

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20592010

研究課題名（和文） 多機能性喉頭運動を制御する中枢パターン生成機構の解析

研究課題名（英文） Analysis of pattern generating neural networks for laryngeal multifunctional activities.

研究代表者

中澤 健（NAKAZAWA KEN）

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：10312943

研究成果の概要（和文）：喉頭は発声、嚥下を含む上気道反射等、種々の運動機能を担うが、これらの運動出力は脳幹に存在するパターン生成機構によって制御されると考えられる。本研究により、モルモット脳幹の中脳-延髄領域において、発声運動を駆動する発声誘発部位が同定された。また嚥下運動の生成に関与する嚥下関連ニューロンが同定され、それらが嚥下運動時に種々の神経活動パターンを呈すること、多様な延髄内投射をもつ神経ネットワークを形成していることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）： The larynx serves various behaviors including vocalization and upper airway reflexes such as swallowing. It is considered that the motor output during these behaviors is controlled by pattern generating neural networks in the brainstem. In this study, the brainstem vocal sites were identified in the region between the midbrain and the medulla in guinea pigs. Swallowing-related neurons (SRNs) were identified, which has demonstrated that the SRNs exhibit various types of firing patterns during swallowing and that the SRNs form the neural network for swallowing with their complex axonal projections within the medulla.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,800,000	540,000	2,340,000
21年度	900,000	270,000	1,170,000
22年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：喉頭科学

## 1. 研究開始当初の背景

喉頭は呼吸機能、発声機能、気道反射機能等の多機能性を有する器官である。これらの運動時における喉頭運動出力は、脳幹に存在するパターン生成機構によって制御されると考えられている。それぞれの運動に関わるパターン生成機構は、互いに複雑に絡み合っ

て柔軟性を持った神経ネットワークとして機能していると推察されるが、その詳細は不明である。その解明のためには、個々のパターン生成機構に関わるニューロンの同定およびその活動パターン様式、結合様式等の知見を集積していく必要がある。我々は、非動化モデル（非動化発声、非動化嚥下等）を用

ることによって、求心性入力 of 修飾を受けない、パターン生成機構による純粋な運動出力に相関した神経活動を、非動化による安定した状況下で記録解析する、という電気生理学的実験手法を以前から推し進めており、本研究において、モルモットにおける発声誘発部位の同定、嚙下運動に関わるパターン生成機構の解析を開始するに至った。

## 2. 研究の目的

(1) 喉頭の重要な機能である発声運動を生成する神経ネットワーク機構の解明に際し、実験モデルとなるモルモットの発声誘発部位を同定する。

(2) 嚙下運動を生成する神経ネットワーク機構を解明するため、モルモット延髄嚙下関連ニューロンを同定し、その活動様式、細胞分布、軸索投射等を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) ウレタン麻酔モルモットを用いて発声運動の誘発を行った。内喉頭筋である甲状被裂筋と輪状甲状筋、横隔膜、腹筋の筋電図および発声時音声の記録を行い、吸気活動と呼気活動のリズミカルな反復運動パターンおよび呼気時に見られる内喉頭筋および腹筋の特徴的な筋活動パターンにより発声活動を同定した。微小タングステン電極を用いた刺激頻度 100Hz の連続電気刺激、および微小ガラス管電極を用いたグルタミン酸作動薬または GABA 拮抗薬の微量注入による化学刺激によって発声運動を誘発し、発声誘発部位のマッピング解析を行った。

(2) ウレタン麻酔モルモットを用いて脳幹における嚙下関連ニューロンの記録および解析を行った。嚙下運動を惹起する主要な咽喉頭筋神経である迷走神経咽頭枝と反回神経、呼吸筋神経である横隔神経の神経電図記録を行い、迷走神経咽頭枝と反回神経におけるバースト活動により嚙下活動を、横隔神経における反復性活動により呼吸活動を同定した。ガラス電極を延髄背側より刺入し、上喉頭神経刺激に対して順行性に応答するニューロンの細胞外記録を行った。上喉頭神経の連続刺激により非動化嚙下を誘発し、嚙下運動時における活動パターンの変化により嚙下関連ニューロンを同定した。さらに嚙下関連ニューロン活動記録後、傍細胞標識を行い細胞形態および軸索投射の解析を行った。

## 4. 研究成果

(1) 電気刺激を行った結果、中脳中心灰白質領域から橋腹外側部を経由し延髄後疑核近傍まで連続して発声誘発部位が存在することがわかった (図 1)。また化学刺激を行

った結果、中脳中心灰白質を含む領域において発声が誘発されることがわかった。中脳中心灰白質領域の化学刺激により発声誘発が可能であったことから、発声時に運動性皮質からの下行性投射などにより駆動されると考えられるニューロンの細胞体が中脳中心灰白質に存在することが示唆された。さらに電気刺激により中脳中心灰白質領域から延髄後疑核近傍まで連続して発声誘発が可能であったことから、これらの中脳中心灰白質ニューロンが橋腹外側部を経由し後疑核領域へ投射している可能性が示唆された。

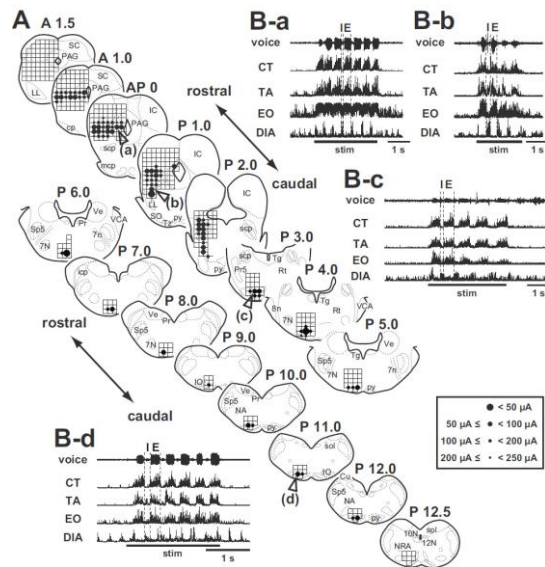


図 1 電気刺激により誘発される発声部位と誘発発声時の内喉頭筋活動パターン

(2) 嚙下関連ニューロンの主な活動様式として、嚙下咽頭期に活動する early neuron、嚙下咽頭期後に活動する late neuron、嚙下咽頭期に抑制される inhibited neuron の 3 タイプが同定された (図 2)。また嚙下時に発火頻度が増加するニューロンのうち、呼気時に発火頻度が増加する呼吸関連ニューロンも存在した。嚙下関連ニューロンは延髄孤束核内とその周辺部、および孤束核と疑核の間に位置する背側および腹側延髄網様体に存在した (図 3)。さらに孤束核、網様体、疑核、舌下神経核、迷走神経背側運動核領域への軸索投射が存在することが明らかとなり、孤束核内における局所神経回路の存在、孤束核-網様体間における相互投射回路の存在が示された (図 4)。種々の活動パターン様式をもつ嚙下関連ニューロンが延髄内で複雑なネットワークを形成し嚙下運動を生成していることが示唆された。

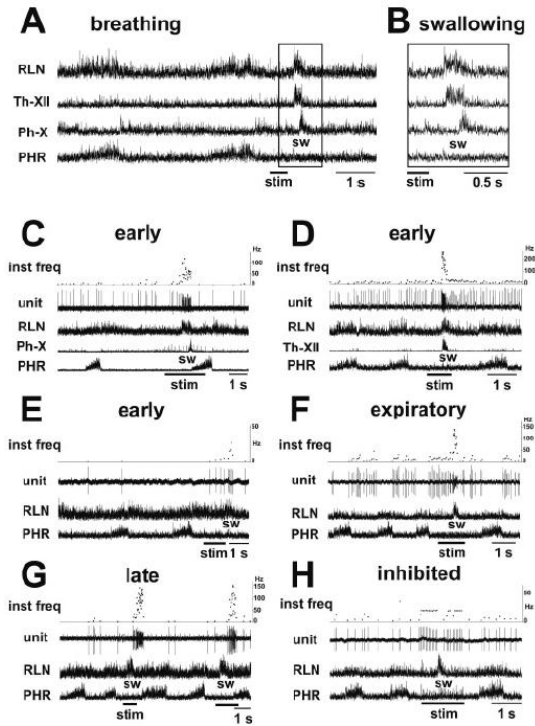


図2 嚥下関連ニューロンにおける種々の活動パターン様式

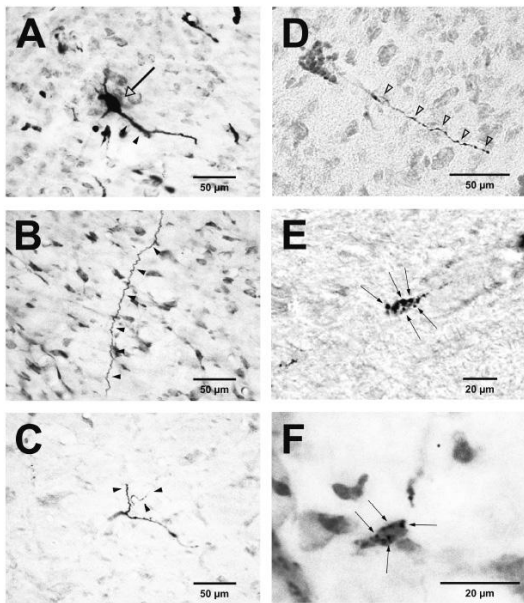


図3 標識された嚥下関連ニューロン

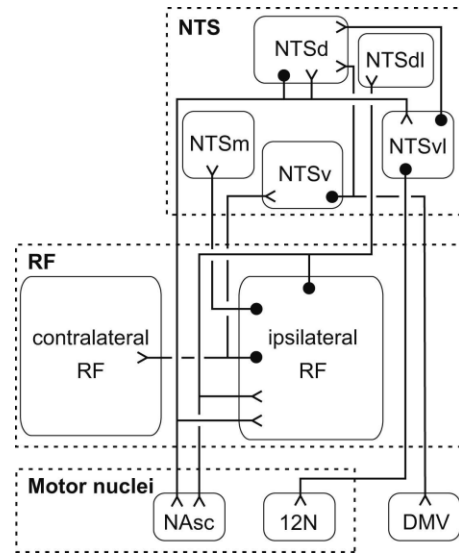


図4 嚥下関連ニューロンの延髄内ネットワーク

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

① Sugiyama Y, Shiba K, Nakazawa K, Suzuki T, Umezaki T, Ezure K, Abo N, Yoshihara T, Hisa Y. Axonal projections of medullary swallowing neurons in guinea pigs. The Journal of Comparative Neurology 2011, in press. (査読:有)

② Suzuki T, Shiba K, Nakazawa K. Swallow-related inhibition in laryngeal motoneurons. Neuroscience Research 2010 67:327-333. (査読:有)

③ Sugiyama Y, Shiba K, Nakazawa K, Suzuki T, Hisa Y. Brainstem vocalization area in guinea pigs. Neuroscience Research 2010 66:359-365. (査読:有)

[学会発表] (計3件)

① Sugiyama Y, Suzuki T, Shiba K, Nakazawa K, Hisa Y. Brainstem vocalization regions in guinea pigs. 7<sup>th</sup> FENS FORUM OF NEUROSCIENCE, Jul 6, 2010, Amsterdam, The Netherlands.

② Sugiyama Y, Shiba K, Nakazawa K, Suzuki T. Brainstem vocal sites in guinea pigs. THE 39<sup>th</sup> ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, Oct 21, 2009, Chicago, USA.

③ Suzuki T, Nakazawa K, Shiba K, Ono K.  
Swallowing-related inhibitory inputs to  
laryngeal motoneurons. THE 38<sup>th</sup> ANNUAL  
MEETING OF THE SOCIETY FOR NEUROSCIENCE,  
Nov 18, 2008, Washington DC, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者 中澤 健

(NAKAZAWA KEN)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：10312943

(2) 研究分担者 下山 一郎

(SHIMOYAMA ICHIRO)

千葉大学・フロンティアメディカル工学研  
究開発センター・教授

研究者番号：60115483

(3) 連携研究者 梅崎 敏郎

(UMEZAKI TOSHIRO)

九州大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80223600