

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11775

研究課題名(和文) 口腔と咽頭をつなぐ三叉神経傍核が咀嚼嚥下に果たす役割

研究課題名(英文) Role of paratrigeminal nucleus connected to mouth and pharynx on chewing and swallowing functions

研究代表者

辻村 恭憲 (Tsujimura, Takanori)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：00548935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、咀嚼嚥下における三叉神経傍核(Pa5)の役割を検証することを目的とした。麻酔ラットを用いてPa5の電気刺激を行ったところ、上喉頭神経の電気刺激による嚥下誘発は抑制された。グルタミン酸受容体作用薬およびGABAA受容体拮抗薬をPa5に微量注入した際には、嚥下関連筋活動に変化はみられず、孤束核へ微量注入した際には、いずれも嚥下が誘発された。また、喉頭に対する機械刺激によって誘発される嚥下には、上喉頭神経が主な伝導路となっており、さらに上皮型ナトリウムチャンネルが関与することが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、咀嚼嚥下における三叉神経傍核の役割を検証することを目的として、動物を対象として行われた。実験の結果、三叉神経傍核の刺激により嚥下誘発が抑制されることが確認された。三叉神経傍核は三叉神経を介して活性化されることが知られており、顎口腔領域からの入力了三叉神経傍核を活性化して嚥下を制御する可能性が考えられた。また、機械刺激による嚥下誘発に、上皮型ナトリウムチャンネルが関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the role of paratrigeminal nucleus (Pa5) on chewing and swallowing functions. The swallowing reflexes evoked by electrical stimulation of superior laryngeal nerve (SLN) was inhibited during electrical stimulation of Pa5. We did not evoke any swallows by the focal microinjection of glutamate receptor agonists and GABAA receptor antagonist into the Pa5. On the other hand, many swallows were evoked following the microinjection of glutamate receptor agonists and GABAA receptor antagonist into the nucleus tractus solitarii. The SLN is a primary carrier of initiation of swallowing evoked by laryngeal mechanical stimulation. Furthermore, epithelial sodium channel is involved in those swallows.

研究分野：嚥下障害学

キーワード：三叉神経傍核 孤束核 嚥下 ラット 上皮型ナトリウムチャンネル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

三叉神経傍核 (Pa5) は、三叉神経脊髄路核と下小脳脚の間に定位する神経核である。組織学的研究から口腔・咽頭・喉頭からの求心性神経線維および咀嚼・嚥下関連運動神経核と Pa5 との直接的連絡が報告されており、生理学的研究から口腔入力 Pa5 を介して嚥下を制御することが報告されている。これらのことから Pa5 が口腔と咽頭をつなぐ役割を果たすと推察されるが、その詳細は不明な点が多い。標的とする Pa5 はヒトおよびラットにおいて存在することが組織学的に確認されており、ラットを用いた研究は有用と考えられる。さらに、ウイルストレーシングを用いた最新の研究成果から、嚥下誘発に重要とされる喉頭領域からの直接入力の大部分が Pa5 に投射されていることが確認されている。このことは、嚥下入力の多くが Pa5 に直接投射されていることを示唆しており、特に嚥下機能への関与が予想されるが、その役割はほとんどわかっていない。

2. 研究の目的

本研究は麻酔したラットを対象として、Pa5 が咀嚼・嚥下に果たす役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 嚥下誘発と記録

Sprague Dawley 系雄性ラットをウレタン麻酔 (1.3 g/kg ip) 後、頤部から前頸部にかけて正中切開を実施。嚥下時筋活動を計測するために左側舌骨上筋および甲状舌骨筋に双極銅電極を、気管内気流を計測するために気管にカニューレをそれぞれ留置した。嚥下誘発方法として、以下の5つを用いた。1) フォンフライ式フィラメントを用いた機械刺激、2) 気管から喉頭へのエアフロー機械刺激、3) カプサイシンを用いた化学刺激、4) 喉頭粘膜の電気刺激、5) 上喉頭神経の電気刺激。嚥下の同定には舌骨上筋および甲状舌骨筋の筋活動電位を用いた。

(2) Pa5 への薬剤微量注入

歯科用エンジンにてラット頭蓋骨にピンホール状の穴を開け、ガラス電極により Pa5 に対して薬物 (グルタミン酸受容体アゴニスト: NMDA, AMPA および GABA 受容体アンタゴニスト: ビククリン, CGP55845, グリシン受容体アンタゴニスト: ストリキニーネ, NK1 受容体アゴニスト: サブスタンス P) の微量注入を行った。また、比較として嚥下中枢とされる孤束核 (nTS) への微量注入も行った。

(3) Pa5 への電気刺激

ラットの頭蓋骨を除去後、同心円電極により Pa5 を電気刺激し、上喉頭神経の電気刺激により誘発される嚥下がいかなる変調効果を示すか検討した。

(4) 末梢神経切断

迷走神経の分枝である 1) 上喉頭神経、2) 反回神経、3) 迷走神経咽頭枝、4) 舌咽神経の4つの神経のいずれか1つ、または複数の神経 (2つまたは3つ) を両側切断し、喉頭機械刺激誘発嚥下閾値の変化を検討した。

(5) 喉頭への試薬滴下

上皮型ナトリウムチャンネル (ENaC) ブロッカーであるアミロライド、ベンザミル、ジメチルアミロライドの3試薬および機械受容チャンネルブロッカーであるガドリニウムを喉頭に微量滴下し、喉頭への機械刺激誘発嚥下閾値を検証した。また、ベンザミル投与によるエアフロー誘発嚥下、カプサイシン誘発嚥下、喉頭粘膜電気刺激誘発嚥下への効果も検討した。

4. 研究成果

(1) Pa5 および nTS への薬剤微量注入による嚥下誘発効果

Pa5 への NMDA, AMPA, ビククリン, CGP55845, ストリキニーネ, サブスタンス P の微量注入による嚥下誘発効果は確認されなかった。また、nTS への NMDA, AMPA, ビククリン, サブスタンス P の微量注入は嚥下を誘発したが、CGP55845 およびストリキニーネ注入は嚥下を生じなかった。NMDA と AMPA は投与直後に一過性に嚥下を誘発したのに対し、ビククリンとサブスタンス P は注入後から初回嚥下誘発潜時が長く、初回嚥下誘発後 5 分以上にわたって一定の頻度で嚥下を誘発した。このことはグルタミン酸が嚥下誘発の神経伝達物質として直接使用されているという過去の知見を支持するとともに、ビククリンとサブスタンス P は嚥下誘発に関わる神経回路を間接的に活性化した可能性を推察させる。

(2) Pa5 電気刺激による上喉頭神経誘発嚥下の変調効果

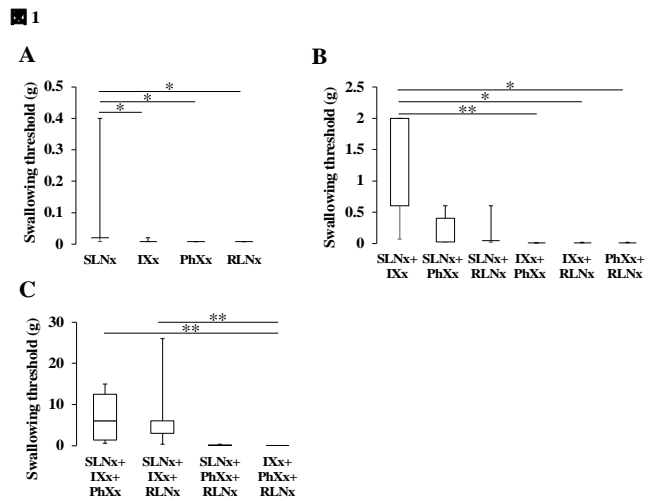
上喉頭神経単独刺激時の誘発嚥下回数と比較して、Pa5 および上喉頭神経同時刺激時の誘発嚥下回数は減少を認めた。統計解析を行うための十分なサンプル数が確保できなかったものの、複数の動物で同様の結果を得ることができた。Pa5 は三叉神経を介して活性化されることが知られており、顎口腔領域からの入力が Pa5 を活性化して嚥下を制御する可能性が考えられた。

(3) 末梢神経切断による喉頭機械刺激誘発嚥下閾値の変化

喉頭への機械刺激誘発嚥下には、上喉頭神経が主要な役割を果たし、舌咽神経が部分的に関与していることが示唆された (図 1)。一方、迷走神経咽頭枝および反回神経の関与は少ないことが推察された。

図1. フォンフライ式フィラメント誘発嚥下閾値における末梢神経切断の影響.

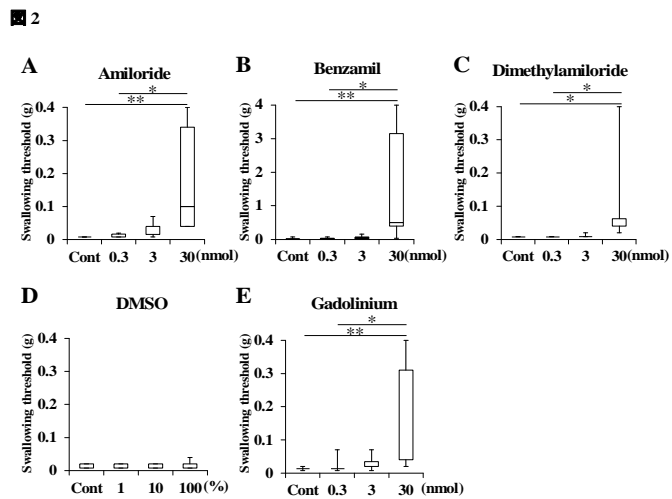
両側上喉頭神経切断 (SLNx) は, 両側舌咽神経 (IXx), 迷走神経咽頭枝 (PhXx), 反回神経切断 (RLNx) と比較して, 有意に嚥下閾値が高かった (A). 2つの神経切断において, SLNx + IXx は, IXx+PhXx, IXx+RLNx, PhXx+RLNx と比較して有意に嚥下閾値が高かった (B). 3つの神経切断において, SLNx+IXx+PhXx および SLNx+IXx+RLNx は, IXx+PhXx+RLNx と比較して, 嚥下閾値が有意に高かった (C).



(4) 喉頭への試薬滴下による機械刺激誘発嚥下閾値の変化

喉頭の機械刺激誘発嚥下に, ENaC が関与していることが示唆された (図2).

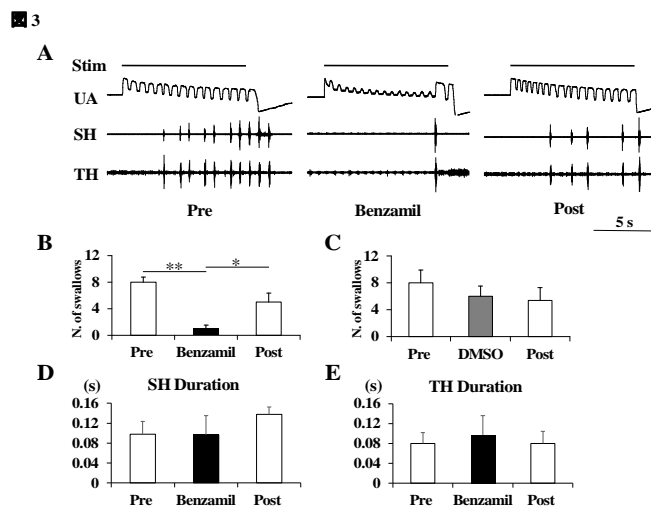
図2. ENaC ブロッカーであるアミロライド (A), ベンザミル (B), ジメチルアミロライド (C) の滴下は, いずれも濃度依存的に喉頭の機械刺激誘発嚥下閾値を上昇させた. 一方, ベンザミルの溶媒である DMSO 滴下による嚥下誘発閾値の変化は認められなかった (D). また, 機械受容チャネルブロッカーであるガドリニウム滴下も機械刺激誘発嚥下閾値を上昇させた (E).



(5) 喉頭へのベンザミル滴下によるエアフロー誘発嚥下への影響

エアフロー誘発嚥下はベンザミル投与により抑制されたものの, 嚥下時の筋活動には影響は認められなかった (図3).

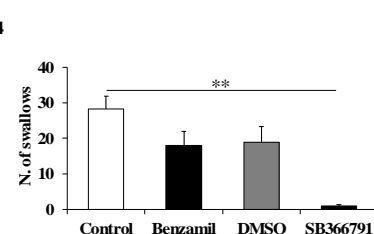
図3. ベンザミル投与15分前 (Pre), 投与直後 (Benzamil), 投与15分後 (Post) の気流 (UA), 舌骨上筋 (SH), 甲状舌骨筋 (TH) 波形 (A). ベンザミル投与直後は投与前・後と比較して有意に嚥下回数が減少した (B). 一方, 溶媒 (DMSO) 投与直後は投与前後と差を認めなかった. ベンザミル投与による嚥下時の舌骨上筋 (D) および甲状舌骨筋活動量 (E) の変化は確認されなかった.



(6) 喉頭へのベンザミル滴下によるカプサイシン誘発嚥下への影響

カプサイシン誘発嚥下は TRPV1 の活性化によりもたらされ, ENaC の関与は少ないことが示唆された (図4).

図4. 喉頭へのカプサイシン投与による誘発嚥下回数は, 試薬投与なし (Control) と比べて, ベンザミル (Benzamil) およびその溶媒 (DMSO) 滴下は統計学的な差を認めず, TRPV1 ブロッカー (SB366791) 滴下は有意に抑制されることが確



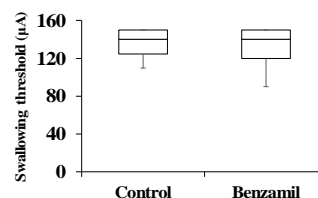
認められた。

(7) 喉頭へのベンザミル滴下による喉頭粘膜電気刺激誘発嚥下への影響

ENaC ブロッカーであるベンザミル滴下は、喉頭粘膜電気刺激による誘発嚥下閾値に影響を認めなかった(図5)。

図5. 喉頭へのベンザミル滴下による喉頭粘膜の電気刺激誘発嚥下閾値は、投与前(Control)と投与直後(Benzamil)で統計学的な差を認めなかった。

図5



当初は咀嚼・嚥下誘発モデル動物における Pa5 の役割を検討する予定であったが、皮質咀嚼野と Pa5 を同時に刺激することがうまくいかなかったことから、機械刺激誘発嚥下の神経メカニズムの解明を行った。実験結果(研究成果3~7)から、ENaC が喉頭への機械刺激誘発嚥下に特異的に関与し、それは主に上喉頭神経が関与している可能性が考えられた。

既に咀嚼・嚥下誘発モデル動物の作製には成功していることから、咀嚼・嚥下誘発における三叉神経傍核の役割を検証するための実験を継続していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Tsujimura Takanori, Inoue Makoto	4. 巻 62
2. 論文標題 Evaluation of the association between orofacial pain and dysphagia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oral Science	6. 最初と最後の頁 156 ~ 159
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2334/josnusd.19-0408	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 -

1. 著者名 Tsujimura Takanori, Ueha Rumi, Yoshihara Midori, Takei Eri, Nagoya Kouta, Shiraishi Naru, Magara Jin, Inoue Makoto	4. 巻 597
2. 論文標題 Involvement of the epithelial sodium channel in initiation of mechanically evoked swallows in anaesthetized rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 2949 ~ 2963
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1113/JP277895	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsujimura Takanori, Suzuki Taku, Yoshihara Midori, Sakai Shogo, Koshi Naomi, Ashiga Hirokazu, Shiraishi Naru, Tsuji Kojun, Magara Jin, Inoue Makoto	4. 巻 124
2. 論文標題 Involvement of hypoglossal and recurrent laryngeal nerves on swallowing pressure	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 1148 ~ 1154
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/jappphysiol.00944.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Takanori Tsujimura, Makoto Inoue
2. 発表標題 Peripheral mechanisms of mechanically evoked swallows
3. 学会等名 The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takanori Tsujimura, Makoto Inoue
2. 発表標題 Involvement of the epithelial sodium channel in initiation of mechanically evoked swallows in anaesthetized rats
3. 学会等名 Neuro2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takanori Tsujimura, Makoto Inoue
2. 発表標題 Hypoglossal and recurrent laryngeal nerves are involved in swallowing pressure generation in anesthetized rats
3. 学会等名 Neuroscience 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Midori Yoshihara, Taku Suzuki, Kouta Nagoya, Takanori Tsujimura, Makoto Inoue
2. 発表標題 Modulation of initiation of swallows evoked by continuous laryngeal TRPV1 activation in anesthetized rats
3. 学会等名 Neuroscience 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takanori Tsujimura, Midori Yoshihara, Taku Suzuki, Kouta Nagoya, Makoto Inoue
2. 発表標題 ENaC is involved in the initiation of mechanically evoked swallow
3. 学会等名 96th General Session of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 辻村恭憲, 辻 光順, 井上 誠
2. 発表標題 嚥下誘発におけるカプサイシン感受性神経の役割
3. 学会等名 第41回嚥下医学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takanori Tsujimura, Kojun Tsuji, Brendan J Canning, Makoto Inoue
2. 発表標題 Involvement of NMDA and non-NMDA glutamate receptors in the rostral-commissural, medial and ventrolateral NTS subnuclei in the initiation of swallows in anesthetized guinea pigs
3. 学会等名 7th Congress of European Society for Swallowing Disorders (国際学会)
4. 発表年 2017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
研究分担者	井上 誠 (Inoue Makoto) (00303131)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究分担者	真柄 仁 (Magara Jin) (90452060)	新潟大学・医歯学総合病院・講師 (13101)	