

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 中嶋 優太
学位 博士(歯学)
学位記番号 新大院博(歯)第551号
学位授与の日付 令和5年9月20日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Atropine facilitates water-evoked swallows via central muscarinic receptors in anesthetized rats
(麻酔ラットにおける中枢性ムスカリン受容体を介したアトロピンの水誘発嚥下の促進効果)

論文審査委員 主査 教授 井上 誠
副査 教授 山村 健介
副査 教授 瀬尾 憲司

博士論文の要旨

1. 目的

摂食嚥下障害は多くの高齢者で見られ、口腔乾燥により悪化することが知られている。過去の報告では、放射線治療後の頭頸部癌患者やシェーグレン症候群患者では咀嚼時間の延長や咽頭移送時間が延長することが報告されている。さらに、唾液分泌を抑制する抗コリン薬は、口腔乾燥や胃食道逆流症をもたらすこと、明らかな抗コリン作用を示す抗コリン剤負担スコア3以上の抗コリン薬内服患者は対照群と比較して摂食嚥下障害の発生率が4倍高いことなどが報告されている。このように臨床的に、口腔乾燥は嚥下機能に悪影響を与えると認識されているが、抗コリン薬と嚥下咽頭期障害との直接的関連を示唆する臨床報告は見当たらない。一方で、非選択的ムスカリン性アセチルコリン受容体(mAChR)遮断薬であるアトロピン全身投与により作製された口腔乾燥モデル動物では、水刺激による嚥下誘発が促進されたとの報告がされているが、その機序は不明である。

また、水誘発嚥下の神経機序に関して、水刺激に特異的に応答する神経細胞群ならびに中枢神経投射が報告されているが、その機能的検証は十分には行われていない。

本研究は、mAChR遮断薬であるアトロピンが水誘発嚥下に与える影響を検証し、そのメカニズムの解明を目的とした。

2. 方法

(1) 対象：ウレタン麻酔下の雄生Sprague-Dawley (SD系) ラット124匹

(2) 嚥下誘発のための試験刺激は、化学刺激として蒸留水(DW)、生理食塩水、クエン酸、カプサイシンを各3 μ l声門上に滴下し、機械刺激として気管から喉頭へのエアフロー刺激、電気刺激として上喉頭神経(SLN)刺激を行い、嚥下を誘発した。中枢性の嚥下誘発として、NMDA型グルタミン酸受容体アゴニストであるNMDAを用いて水嚥下に関連する領域と報告されている孤束核外側副核(LnTS)へのマイクロインジェクションを行い嚥下を誘発した。顎二腹筋、甲状舌骨筋の筋電図記録を行い、両者が一致した活動を嚥下とした。嚥下変調効果の検証のための条件刺激として、非選択的mAChRアンタゴニストであるアトロピン、アトロピンと同じ作用を持ち血液脳関門を通過しないメチルアトロピン、5種類あるmAChRサブタイプの各アンタゴニスト、アトロピンの溶媒である生理食塩水をそれぞれ静脈内投与し、投与前後または投与群間での嚥下回数を比較し、嚥下変調効果を検討した。嚥下実験の終了後に抗コリン薬の効果を評価するため、非選択的mAChR作動薬であるピロカルピンを投与し、誘発された唾液量を比較することで、抗コリン薬の効果を評価した。

3. 結果と考察

アトロピンは、水刺激による誘発嚥下回数を有意に増加し、生理食塩水、クエン酸、カプサイシン、エアフロー刺激で誘発された嚥下回数には影響しなかった。続いて、M1-M5のmAChRの各アンタゴニストおよびメチルアトロピンを用いて水誘発嚥下の変調効果を検証したところ誘発嚥下回数に変化はみられなかった。両側上腕神経 (SLN) 切断はDW誘発嚥下を完全に消失させ、アトロピンはSLN電気刺激による誘発嚥下閾値を低下させた。LnTSへのNMDA受容体拮抗薬AP-5のマイクロインジェクションはDW誘発嚥下を抑制し、アトロピンは同領域へのNMDAマイクロインジェクションによる誘発嚥下を促進した。

ピロカルピンを用いた抗コリン作用の評価において、アトロピンおよびメチルアトロピンは、溶媒投与群と比較して、ピロカルピン誘発唾液量を有意に低下した。本実験で用いた濃度のアトロピンおよびメチルアトロピンは弱い抗コリン作用を示すことが確認された。

以上の結果からアトロピンによる水誘発嚥下の促進効果は、脳内に発現するムスカリン性アセチルコリン受容体が関与していると示唆された。本研究結果からは、アトロピンが孤束核の嚥下関連ニューロンを直接的に活性化したのか、反射回路のその他のニューロンを通して間接的に活性化したのかは不明である。今後は、水誘発嚥下促進に関わるアトロピンの標的脳領域を同定し、アトロピンによる嚥下変調メカニズムをより詳細に解明したいと考えている。

審査結果の要旨

加齢とともに肺炎による死亡率が増加し、高齢者ではその多くを誤嚥性肺炎が占める。誤嚥性肺炎の病因は嚥下障害に伴う下気道感染によるものだが、その病態生理は大きく(1)高次脳機能の破綻による摂食動作の問題、(2)嚥下反射に伴う関連する運動器官の機能的、形態的問題、(3)適切なタイミングで引き起こされるべき嚥下反射の惹起遅延に分けられる。ことに高齢者においてはこれらの病状が並行して進行すること、加齢に伴う変化を含めて劇的な改善は望めないことから、要介護高齢者の摂食嚥下障害においては対症療法的なアプローチにとどまることも少なくないことから、今後ますます増加が予想される要介護高齢者の摂食嚥下障害に対して、口腔機能を軸に診療を展開する歯科的な視点に期待が集まっている。

本学位論文は、嚥下反射惹起に関わるムスカリン受容体の関与に注目している。その理由として、以下の2点を挙げている。ひとつは、摂食嚥下機能に関連したムスカリン受容体を含むコリン受容体への興味である。アトロピンなど抗コリン薬が引き起こす認知機能低下や口腔乾燥、摂食嚥下の先行期や準備期、口腔期に影響を及ぼすことが報告されている。一方で、基礎研究においては、アトロピンの嚥下反射促進が報告されているという。身体に広く分布するムスカリン受容体の嚥下反射惹起への関与を網羅的に調べたいというのが、申請者の第1の着目点である。もうひとつは、水誘発嚥下のメカニズムである。申請者の当初の研究テーマは「水嚥下」であった。生理的食塩水は、最も嚥下反射を引き起こしにくい溶液のひとつとされており、Naイオン、Clイオン、浸透圧などが関与していると言われているが、未だ明らかとはなっていない。これとは対照的に水による容易な嚥下誘発においては、水受容器の関与に加えて、NaイオンやClイオンがもたらす末梢における抑制作用が疑われている。そこで申請者は、「ムスカリン受容体に関わる嚥下反射誘発の変調効果と関連部位の特定」「水誘発嚥下におけるムスカリン受容体の関与」をテーマとした実験を行った。

具体的には、アトロピンを全身投与することによりムスカリン受容体を抑制して、嚥下反射惹起の変調を観察すること、その変調がどのような刺激による嚥下なのかを特定することを目的としており、生理学実験を行っている。実験の結果、アトロピンの静脈投与によって水嚥下反射は明らかに促進し、さらに同様の作用をもちBBBを通過しないメチルアトロピンでは促進効果が得られなかったこと、中脳離断(除脳)によってもアトロピンによる促進効果が消失したことは、アトロピンの効果は中脳以上の部位で作用していると考えている。しかし、申請者も考察しているように、アトロピンは中枢及び末梢共に作用するため末梢の作用が完全に否定されるわけではなく、さらに除脳によるバイタル低下そのものが変調効果に影響を与えたことも考慮しなければならない。実際、候補として用いたmAChRサブタイプの各アンタゴニスト投与では明らかな変調効果が得られなかったことから、将来的にはM1-5のサブタイプのノック

クアウト動物を用いることやアンタゴニストの濃度や投与条件を見直すこと、ターゲット領域にマイクロインジェクションを行うことで嚥下の変調効果を見い出されることを期待したい。

申請者らは、単に嚥下誘発メカニズム解明という目的にとどまらず、本研究が目指す先に臨床へのフィードバックを考えている。例えば、カプサイシンによる TRPV1 活性化を通じた嚥反射誘発促進のメカニズム解明により、高齢者を対象とした研究においてカプサイシントローチが用いられているように、将来的には高齢者および摂食嚥下患者への臨床応用へとつなげたいという志を抱いている。以上、学術的な価値のみならず、臨床への第一歩となる貴重なデータが得られたことから、本研究には学位論文として十分な価値があると考えます。また、論文内容に関する試問に対しても十分な回答を得ることができた。よって、博士（歯学）の学位を授与するにふさわしいと判断した。