

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：34448

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592725

研究課題名(和文)脳卒中に伴う摂食嚥下障害発生機構の神経解剖学的解明

研究課題名(英文) Neuroanatomical investigation of orofacial dysfunctions derived from brain ischemia in rats.

研究代表者

森谷 正之 (Moritani, Masayuki)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：80303981

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)：脳卒中により「咬む」機能や「飲み込む」機能に障がいがあることがある。本研究は脳虚血による「咬む」機能や「飲み込む」機能への影響を神経解剖学的に解明することを目的とした。本研究により、意識下での運動を制御する大脳皮質から「咬む」機能や「飲み込む」機能を制御する領域に多くの情報伝達があることが明らかになった。しかし、脳卒中の発生場所や重症度がこれらの機能にいかに関与するかについては、更なる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated influence of the brain ischemia to the mastication and swallowing. At first, we examined the distribution of orofacial areas of the brain (secondary somatosensory cortex (S2)) projecting to the trigeminal principal nucleus or oral subnucleus of the trigeminal sensory nuclear complex (TSNC) after injections of a retrograde neural tracer in the normal rats. The results suggest that the orofacial S2 projects selectively to certain rostrocaudal levels of the contralateral TSNC, and the projections may allow the orofacial S2 to accurately modulate orofacial somatosensory transmission to higher brain centers including the orofacial S2 itself (Haque, et al., 2012). If these brain areas are injured, orofacial dysfunction may be occurred. Then we tried to produce the model rat with brain ischemia in orofacial S2 area. However, it is not so easy to make brain ischemia at restricted area. Further investigation should be needed.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：脳卒中 摂食嚥下機能 大脳皮質 三叉神経 ラット

1. 研究開始当初の背景

摂食嚥下機能は生命維持の根幹に関わる極めて重要な機能である。高齢社会となった我が国では、摂食嚥下障害は重要なテーマの一つとなっている。摂食嚥下障害をもたらす原因疾患として脳卒中は大きな位置を占めている。脳卒中患者の管理が進歩した現在において、歯科治療にこのような症状を有した患者が来院することは少なくないと思われる。さらにリハビリテーションの領域で、歯科医療の立場から脳卒中に伴う摂食嚥下障害患者の治療計画の立案や治療にアプローチする必要性も高まる可能性がある。しかし、脳卒中がいかんして摂食嚥下機能の低下をもたらしているのかについての知見はほとんどない。

一方、2000年以降、脳卒中の研究を進めるために脳卒中モデルラットが作出、利用されて多くの報告がなされている。脳卒中モデルラットには大きく2つのタイプがある。1つは局所的に血管を閉塞する「局所脳卒中モデル」で、もう一つは脳全体の血流を一時的に遮断し、その後再開させる「一過性脳虚血モデル」である。「局所脳卒中モデル」は血管が血栓や塞栓で閉塞された場合を再現可能なモデルであり、「一過性脳虚血モデル」は一時的な心停止が起こった後に心臓蘇生や電気刺激などにより心活動が再開したケースを再現可能である。しかし、脳卒中の部位や大きさなどの因子が、生体内で摂食嚥下機能にいかんして機能低下をもたらすかについては分かっていない。

本研究では、臨床現場で問題となる摂食嚥下障害の発生メカニズムを、モデル動物を用いた実験を通じて多角的な視点から解明し、歯科医療の立場から、脳卒中後に認められる摂食嚥下障害患者の治療計画立案や治療に関わる方向性を検討し、歯科医療の重要な社会的使命である「摂食嚥下機能の維持と増進」に貢献することを目指す。

2. 研究の目的

脳卒中（脳梗塞や脳卒中）の症状は、それらの発生部位や患者の身体状況などによって異なってくる。モデル動物を用いて臨床上的の問題点を再現することは、科学的エビデンスを基礎医学の立場から提示することになり、臨床現場での患者対応に有益な情報提供が可能となる。本研究では、脳卒中に伴う摂食嚥下障害の原因が、筋に直接収縮命令を出力する運動ニューロレベルでの変化なのか、運動ニューロンを制御する運動前ニューロンでの変化なのか、またはさらに上位中枢での変化なのか、脳卒中モデルラットを用いて摂食嚥下障害発生機構を神経解剖学的視点から解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 正常ラットにおける大脳皮質二次体性感覚野から三叉神経感覚核群への投射様態の解明

逆行性神経トレーサー (Fluorogold) を三

叉神経感覚核群に注入し、大脳皮質のどの領域に細胞体が認められるかを観察する (A)。また、(A) の観察により標識ニューロンが認められた大脳皮質二次体性感覚野の領域に順行性の神経トレーサー (biotinylated dextranamine) を注入して、三叉神経感覚核群のどの領域に標識ニューロンが認められるかを観察する。

(2) 脳卒中モデルラットの作出 - 一過性脳虚血による摂食嚥下機能への影響の検討

以下の手法により、一過性脳虚血モデルラットの作出を試みた。

適切にラットに麻酔を施す (ハロセンの吸入麻酔、必要に応じて手術部位の局所麻酔やペントバルビタールなどを併用する)

動物を背臥位 (仰臥位) にホットパッド上に置き、頸部腹側を剃毛する。

頸部正中 (やや実験側寄り、図1では左側) に皮膚切開を加える。

切開部より、腺組織や筋 (digastric muscle, sternohyoid muscle, sternomastoid muscle など) を圧排しつつ、総頸動脈、内頸動脈、外頸動脈を剖出する (この際、使用器具なども含めて、出血を最小限に留めるように注意)。

総頸動脈と内頸動脈の外側に沿って迷走神経が併走するので、それを注意深く剥離する。

外頸動脈が総頸動脈から分岐した後、その近位部から分岐する枝を注意深く剥離し、焼灼して切断する (この操作で外頸動脈の可動性が大きくなり、この後の操作が容易になる)。

外頸動脈をさらに遠位 (吻側) にできるだけ追跡し、絹糸 (6-0) で “強く” 縛る (縫合 A、図1参照)。また、外頸動脈の総頸動脈からの分岐部から近位部で、絹糸により “緩く” 縛る (縫合 B、図1参照)。

内頸動脈と総頸動脈を分岐部付近で小型クリップを用いて閉塞する。

縫合 A と縫合 B との間で外頸動脈を半切断する (でモノフィラメントを挿入するため)。

外頸動脈切断面より、先端を鈍にした (シリコンコートなどによる) 4-0 ナイロンモノフィラメントを 3cm 程度挿入し、縫合 A と縫合 B との間で外頸動脈を完全に切断する。

縫合 B を利用してナイロン糸を緩く固定する (ナイロン糸の脱落防止と出血を抑える)。

内頸動脈のクリップを解除する (出血しないか確認する)。

ナイロン糸を注意深く先に進めて、内頸動脈より MCA が分岐する部分に到達させる。

総頸動脈のクリップを解除する。

手術創を縫合する。

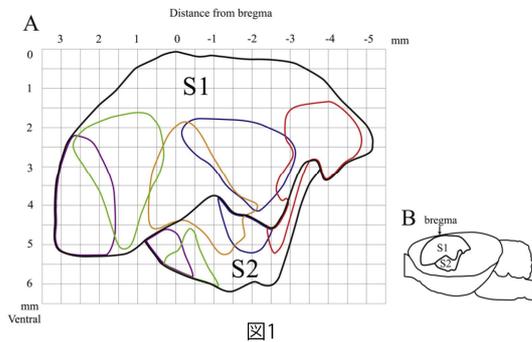
以上の手技で MCA を閉塞し、一定時間閉塞した後に血流を再開する。本法では血流遮断に 4-0 ナイロンモノフィラメントを使用してい

るが、これは 300 g 程度の S-D 系ラットを用いた場合で、動物の大きさによってフィラメントの太さを変更する必要がある。血流の再開には、注意深くモノフィラメントを抜き取り、縫合 B を強く縛ることで出血しないようにして行う。MCA 閉塞モデルラットの作出方法には様々なものがあるが、血管内閉塞モデルでは使用するラットの系統や血流遮断時間などが梗塞巣の大きさに影響してくる。

4. 研究成果

(1) 正常ラットにおける大脳皮質二次体性感覚野から三叉神経感覚核群への投射様態の解明

逆行性神経トレーサーである Fluorogold を三叉神経感覚核群に注入することにより、大脳皮質のどの領域に細胞体が認められるかを観察した。その結果、大脳皮質二次体性感覚野に体部位局在配列を示す様式で標識ニューロン細胞体が観察された(図 1 参照)。



(Haque et al, 2012 より改変)

図 1 の緑のラインで囲まれた領域は、Fluorogold を三叉神経第 3 枝の舌神経支配領域に注入したケースである。また、青のラインで囲まれた領域は三叉神経第 2 枝の眼窩下神経の支配領域、赤のラインで囲まれた領域は三叉神経第 1 枝支配領域に注入したケースである。このように、重複はあるものの、三叉神経感覚核群に対して入力してくる大脳皮質二次体性感覚野のニューロンには体部位局在配列が認められることが分かった。

また、これらの大脳皮質体性感覚野の様々な領域に、順行性の神経トレーサー (biotinylated dextranamine) を注入して、三叉神経感覚核群のどの領域に標識ニューロンが認められるかを示したのが図 2 である。図 2 の A と B は二次体性感覚野に、C と D は一次体性感覚野に神経トレーサーを注入したときの結果を模式的に示してある。どちらのケース共に、a は三叉神経主感覚、b は三叉神経中位核、c は三叉神経中位核から尾側核核への移行部、d と e は三叉神経尾側核レベルでの標識終末の分布を示している。このように、大脳皮質二次体性感覚野、一次体

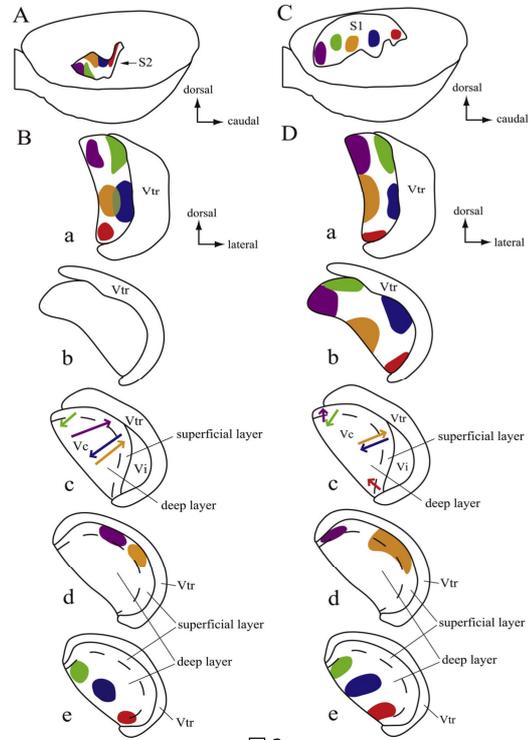


図 2

(Haque et al, 2012 より改変)

性感覚野から、三叉神経感覚核群への入力は体部位局在配列を示すことが明らかとなった。さらに、三叉神経末梢枝を電気刺激して大脳皮質二次体性感覚野で記録を取ったところ、神経トレーサー注入により標識された領域と末梢枝の電気刺激で応答が認められた領域とに対応関係があることも示された(図 3)。以上のことより、大脳皮質の体性感覚野から三叉神経感覚核群への直接の投射があり、それらが少なからず口腔顔面領域の感覚伝達・運動制御に影響をもたらしていることが示唆された。

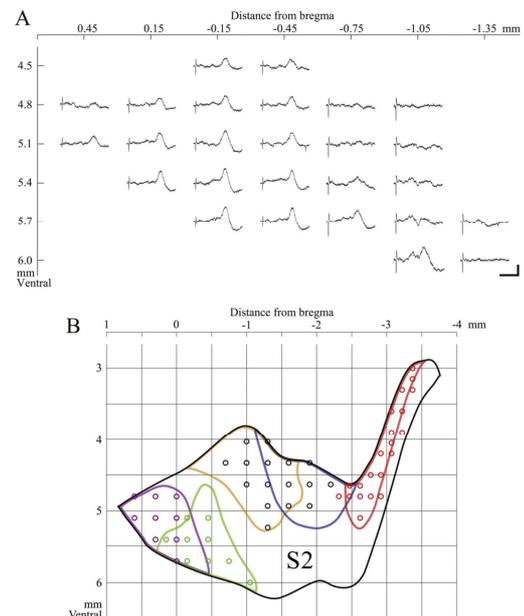


図 3

正常な動物において、大脳皮質運動野のみならず、感覚野からも脳幹の三叉神経運動・感覚制御領域に直接投射があることが示され、摂食嚥下機能のコントロールに関わっていることが明らかとなった。したがって、大脳皮質の広い領域での虚血や梗塞が摂食嚥下機能の障害をもたらすことが予想される。

(2) 脳卒中モデルラットの作出 - 一過性脳虚血による摂食嚥下機能への影響の検討

「研究の方法」の項に示した方法で、脳卒中モデルラットの作出を試みた。本研究では「MCA 閉塞モデルラット」の作出方法によりモデルラットを作成したので、前述の大脳皮質一次体性感覚野、二次体性感覚野を含めて、前頭葉と頭頂葉の広い領域で虚血が生じている可能性がある。その結果、咀嚼運動をほとんど行うことが出来ない動物から、正常動物（対照動物）とほとんど変わらない動物まで様々なレベルで咀嚼運動の変化が認められた（未発表）。今回、われわれが実施したモデルラットの作出方法では、残念ながら手術終了後に生還しない動物が約 60%の割合で認められた。このことは、モデルラットの安定した作出と、仮に生還したとしても虚血に伴う障害の発現に不安定な要因を加える可能性がある。今後、更なるモデル動物の作出効率の向上と、摂食嚥下機能の評価方法を検討して、虚血に伴う摂食嚥下機能への影響を観察する必要がある。

「研究成果(1)」で示したように、大脳皮質から脳幹に位置する三叉神経系（三叉神経感覚核群など）に多くの出力があることから、脳虚血が摂食嚥下機能に何らかの障害をもたらす可能性は高いものと思われる。脳虚血モデルラットの作成方法の改良により、虚血部位と摂食嚥下機能障害との関係を詳細に検討する必要がある。

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)

森谷 正之、角田 晃啓、宮本 忠吉 脳卒中モデルラットの作出 森ノ宮医療大学紀要 査読あり (2014) (印刷中)
Miyamoto T, Bailey DM, Nakahara H, Ueda S, Inagaki M, Ogoh S. Manipulation of central blood volume and implications for respiratory control function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 査読あり *in press* 2014 Apr 28. [Epub ahead of print]

Haque T, Akhter F, Kato T, Sato F, Takeda R, Higashiyama K, Moritani M, Bae YC, Sessle BJ, Yoshida A. Somatotopic direct projections from orofacial areas of secondary somatosensory cortex to

trigeminal sensory nuclear complex in rats. *Neuroscience* 査読あり 2012;219 (2012) 214-233
DOI:10.1016/j.neuroscience.

[学会発表](計3件)

宮本忠吉、上田真也、中原英博、眞鍋幸、森谷正之 慢性心不全モデル小動物における運動時換気応答の定量評価.第 68 回日本体力医学会(東京) 2013年9月
角田晃啓、上山紗千代、丹羽亜希美、三木屋良輔、森谷正之 咀嚼を制御する運動ニューロンにおける興奮性ならびに抑制性情報の入力様式 第47回日本理学療法学会(神戸) 2012年5月
丹羽亜希美、角田晃啓、上山紗千代、三木屋良輔、森谷正之 ラット三叉神経感覚核群における痛覚情報処理機構の解明 第46回日本理学療法学会(宮崎) 2011年5月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森谷 正之 (MORITANI, Masayuki)
森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授
研究者番号: 80303981

(2) 研究分担者

宮本 忠吉 (MIYAMOTO, Tadayoshi)
森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授
研究者番号: 40294136

(3) 連携研究者

吉田 篤 (YOSHIDA, Atsushi)
大阪大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号: 90201855

加藤 隆史 (KATO, Takafumi)
大阪大学・大学院歯学研究科・講師
研究者番号: 50367520