

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18746

研究課題名（和文）新規開発した延髄スライス標本を用いた中枢神経系における嚥下活動の解析

研究課題名（英文）Analysis of the swallowing activity in the central nervous system by using newly developed medullary slice preparation

研究代表者

近藤 敬秀（Kondo, Takahide）

大阪大学・大学院歯学研究科・招へい教員

研究者番号：90870444

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：厚さ800 μ mのラット延髄スライス標本を用いて、中枢神経系での嚥下活動形成中枢の解析を行うことが可能であることを示した。また、この延髄スライス標本を用いて、嚥下活動のパターン形成におけるnon-NMDA受容体およびNMDA受容体の役割について検討するため薬剤投与実験を行い、NMDA受容体が嚥下活動形成のために主要な働きを持つことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

嚥下活動を発現しうる延髄スライス標本の作成に成功した。この標本の作成に成功したのは本研究が世界で初であり、今後この実験方法を用いたさまざまな中枢神経系のネットワーク解析が進むことが期待できる。

研究成果の概要（英文）：We reported the use of a transverse brainstem slice(800 μ m) to study the activity of the central pattern generator(CPG) responsible for the swallowing. Using electrophysiological recording from the XII nerve, we demonstrated that certain bursts evoked by the electrical stimuli applied to the X or application of the bicuculline represent the discharges of this pattern generator. In addition, we showed the effects of NMDA and non-NMDA receptor antagonists in the swallowing-like activity.

研究分野：電気生理学

キーワード：嚥下活動 セントラルパターンジェネレーター 呼吸活動 電気生理学

1. 研究開始当初の背景

日常生活において、生命維持のために我々が無意識で行なっている活動の 1 つに嚥下活動が挙げられる。この複雑でかつ精密な神経・筋活動としての嚥下活動がひとたび障害されると、誤嚥性肺炎や低栄養障害、さらには生命危機さえももたらされる。このような嚥下活動について、これまで世界中でさまざまな研究が進められているが、とりわけ中枢神経系での嚥下活動パターン形成においては、延髄孤束核(NTS)が嚥下活動パターンの形成に関与している可能性があることまでは明らかにされているが、その内部でのネットワークなどの全貌がまだ明らかにされていない。

2. 研究の目的

中枢神経系における嚥下活動という分野自体が、その複雑で特異性が強いが故、積極的な研究対象とされることが国内外で少ないのが事実であるが、違う見方をすると、新たな発見が生まれやすい分野でもある。また、これまでの研究ではさまざまな動物、実験手法を用いて研究が行われており、実験手法が異なるために研究施設による報告内容、考察にも違いが生まれていることもしばしばである。本研究では、そうした実験条件の違いにかかわらず、より根本的な中枢神経ネットワークでの嚥下活動パターン形成の調節機構の解明を目的とする。

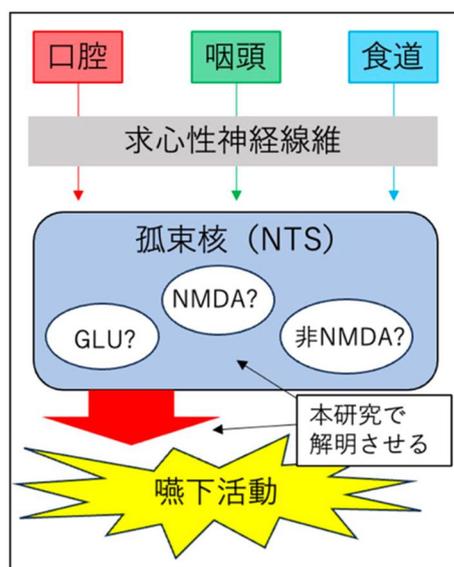


図1. 口腔から食道にかけて行われる嚥下活動。延髄孤束核 (NTS) に入力された刺激はどのようにして中枢神経ネットワークで調整されて嚥下活動を発現させているのか？

3. 研究の方法

生後 0-2 日齢の SD 系ラットに対して、イソフルランにて深麻酔後に脳幹ブロックを抽出し、マイクロスライサーを用いて脳幹ブロックより橋を除去し、迷走神経 1 対、NTS、呼吸中枢である pre-Botzinger complex、舌下神経運動核および最吻側の舌禍神経運動神経 1 対を含む厚さ 600-800 μ m の延髄スライス標本を作成した。

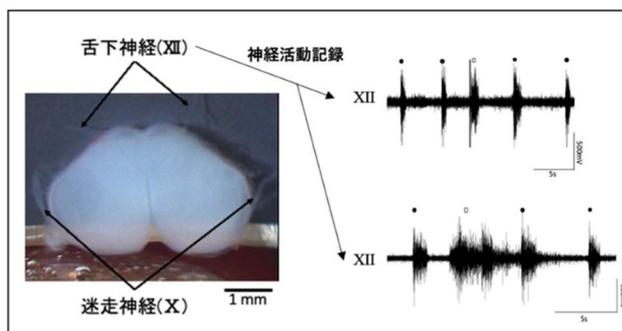
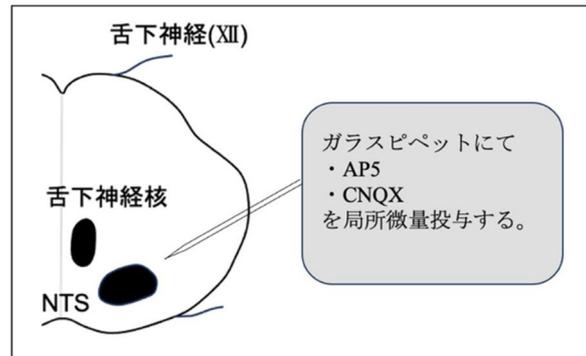


図2. 作成した延髄スライス標本 (左) と、その舌下神経より記録された嚥下活動。迷走神経の電気刺激 (右上) と、延髄孤束核へのGABAA受容体拮抗薬投与 (右下) のどちらの方法でも舌下神経より嚥下活動が記録された。

続いて、スライス標本を用いて嚥下活動を誘発するために 2 つの方法をとった。1 つ目は迷走神経を電気刺激する手法である。迷走神経の電気刺激にて、誘発性に嚥下活動が安定して再現で

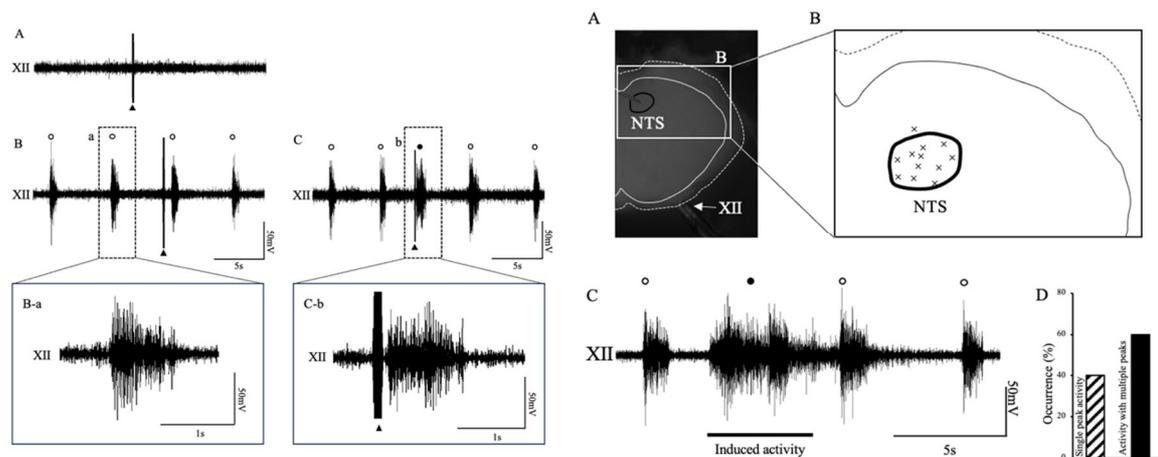
きることは、動物を対象とした過去の自施設及び他施設の研究にて確認されており、最も信頼性の高い方法と言える。2 つ目は、NTS に対して GABA_A 受容体拮抗薬である Bicuculline ((-)-Bicuculline methiodide, BIC) を局所微量投与する方法である。過去の自施設及び他施設の研究でも NTS に対する BIC の局所微量投与により嚥下活動が誘発されている。結果として、本スライス標本からは自発的な呼吸活動とともに誘発性の嚥下活動が記録された。

次にスライス標本を用いて、嚥下活動を形成するために必須となる主要な興奮性神経伝達物質受容体を明らかにすることを試みた。非 NMDA 受容体拮抗薬である CNQX (6-Cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione) もしくは、NMDA 受容体拮抗薬である D-AP5 (D-(-)-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid) を投与した。



4. 研究成果

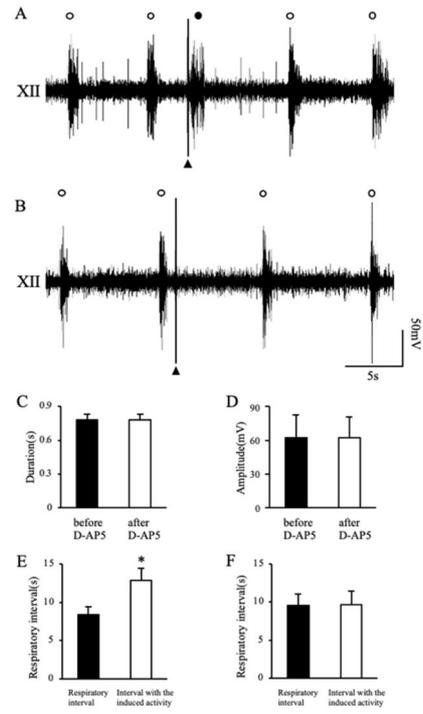
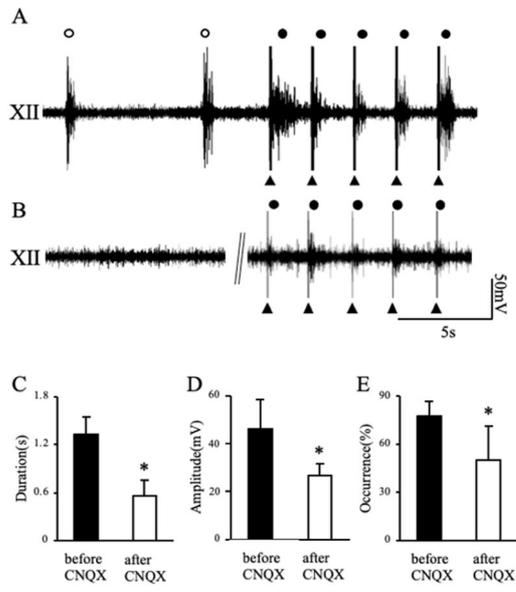
本スライス標本からは自発的な呼吸活動とともに誘発性の嚥下活動が記録されることが明らかとなった。



また、非 NMDA 受容体拮抗薬である CNQX (6-Cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione) を人工脳脊髄還流液に投与したところ、自発的な呼吸活動が完全に消失したが、電気刺激誘発性の嚥下活動は記録された。

一方、NMDA 受容体拮抗薬である D-AP5 (D-(-)-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid) を投与したところ、自発的な呼吸活動は消失せず、電気誘発性の嚥下活動は記録されなくなった。嚥下活動と呼吸活動は、スライス標本上で分離可能であり、嚥下活動はその発現に NMDA 受容体

が主要な役割を果たすことが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kondo Takahide, Yamanishi Tadashi, Nishio Takahiro, Yokota Yusuke, Seikai Tetsuya, Enomoto Akifumi, Harada Takeshi, Tsuji Tadataka, Tanaka Susumu	4. 巻 1837
2. 論文標題 Swallowing-like activity elicited in neonatal rat medullary slice preparation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Brain Research	6. 最初と最後の頁 148955 ~ 148955
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2024.148955	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西尾崇弘、山西整、近藤敬秀、外川健史、青海哲也、横田祐介、原田丈司、古郷幹彦
2. 発表標題 新生仔ラット延髄スライス標本を用いた嚥下活動に対するセロトニンの中樞作用の検討
3. 学会等名 第75回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林夏子、西尾崇弘、近藤敬秀、山西整、外川健史、横田祐介、田中晋
2. 発表標題 不確縫線核が嚥下活動と呼吸活動に与える影響
3. 学会等名 第66回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------