

学 位 論 文 の 要 旨

学 位 の 種 類	博 士	氏 名	原 田 広 文
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Effects of injecting GABAergic agents into the medullary reticular formation upon swallowing induced by the superior laryngeal nerve stimulation in decerebrate cats.</p> <p>(延髄網様体の嚥下誘発神経機構に対するGABA作動性投射の機能的役割)</p> <p>共 著 者 名</p> <p>高草木 薫、北 進一、松田 光悦、野中 聡、坂本 尚志</p> <p>Neuroscience Research 51 (2005) 395-404</p> <p>研 究 目 的</p> <p>嚥下は日常生活の中で、通常は意識しないで行う人間の生命維持の基本的な行動であると同時に、食を楽しむという生きる喜びの一つでもある。しかし、口腔咽喉頭領域の疾患あるいは脳幹や大脳皮質、大脳基底核や小脳などの神経疾患による合併症ないし後遺症により嚥下障害を起こすことがあり、その原因は多岐にわたり病態もさまざまである。嚥下障害の病態を理解するうえで、その基礎となる嚥下の神経・筋機構を理解し、その中枢メカニズムを明らかにすることはきわめて重要である。</p> <p>嚥下は延髄に反射中枢を持ち、咽喉頭粘膜からの知覚入力によって惹起されて起こる協調運動である。上喉頭神経を経由した知覚入力は延髄背側の弧束核のニューロンを興奮させる。その信号は嚥下パターンを生成するパターンジェネレータ（嚥下中枢）の活動を介して、咽喉頭筋細胞の存在する疑核に伝達され、嚥下が誘発される。嚥下に対応して特異的に活動する神経細胞（嚥下関連ニューロン）が延髄外側の脳幹網様体に集中して存在することから、嚥下のパターンジェネレータは延髄網様体外側部に存在すると考えられている。しかし、嚥下中枢に対して、大脳皮質・大脳基底核・小脳などの上位中枢から、どのような興奮性入力や抑制性入力が投射してくるのかは未だ明らかにされていない。</p> <p>上位中枢からの入力は神経伝達物質の放出を介して嚥下中枢に作用する。これまでの研究により、興奮性伝達物質であるグルタミン酸が嚥下中枢を興奮させて嚥下を促通させることが明らかとなっている。しかし、嚥下中枢に対する抑制性入力が存在するのか否か、またどのような神経伝達物質が抑制効果を誘発するののかについては解明されていない。そこで本研究では、中枢神経系における代表的な抑制性伝達物質であるガンマアミノ酪酸（γ-aminobutyric acid; GABA）に焦点を当て、嚥下中枢に対するGABA作動性物質の機能的役割について検討した。</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12頭（体重2.5~5kg）を用いた。ハロセン・笑気麻酔下にて、上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶ面で外科的に上位脳を離断して、除脳ネコモデルを作製した。

2. 筋電図の記録と上喉頭神経(SLN)刺激

オトガイ舌骨筋(GH)、甲状披裂筋(TA)、輪状咽頭筋(CP)、および横隔膜、腹直筋の各々に50 μ mのStainless wireを刺入し、筋活動を記録した。一侧の上喉頭神経(SLN)に刺激電極を装着した。SLNに0.2ms, 0.3~6V, 10~20Hzの連続電気刺激を10-20s間加えて嚥下を誘発した。一方、咽頭部に挿入したシリコンチューブから約0.5mlの蒸留水を注入し、自然嚥下を誘発した。

3. ビククリン(GABA_A受容体拮抗薬)とムシモール(GABA_A作動薬)の微量注入

ビククリン、或いはムシモール(各々5mM, 0.1~0.15 μ l)を封入した微小ガラス管(外径0.2mm)を延髄に刺入し、油圧ポンプを用いて、各々の物質を弧束核(NTS)や疑核(AMB)、そして小細胞性網様核(NRPv)に微量注入した。ビククリンやムシモールの注入前と注入後のSLN誘発嚥下の回数や上記筋電図の活動パターンを解析した。

4. 組織標本の作製

実験終了後、薬物注入部位に同量の5%Fast green色素を注入した。大量のネブタール麻酔で、脳幹を摘出し、10%ホルマリンで固定した。後に50 μ mの凍結切片を作製し、組織学的に薬物注入領域を検索・同定した。注入部位はBermanのネコ脳定位アトラスに照合した。

成 績

1. SLN刺激により誘発される嚥下の同定

嚥下は①咽頭収縮筋(CP)の持続的な活動、②咽頭収縮筋の活動休止、③一過性の喉頭挙上筋(GH)と声門閉鎖筋(TA)の活動亢進、④咽頭収縮筋の活動再開、という定型的な筋活動パターンで特徴付けられる(引用文献1)。喉頭反射を誘発する1.1~1.3倍の強さでSLNに連続電気刺激を加えると、この筋活動パターンが誘発された。咽頭部への蒸留水注入による自然嚥下においても、全く同様の筋活動が誘発された。一方、SLNに加える刺激強度や刺激頻度を増加させると咳が誘発された。

2. 延髄へのビククリンとムシモール注入の効果

(1) GABA_A受容体拮抗薬であるビククリンを延髄網様体に注入すると、SLN刺激により誘発される嚥下の回数が増加した。また、嚥下回数の増加に加えて、咳が誘発される例も観察された。ビククリンによる嚥下の促通効果は、注入開始1~2分後に出現し、10~20分間持続した。また、嚥下の回数が増加したにも拘らず、一回の嚥下に要する時間や、咽喉頭筋の活動パターンには著明な変化はなかった。

(2) GABA_A作動薬であるムシモールを延髄網様体に注入すると、SLN刺激による嚥下の回数は減少し、その作用は約15分間持続した。

3. 注入部位

12頭において62例のビククリン注入を行った。11例で嚥下が促通された。嚥下の促通に加えて咳を誘発した例は8例に認められた。嚥下を促通せず、咳のみを誘発させた注入は2例であった。嚥下を促通した注入部位は吻・尾側方向に約2mm、内外側方向に約1.5mmという極めて狭い領域に分布しており、延髄外側の小細胞性網様核(NRPv)に一致していた。咳を誘発した部位は嚥下促通領域のやや背側に分布していた。NTSやその近傍へのビククリン注入は著明な作用を示さなかった。一方、ムシモールはNRPvに注入された場合にのみ、嚥下を抑制した。

考 案

GABAやグルタミン酸などアミノ酸に加えて、モノアミン、アセチルコリン、ペプチドなどの様々な神経伝達物質が嚥下に関与している。本研究の成績は、弧束核ではなく、延髄網様体外側部(NRPv)へ投射するGABA作動性投射系が嚥下の調節に関与することを示唆する。

嚥下のパターンジェネレータの構成要素である嚥下関連ニューロンは、発射特性や解剖的な存在領域から様々なタイプに分類されている。特に、嚥下時にのみに活動する嚥下関連ニューロンはNRPvに集中して存在する(引用文献2)。従って、本研究の成績は、GABA作動性投射が嚥下時に特異的に活動するニューロン群に作用して嚥下を調節すると考えられる。

ピククリンの注入は嚥下の回数を増加させた。しかし、一回の嚥下に要する時間や咽喉頭筋の活動パターンには著明な変化はなかった。即ち、GABA作動性投射は、嚥下の時間的パターンよりも、むしろ嚥下の回数を決定する因子であることを推定させる。

GABA作動性ニューロンの候補には、延髄網様体内の局所GABAニューロンと大脳基底核の出力核である黒質網様部(SNr)に起始するGABA作動性ニューロンとが挙げられる。基底核疾患の一つであ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定されている(引用文献3)。ムシモールの注入が嚥下を抑制した事実は、延髄網様体に対する過剰なGABA抑制作用がこの疾患における嚥下障害にも関与する可能性を示唆する。

さらに本研究の成績はGABA作動性投射が嚥下のみならず咳の調節にも関与することを示している。咳を誘発するピククリンの注入領域と嚥下を促通させる注入領域には大まかな機能局在が存在していた。即ち、GABA作動性投射は、異なる領域の網様体細胞活動を調節することにより嚥下や咳などの咽喉頭反射の発生と切換えにも関与している可能性がある。

結 論

延髄網様体外側部へのGABA作動性投射は嚥下の制御に関与すると共に、咽喉頭反射の発生と切換えにも関連していると考えられる。

引 用 文 献

1. Jean, A., 2001. Brain stem control of swallowing: neuronal network and cellular mechanisms. *Physiol. Rev.* 81, 929-969.
2. Umezaki, T., Matsuse, T., Shin, T., 1998. Medullary swallowing-related neurons in the anesthetized cat. *Neuroreport* 9, 1793-1798.
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. Takakusaki K, Saitoh K, Harada H, Kashiwayanagi M. 2004. Role of basal ganglia-brainstem pathways in the control of motor behaviors. *Neurosci Res.* 50, 137-151
2. Takakusaki K, Saitoh K, Harada H, Okumura T, Sakamoto T. 2004. Evidence for a role of basal ganglia in the regulation of rapid eye movement sleep by electrical and chemical stimulation for the pedunculopontine tegmental nucleus and the substantia nigra pars reticulata in decerebrate cats. *Neuroscience* 124, 207-220.
3. Akira Matsumoto, Mitsuyoshi Matsuda, Hirofumi Harada, Masanori Takekawa, Shinji Shimazu. Malignant Fibrous Histiocytoma of the mandible. *Asian J Oral Maxillofac Surg* 2004;16:260-264

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	原 田 広 文
審査委員長 吉 田 成 孝 ㊦			
審査委員 坂 本 尚 志 ㊦			
審査委員 高 草 木 薫 ㊦			
審査委員 松 田 光 悦 ㊦			
<h3 style="margin: 0;">学 位 論 文 題 目</h3> <p style="margin: 5px 0 0 0;"> Effects of injection GABAergic agents into the medullary reticular formation upon swallowing induced by the superior laryngeal nerve stimulation in decerebrate cats. (延髄網様体の嚥下誘発神経機構にたいする GABA 作動性投射の機能的役割) </p>			
<p style="margin: 0;"> 本論文は除脳ネコにおいて上喉頭神経刺激による嚥下反応誘発を行った際に延髄に投与した GABA の作用を検討したものである。 </p> <p style="margin: 0;"> 本論文は、延髄の嚥下誘発神経機構に対する GABA 作動性投射の機能的役割を検討したものである。 </p> <p style="margin: 0;"> 本論文で用いられている手法は以下の通りである。除脳ネコモデルの作製、オトガイ舌骨筋、甲状披裂筋、輪状咽頭筋および横隔膜と腹直筋の筋電図記録と上喉頭神経の刺激電極による電気刺激、GABA_A 受容体作動薬と GABA_A 受容体拮抗薬の延髄内微量注入、薬物注入部位同定のための組織学的検討。いずれも確立された手法であり、適切に実験は行われている。また、実験動物を取り扱う倫理規定にもかなっている。 </p>			

従来、延髄での嚥下関連ニューロンが網様体外側部に存在する事は知られていたが、網様体外側部への上位中枢からの投射に関しては明らかではなかった。本研究において以下の事が明らかとなった。GABA_A受容体拮抗薬の微量注入により上喉頭神経刺激による嚥下の促通効果と咳の出現が認められた。逆に GABA_A受容体作動薬により嚥下の回数が減少した。嚥下の促通、あるいは、抑制作用を誘発した薬物注入部位は延髄外側の小細胞性網様核に一致していた。

本論文により明らかとなった GABA の延髄網様体外側部への作用は、嚥下と喉頭反射の生成メカニズムの理解に大きな前進となる知見である。また、パーキンソン病での嚥下障害が黒質網腰部の GABA 作動性ニューロンからの出力亢進により説明できる可能性も示している。この様に本論文は十分な医学生理学的な意義を認められる。

本論文は十分な考察もなされて、適切に構成されている。

さらに、論文提出者に対して本論文および関連領域に関する試問に対し適切な応答が得られ十分な学力を有することが示された。

以上より、審査委員会は本論文を学位論文として適切なものであると判断した。