

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592532

研究課題名(和文) 脳幹における嚥下関連ニューロンネットワークの生理学的ならびに組織学的研究

研究課題名(英文) Electrophysiological and anatomical study on the neuronal network of the brain stem swallowing-related neurons

研究代表者

梅崎 俊郎 (Umezaki, Toshiro)

九州大学・大学病院・診療准教授

研究者番号：80223600

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：嚥下のパターン出力を形成する役割を担っていると考えられる延髄ニューロンネットワークの実態を明らかにすることを目的に麻酔あるいは除脳したモルモット(guinea pig)を用いて、呼吸ニューロンを含めた嚥下関連ニューロンの嚥下時の活動様式およびニューロンネットワークの解明を試みた。延髄嚥下関連ニューロンは孤束核近傍から疑核に至る網様体に広く分布しており、これらの細胞へのトレーサー注入により同側の孤束核、疑核の運動ニューロンおよび対側の網様体に投射していることが判明した。

また、少なくとも一部の呼吸ニューロンは呼吸以外の嚥下や咳嗽などの運動パターンの形成にも関わっているものと考えられた。

研究成果の概要(英文)： We studied the medullary swallowing-related cells electrophysiologically and neuroanatomically in the anesthetized or decerebrated guinea pigs to analyze neuronal network involved in the swallowing pattern generation. Medullary swallowing-related neurons rather distributed diffusely from the nucleus tractus solitarius (NTS) to the nucleus ambiguus (NA) and adjacent reticular formation (RF). Axons of those cells, which were labelled juxtacellularly, projected to ipsilateral NTS cells and motoneurons of the NA, and contralateral RF cells.

Besides non-respiratory swallowing-related neurons, some respiratory neurons in the medulla seemed to be shared among the neuronal circuits underlying the generation of breathing and non-respiratory behaviors including swallowing and coughing.

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：嚥下関連ニューロン 延髄呼吸ニューロン 喉頭運動ニューロン 嚥下 発声 咳嗽反射

1. 研究開始当初の背景

嚥下の出力パターンを形成する神経機構は延髄の central pattern generator (CPG) という概念で説明されるが、これまでの研究によりこの、嚥下の CPG の構成要素は延髄内の孤束核細胞、延髄網様体細胞、疑核など運動神経細胞からなると考えられている。これまでの研究の成果からとりわけ、孤束核近傍ならびにその腹側の網様体のニューロンの役割は重要と考えられる。そのため嚥下のパターン出力を形成する役割を担っていると考えられるこれら介在ニューロンの電気生理学的性質の解析と、組織学的手法によりこれらのニューロンネットワークの実態を明らかにすることにある。

急速な高齢化の中で、高齢者の死因における肺炎の比率は高くなる一方であり、摂食嚥下障害、誤嚥による肺炎への対応は、多くの診療科が取り組んでいるにもかかわらず、いまだ十分な効果をあげているとは言い難く、高齢者に対していかに安全に経口摂取させるかという問題は医療を超えた人が人らしく生きていくうえで、まさに人生の質を左右する問題である。嚥下は口腔期(第一期)、咽頭期(第二期)、食道期(第三期)の3つの段階からなると理解されており、随意的に開始された口腔期の運動が、反射性に惹起される咽頭期嚥下へ、さらに蠕動運動である食道期へと連続する特殊な運動である。生理学的にもこのような運動制御の仕組みは他に例をみない。特に咽頭期嚥下は咽頭管が気道と食塊通路の共通路であるため最もクリティカルな場面となり、咽頭および喉頭を取りまく多数の筋群による高い再現性をもった最も精緻な運動の一つである。このような一連の嚥下運動は個々の反射の連続から成るのではなく、延髄に存在する嚥下のパターン形成器 CPG(central pattern generator)によってプログラムされた運動であるという傍証はこれまでも多くの知見があるが、しかしながら、この CPG を構成するインターニューロンの特性および構築はいまだ十分には解明されていない。嚥下障害の病態を真に理解するにはこの black box となっている脳幹網様体における嚥下のパターン形成機構を解明しなければならない。

2. 研究の目的

図1は前年までの科学研究費補助金による成果の一つであり、嚥下のパターン形成細胞の形態をモルモットで初めてとらえたものである。

さらに、電気生理学的に同定された多様な嚥下関連ニューロンに対して、組織学的追跡法も駆使してこれらネットワークの全容に迫ることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

無麻酔、除脳系の動物(モルモット)を用い、延髄嚥下ニューロンを電気生理学的に同定し、目的に応じて細胞内あるいは細胞外記録する。その際、fictive behavior model (Umezaki, et al:

Brain Res, 781: 25-36,1998)を用いるため、嚥下その他の上気道反射の同定のためには、上喉頭

神経、舌咽神経、反回神経神経、舌下神経、迷走神経咽頭枝などの神経の電気刺激あるいは神経

電位の記録が必要となる。人工呼吸器管理、筋弛緩剤による非動化、fictive 嚥下モデルという

のが、本研究の基本設定である。

電気生理学的に、末梢感覚線維からの入出力を解析するとともに、juxtacellular staining によ

る手法も併用し、形態学的にも細胞の投射様式を解析する。

A: 嚥下時における嚥下関連介在ニューロンの同定と活動様式の解析

(梅崎、安達、)

1) 無麻酔除脳動物を用い、筋弛緩剤により動物を非動化し人工呼吸下に'fictive' 嚥下時の

運動出力を上気道および呼吸各筋への運動神経よりその神経電位を導出する。fictive model は、

実際の運動とそれによる固有知覚のフィードバックを排除し中枢性のパターン出力そのものを観

察するためのものである(Umezaki, et al: Brain Res, 781: 25-36,1998)。

嚥下は一側上喉頭神経の電気刺激により誘発する。

2) 記録する運動神経は反回神経、上喉頭神経、舌下神経、迷走神経咽頭枝、舌咽神経、C5 横

隔神経および L1 腹筋神経とし、導出された神経電位は全波整流した後、1 kHz の sampling rate で

A/D 変換器 (CED1401 plus)を介してパーソナルコンピュータに取り込み、on-line でモニターし

ながら記録したものを spike 2 (CED)ソフトウェアにて表示し、fictive 嚥下活動の時間的・空間的出力パターンの解析を行う。

3) 同側の迷走神経咽頭枝の電気刺激に逆行性に短潜時で応答する網様体の嚥下ニューロンを

パターン形成ニューロンとして同定し、微小電極増幅器(日本光電 MEZ8301)で細胞内記録する。

記録された膜電位の安静呼吸および嚥下時の変化を末梢出力神経電位とともに記録し、時間的

変化のパターンを解析する。

4) 記録されたインターニューロンをその活動様式から嚔下関連ニューロンと同定する。

5) 嚔下のパターン形成に関連するインターニューロンが記録できた場合、記録電極より電気

泳動的に neurobiotin および HRP を注入し、実験終了後取り出した延髄内で解剖学的にその記録

部位を同定することにより嚔下のパターン形成に關与するインターニューロン群の延髄内分布を調べる。

4. 研究成果

嚔下のパターン出力を形成する役割を担っていると考えられるこれら介在ニューロンの電気生理学的性質の解析と、組織学的手法によりこれらのニューロンネットワークの実態を明らかにすることを目的に除脳したモルモット(guinea pig)を用いて、呼吸ニューロンを含めた嚔下関連ニューロンの嚔下時の活動様式およびニューロンネットワークの解明を試みた。延髄嚔下関連ニューロンは孤束核近傍から疑核に至る網様体に広く分布しており、これらの細胞へのトレーサー注入により同側の孤束核、疑核の運動ニューロンおよび対側の網様体に投射していることが判明した。これらの結果より延髄円が関連ニューロンは延髄呼吸ニューロン群や咽喉頭運動ニューロンとも機能的に結合し、嚔下・呼吸・気道防御反射を制御するネットワーク網を形成しているものと考えられた。また、嚔下関連ニューロンは呼吸や発声、さらには咳嗽をはじめとする気道防御反射とも深く関わっていることが判明した。嚔下時には多くの呼吸ニューロンは活動を停止するが、多くの phase-spanning ニューロンでは嚔下に同期する活動をしました。また、咳嗽では多くの吸息ニューロンは横隔神経の活動と同期した活動を示すのに対して phase-spanning ニューロンは咳嗽の呼出時にかつ増強を認めた。これらの結果は少なくとも一部の呼吸ニューロンは呼吸以外の嚔下や咳嗽などの運動パターンの形成にも関わっているものと考えられた(図3)。

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 5 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

〔図書〕(計 2 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅崎 俊郎 (UMEZAKI, Toshiro)

九州大学病院 診療准教授

研究者番号: 80223600

(2) 研究分担者

安達 一雄 (ADACHI, Kazuo)

九州大学病院 助教

研究者番号: 90380386

杉山 庸一郎

京都府立医学・医学部附属病院・研究員

研究者番号: 50629566

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

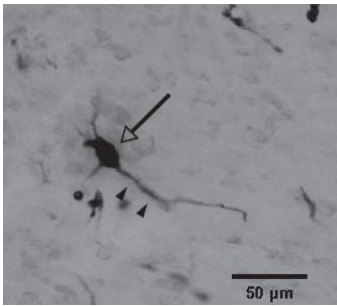


図 1. 矢印は、ガラス微小電極で上喉頭神経から orthodromic な入力を受けるニューロンの、嚥下時の活動様式を細胞がい記録し、嚥下のパターン形成にかかわる細胞であることを確認したのち、ニューロトレーサーである HRP および neurobiotin を positive current pulses (2.5 Hz, 100-200 ms duration, 4-7 nA, and lasting for 1-5 min) のパラメーターで電気泳動的に細胞内に取り込ませたものである。数時間から 10 数時間後に還流固定し、標本を観察すると右図のように数珠状の膨大部をもつ軸索が標識され投射様式が形態学的にも明らかとなる。

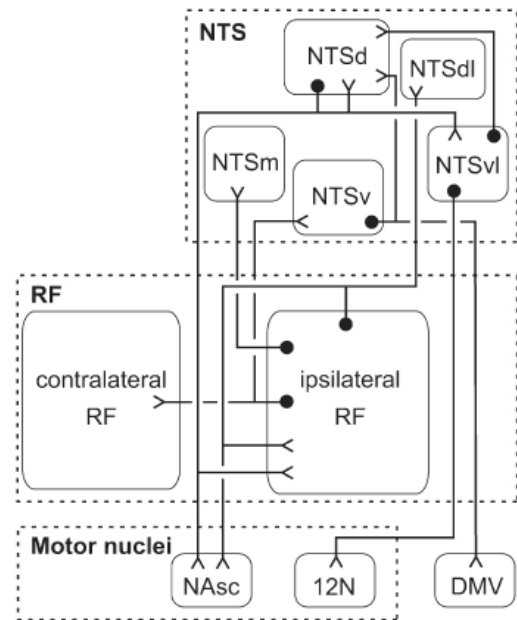


図 3. 延髄内の嚥下に関わるニューロの投射様式。

同側の孤束核、疑核および舌下神経への投射と網様体細胞には両側性に投射がみられた。

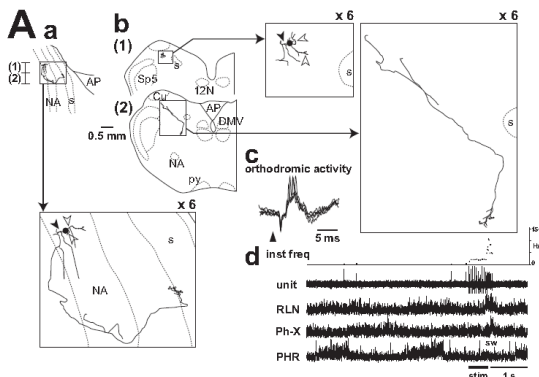


図 2. 孤束核近傍で記録された嚥下関連ニューロンの軸索投射。入出力様式のみならず軸索投射の様式、bifurcation の有無など詳細に解析することができる。