

## 学位研究紹介

## ラットにおける嚥下反射誘発機構への一酸化窒素の関与についての研究

### Nitric oxide modulates elicitation of reflex swallowing from the pharynx in rats

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻  
口腔健康科学講座 小児歯科学分野  
木島 寛  
Division of Pediatric Dentistry  
Department of Oral Health Science  
Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences  
Hiroshi Kijima

## 【目 的】

咽喉および喉頭は嚥下反射を考える上で非常に重要な領域である。これまでの研究において口蓋咽頭弓、咽頭後壁、軟口蓋後縁、喉頭蓋、披裂部といった部位は嚥下誘発に感受性が高い部位として報告されている。咽喉頭領域刺激により嚥下反射が発生する際には、上喉頭神経 (superior laryngeal nerve : SLN) および舌咽神経咽頭枝 (pharyngeal branch of glossopharyngeal nerve : GPN-ph) を介して情報伝達が行われる。SLN は喉頭蓋や披裂部などの喉頭領域を支配する迷走神経の分枝であり、喉頭からの嚥下誘発の際の求心性神経として知られている。GPN-ph は軟口蓋の後縁や咽頭後壁などを支配しているが、近年の Kitagawa らの研究により咽頭領域における感覚支配および嚥下反射への関与が明らかにされた。咽頭および喉頭からの感覚入力はこちら両神経を介して孤束核に入り、延髄に存在する嚥下中枢へ伝達される。

生体内の生理活性物質である一酸化窒素 (NO) は血管拡張作用などの末梢性機能ばかりでなく、中枢性にも様々な機能に関わることが知られている。NO は細胞内 NO 合成酵素 (NO synthase : NOS) の活性化により L-arginine (L-arg) を基質として産生されるが、NOS が脳幹内において延髄孤束核、疑核および迷走神経背側運動核といった嚥下関連領域の神経系に分布していることが報告されている。

そこで本研究では、咽喉頭領域の嚥下反射と NO の関係に注目し、舌咽神経咽頭枝および上喉頭神経の電気刺

激により誘発される嚥下が、NOS 阻害剤および NO 生成促進物質によってどのような影響を受けるかについて実験を行った。

## 【方 法】

実験にはウレタン麻酔 (1.0 g/kg, i.p.) した Wistar 系雄性ラット (250-350 g) 54 匹を使用した。動物を背位に固定し、呼吸管理のため気管カニューレを、薬物投与のため大腿静脈にカニューレをそれぞれ挿入した。GPN-ph および SLN を剖出、切断後、両神経の中枢端を双極電極で連続電気刺激 (10 20  $\mu$ A, 10 - 20 Hz, 1.0 ms) し嚥下を誘発した。嚥下の発生は、顎舌骨筋から導出した筋電図および喉頭挙上の観察にて確認し、記録した筋電図から嚥下の潜時と嚥下間隔を計測した。NOS 非選択的阻害剤である N-nitro-L-arginine (L-NNA), neuronal NOS 選択的阻害剤である 7-nitroindazole (7-NI), NO 前駆物質である L-arg, NO 放出物質である sodium nitro prusside (SNP) を用い、薬物投与前後での嚥下誘発の変化を比較検討した。また両側 SLN 切断後、咽頭粘膜に直接蒸留水 (DW) を滴下し嚥下反射を誘発する DW 誘発性嚥下に関しても、L-NNA 投与前後における誘発嚥下の回数を比較した。

## 【結果および考察】

GPN-ph あるいは SLN の電気刺激により、連続的な嚥下反射がほぼ一定間隔で誘発された (Fig. 1)。L-NNA (0.6 mg/kg, i.v.) を投与すると、GPN-ph 誘発性嚥下の潜時が 0.84 秒から 3.10 秒に、嚥下間隔が 1.02 秒から 3.27 秒にそれぞれ著明に延長したが、SLN 誘発性嚥下の潜時は 0.64 秒から 0.83 秒、嚥下間隔は 0.72 秒から 0.83 秒となり有意な変化は認められなかった (Fig. 2)。また 7-NI (5.0 mg/kg, i.p.) の投与においても GPN-ph 誘発性嚥下の潜時は 2.66 秒に、嚥下間隔は 3.25 秒にそれぞれ有意に延長したが、SLN 誘発性嚥下では有意な変化は認められなかった (Fig. 3)。このことより、咽頭領域からの感覚入力による嚥下誘発の神経機構には NO が促進性因子として作用していることが示唆された。L-NNA および 7-NI によって抑制された GPN-ph 誘発性嚥下は、L-arg (500 mg/kg, i.v.) 投与により 16 例中 13 例で、SNP (0.6 mg/kg, i.v.) 投与により全 12 例でそれぞれ嚥下誘発の回復傾向を示し、外因性の NO が抑制された嚥下誘発の神経系を賦活させたことが示唆された。

また 10 秒間の DW 咽頭刺激による DW 誘発性嚥下は 10.1 回であったが, L-NNA 投与後は 5.7 回と有意に減少し, NO の嚥下反射への関与を裏付ける結果となった。

L-NNA 投与後のラットにおいて NO が関連するニューロンの存在部位については, NOS 阻害剤が SLN 誘発性嚥下に有意な効果を示さなかったことから, 嚥下中枢で嚥下パターンを形成する central pattern generator (CPG) 内での関与は考えにくく, CPG に入る手前の孤束核内のシナプス伝達において NO 関連ニューロンが存在していると推察される。孤束核内におけるシナプス様式は, 舌咽神経は多シナプス性のものが多く SLN は単シナプス性のものが多いという報告があり, シナプス数の違いが両神経間で NO の関与の程度に差が生じた原因として考えられる。

以上の結果より, 咽頭領域からの感覚入力による反射性嚥下誘発の中枢機構において NO が重要な役割を果たしていることを本研究では明らかにした。

【文 献】

Kijima H., Shingai T., Takahashi Y., Kajii Y., Fukushima S., Taguchi Y., Noda T., and Yamada Y.: Nitric oxide modulates elicitation of reflex swallowing from the pharynx in rats. *Am J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 291: 651-656, 2006

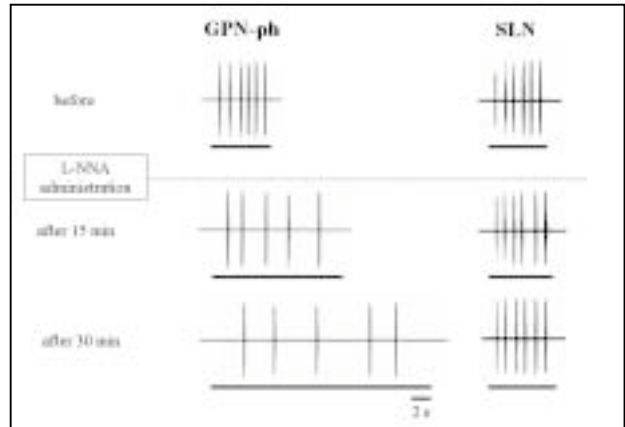


Fig. 1 Typical examples showing effects of L-NNA (0.6 mg/kg) on reflex swallowing evoked by electrical stimulation of the GPN-ph and SLN (intensity: 20  $\mu$ A; frequency: 20 Hz for the GPN-ph, 10 Hz for the SLN; duration: 1.0 ms). Horizontal solid lines denote periods of electrical stimulation.

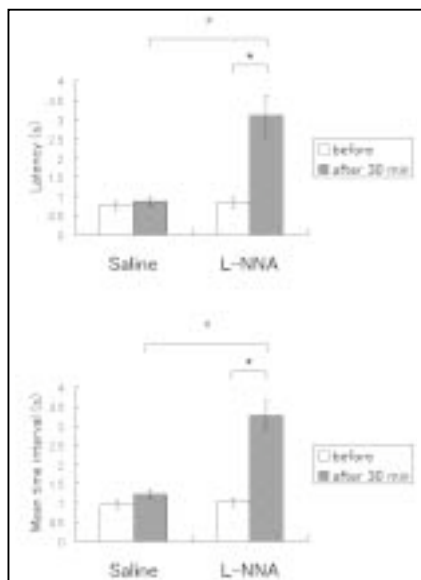


Fig. 2 Effect of L-NNA (0.6 mg/kg) on the latency to the first swallow and the mean time interval of swallowing evoked by electrical stimulation of the GPN-ph 30 min after administration. Values represent means  $\pm$  SE (n = 6 for saline, n = 14 for L-NNA) \**P* < 0.025 compared with before administration: paired *t*-test. #*P* < 0.025 compared with saline: Student's *t*-test.

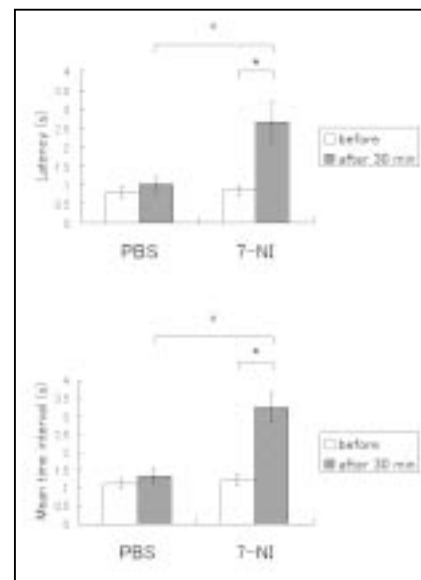


Fig. 3 Effect of 7-NI (5.0 mg/kg) on the latency to the first swallow and the mean time interval of swallowing evoked by electrical stimulation of the GPN-ph 30 min after administration. Values represent means  $\pm$  SE (n = 6 for PBS, n = 14 for 7-NI) \**P* < 0.025 compared with before administration: paired *t*-test. #*P* < 0.025 compared with PBS: Student's *t*-test.