実験では注入部位と拡散範囲を確認するため、注入薬剤と同量の5%Fast green色素を注入した。また実験終了後、ネブタール深麻酔下に脳幹を摘出し、10%ホルマリンで固定した。後に厚さ50  $\mu$ mの脳幹切片を作製し、組織学的に薬物注入範囲や電気刺激部位を確認した。それぞれの解剖学的位置はBermanのネコ脳定位アトラスを参照した。

## 成 績

### 1. 上喉頭神経 (SLN) 刺激により誘発される嚥下の評価

SLN電気刺激で誘発される嚥下は、舌骨挙上筋 (GH)、声門閉鎖筋 (TA)、声門開大筋 (PCA)の順で筋活動が増大する自然嚥下と同様の筋活動パターンを示していた。一定のSLN刺激では同じ回数の嚥下が再現性をもって誘発された。SLNに加える刺激強度を増加させると誘発される嚥下の回数が増加し、刺激から嚥下開始までの潜時が短縮した。

### 2. 外側毛帯とその周辺への電気刺激による嚥下の変化

外側毛帯背側核 (dorsal nucleus of lateral lemniscus : LLD) への電気刺激下では、SLN刺激で誘発される嚥下の回数が有意に増加した。LLDへの刺激強度や頻度を上げると、誘発される嚥下の回数が増え、嚥下開始までの潜時は短縮した。これに対し外側毛帯腹側核 (ventral nucleus of lateral lemniscus : LLV) 電気刺激下では嚥下回数は減少した。外側毛帯の内側部の刺激下でも嚥下回数は減少した。

### 3. 外側毛帯背側核 (LLD) への神経作動薬注入による嚥下の変化

神経作動薬注入実験は、電気刺激で嚥下の促通効果が認められたLLDを中心に行った。グルタミン受容体作動薬であるNMDAをLLDに注入すると、誘発される嚥下回数は増加し、潜時が短縮した。GABA<sub>A</sub>受容体作動薬であるムシモールをLLDに注入すると、嚥下回数は減少し、潜時が延長した。GABA<sub>A</sub>受容体拮抗薬であるピククリンをLLDに注入すると、嚥下回数は増加し、潜時が短縮した。GABA<sub>B</sub>受容体作動薬であるバクロフェン注入では、嚥下に変化はみられなかった。

### 4. 電気刺激と神経作動薬注入による嚥下筋活動の変化の相違

電気刺激は刺激部位の神経細胞とその部位を通過する神経線維の両方を興奮させるが、神経作動薬は神経細胞の活動のみを変化させる。電気刺激と神経作動薬注入によって引き起こされた嚥下筋活動の相違を検討した結果、両者の筋活動の変化は同様であり、電気刺激は刺激部位の神経細胞を興奮させることで嚥下を変化させていたことが確認された。

## 考 案

嚥下は、咽喉頭粘膜からの知覚刺激が上喉頭神経 (SLN) を介して延髄の嚥下中枢へ入力され、そこで形成される特異的な運動指令が呼吸筋や咽喉頭筋の運動細胞へ伝達されて生じる反射運動である (引用文献2)。そして、上位中枢から様々な入力があるが、嚥下中枢の活動を調節していることが初めて示された。特に外側毛帯背側核 (LLD) の神経細胞を興奮させると、SLN刺激で誘発される嚥下が促通された。さらに、その効果はLLDへのGABA作動性投射やグルタミン作動性投射を介して調節されていると考えられた。しかし、LLDへの電気刺激や神経作動薬注入だけでは、嚥下が誘発されることはなかった。したがって、LLDの神経細胞からの出力は直接的に嚥下中枢を駆動させるのではなく、上喉頭神経からの入力によって誘発される嚥下反射の起こりやすさを調節していると考えられた。

外側毛帯とその周辺は、大脳基底核の出力核である黒質網様部 (substantia nigra pars reticulata : SNr) からのGABA作動性投射を受けている。パーキンソン病では、SNrからのGABA作動性出力の亢進が歩行障害を誘発すると推測されている (引用文献3)。本研究において、SLN刺激で誘発される嚥下はLLDへのGABA作動薬注入で抑制され、GABA拮抗薬注入で促通されたことから、パーキンソン病のような大脳基底核変性疾患における嚥下障害の病態には、SNrからLLDへのGABA作動性出力の病的亢進が関与している可能性も示唆された。

さらに、外側毛帯は聴覚の中継核であるため、聴覚入力が嚥下を調節している可能性も考えられる。本実験では実際の音響刺激と嚥下の関係について検討していないが、騒音下では無意識に発声が増強する現象 (Lombard reflex) などが知られており、外側毛帯で中継される聴覚入力が咽喉頭筋の筋活動を変化させることも容易に推察できる。今後は実際の音響刺激に対する、嚥下を含めた咽喉頭筋活動の変化やLLDを中心とした外側毛帯と嚥下中枢との神経接続様式を明らかにする必要があると考える。

## 結 論

外側毛帯とその周辺は、嚥下の調節に関与することが明らかとなった。特に外側毛帯背側核(LLD)の神経細胞の興奮による嚥下の促通効果には、GABA作動性投射やグルタミン作動性投射が関与していると考えられた。




## 引 用 文 献

1. Schuller G., Fischer S., Schweizer H. 1997. Significance of the paralemniscal tegmental area for audio-motor control in the mustached bat, *Pteronotus p. parnellii*: the afferent off efferent connections of the paralemniscal area. *Eur J Neurosci* 9, 342-355.
2. Jean A. 2001. Brain stem control of swallowing: neuronal network and cellular mechanisms. *Physiol. Rev* 81:926-969.
3. Takakusaki K., Ohinata-Sugimoto J., Saitoh K., Habaguchi T. 2004. Role of basal ganglia-brainstem systems in the control of postural muscle tone and locomotion. *Prog. Brain Res.* 143, 231-237.

## 参 考 論 文

1. Adachi M, Nonaka S, Katada A, Arakawa T, Ota R, Harada H, Takakusaki K, Harabuchi Y. 2010. Carbachol injection into the pontine reticular formation depresses laryngeal muscle activities and airway reflexes in decerebrate cats. *Neuroscience Res* 67, 40-50
2. 野中聡, 太田亮, 片田彰博, 原田広文, 高草木薫, 原渕保明. 2006. 音刺激による喉頭フィードバック機構. *日気食会報* 57, 74-79.

## 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士 (医学)	氏 名	太 田 亮
<p>審査委員長 <span style="font-size: 1.2em;">坂本尚彦</span> </p> <p>審査委員 <span style="font-size: 1.2em;">高橋本 蓮</span> </p> <p>審査委員 <span style="font-size: 1.2em;">高井 豊</span> </p>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Contribution of the lateral lemniscus to the control of swallowing in decerebrate cats.</p> <p>(外側毛帯の嚥下調節における機能的役割)</p>			
<p>外側毛帯は聴覚中継核として知られている。一方、騒音下では、無意識に発声が増強することから、聴覚フィードバックが発声という呼吸筋と喉頭筋が協調した運動パターンの制御に関与していることが知られている。本論文は、これらの事実から、聴覚中継核である外側毛帯が、嚥下運動という呼吸筋と咽喉頭筋の協調運動の制御に関与しているという仮説を立て、それを電気生理学的手法および神経薬理学的手法を用いて検証した研究である。</p> <p>実験では、上喉頭神経刺激により誘発される嚥下運動に対する外側毛帯の刺激効果を解析している。除脳動物モデルを用いており、無麻酔で実際の嚥下運動に対する効果を解析している点が特徴と言える。また、電気刺激のみならず神経伝達物質の微小注入による刺</p>			

激を用いて、通過線維ではなく、外側毛帯の神経細胞に依ることを確認している点も評価できる。

得られた結果は明白で、外側毛帯の刺激により嚥下運動が促通されることが示された。また、外側毛帯への $\gamma$ アミノ酪酸 (GABA) (特に GABA<sub>A</sub> 受容体を介する) 投射およびグルタミン酸投射が、それぞれ抑制性および促通性に嚥下運動の制御に関与していることを明らかにした。

外側毛帯へは、大脳基底核の黒質網様部から GABA 投射が存在することが知られている。今回得られた結果は、聴覚フィードバックが呼吸運動と咽喉頭運動の統合による運動パターンの形成に影響を与えるという仮説を証明するのみならず、パーキンソン病などの基底核変性疾患における臨床病態の理解にもつながるもので、今後の発展・応用が期待される優れた研究であり、学位論文としてふさわしい内容と評価できた。

論文提出者は、審査委員の質問および関連領域の質問に適切に回答し、さらに今後の研究の展開について明確なビジョンを持っていることが明らかであった。

以上の結果から、委員会は、本論文が学位 (博士) の称号を授与するにふさわしい論文と判定した。