

呼吸ニューロンへの上喉頭神経求心系の影響

東京都神経科学総合研究所 病態神経生理学 江 連 和 久

目 的

呼吸運動は生命維持に不可欠なもので生体にとって格別に重要なものでありこれまでに多くの基礎的、臨床的研究がなされてきた。しかしそのニューロン機構は複雑で、呼吸リズムがどうして発生しているのかということは未だ全くわかっていない。電気生理学的にはこれまでに多くの基礎となる事実が得られている。呼吸の各相において発火するさまざまな型のニューロンが脳幹内に存在しており、それら脳幹のニューロン群は、背側群（孤束腹外側核）、腹側群（疑核複合体）、内側脚傍核に特にまとまって存在し、また網様体中にもニューロンが散在していることが知られている。しかし個々のニューロンの詳細な特性、それらの間の相互関係、線維連絡は知られておらず、また未だ発見されていない重要なニューロン群が存在する可能性もあり呼吸リズム発生の機序は依然として不明である。これは臨床的にも大問題で、例えば睡眠中の突然死、特に乳幼児の突然死が呼吸系の異常に関連するものと考えられているが、この研究の遅れはその原因究明のための大きな障害となっている。

ただ現在、非常に重要な進歩がなされつつある。それは腹側群吻側（retrofacial nucleusの近傍）に位置する一群の呼吸性ニューロンが抑制性であり、脳幹や脊髄に投射し吸気性ニューロン群を抑制していることがほぼ確定されたということである(3)。これが脳幹内で呼吸ニューロンどうしの結合が知られた最初の例である。このニューロン群の局在する領域はBöttinger複合体（以後BOTと略す）と名付けられている。この素性のはっきりしたニューロンを詳しく解析することにより呼吸リズム生成機構の手掛かりが得られる可能性が大いにあると思われる。

呼吸中枢は神経性に、また体液性に他からの影響を大いに受けることが知られている。まず大脳皮質からの影響があることは呼吸を意志でコントロールできることよりわかる。また睡眠系と密接な相互作用があることはREM睡眠時に呼吸系の動揺が起こることより知られる。中枢と末梢にあるとされる化学受容器からは直接的にコントロールされる。肺の受容器からの呼吸反射は古くから調べられている。上気道、特に喉頭に存在する受容器からも大きな影響が呼吸中枢に及ぼされる。この中でも上喉頭神経を経由する求心系からの影響は特に大きく上喉頭神経反射として知られている(7)。この呼吸系を末梢から修飾する系の解析はそれ自身重要なことであるとともに、それを通じて呼吸リズム生成の中核機構解明の手掛かりを与えてくれる可能性がある。

筆者は呼吸リズムの生成に重要な役割をはたしてと思われる前述のBOT呼息ニューロンの性質を調べ、かつ上喉頭神経求心の刺激効果を調べているうちに、両者は2つの意味で特別に密接に関連していることに気がついた。まず呼息ニューロンが常に上喉頭神経の運動ニューロンと同じ領域に存在し、よく同時に記録できたりするということである。次には上喉頭神経の求心性線維を刺激するとBOTの呼息性ニューロンに非常に大きな抑制が得られるということである。本研究の目的はこの両者の関係を検索することにある。

方 法

動物は成ネコ(2.5—4.0kg)を用いた。ネコは手術前にはネプタール(40mg/kg)で麻酔し、記録中も十分に深い麻酔を維持するため、ネプタールを必要に応じて追加した。左右の上喉頭神経と頸部の迷走神経本幹に刺激のために双極性カフ型電極を装着した。そのさい上喉頭神経は結紮後その末梢端で回りの組織より切り離し、外枝と内枝の中枢端を同時に刺激出来るようにした。頸部迷走神経本幹は無傷のまま刺激用カフ電極中を通過させた。呼吸ニューロンの脊髄への投射を調べるため、脊髄C5の吻側のレベルに先端以外をカシュー樹脂でコーティングしたステンレス針を脊髄の両側に刺入した。この電極で側索腹側の白質で呼吸ニューロンの下降線維を単極性に刺激した。また孤束腹外側核(呼吸背側群)に投射している線維を刺激するために同様な電極を記録と反対側の孤束腹外側核にも刺入した。

中枢内の呼吸活動の指標として、C5、C6の横隔神経を頸部で露出し結紮後切り離れた中枢端より集合活動電位を記録モニターした。これを全波整流し高域ろ過フィルター(時定数100ミリ秒)をかけて使用したが、記録されたすべての呼吸関連ニューロンの呼吸リズム中における位相はこれを基準にして判断した。

延髄の呼吸関連のニューロン活動を記録するために小脳後部を吸引除去し、Obexを中心として十分な領域を露出した。記録を開始する前に動物には筋弛緩剤を投与し人工呼吸を施した。また記録を安定させるために気胸を行なうとともに大脳皮質を両側露出させ、呼吸と脈拍による脳幹の動きを出来るだけ少なくするように試みた。動物は脳定位固定装置に頭を30度前方に傾けて固定した。気胸後は、肺の収縮、無気肺を防ぐため呼気時にも陽圧1—2 cm/H₂Oを保ち続けた。動物の呼気ガス中の炭酸ガス濃度を、実験中常時モニターし、必要に応じて呼吸量を調節することにより0—4%の値に保持した。直腸温をモニターし電気アンカと赤外線ランプにより37—38.5℃に保たせた。また大腿動脈よりモニターされた血圧は記録中はその平均値を最低でも100mmHg以上に保った。必要とあれば昇圧剤を使用した。

細胞外電位の記録には3 mol NaCl水溶液にfast green FCF色素を飽和させたガラス微小

電極を用いた。電極の直流抵抗は1—2 Mohmを使用し、必要に応じて色素を電氣的に流出させた。実験終了後、摘出された脳幹の凍結切片（厚さ100 μ m）を作成し組織学的に記録場所の確認を行なった。また細胞内記録には、2 molK—Citrate水溶液を詰めたガラス微小電極を用いた。電極抵抗は10—50Mohmのものを目標のニューロンに応じて使い分けた。実験中のデータはすべてデータレコーダーのテープ中に格納し後日再生し解析した。

結 果

記録はまず細胞外記録用電極を用いてBöttinger複合体（BOT）の場所を確認することから始めた。上喉頭神経を刺激し運動ニューロンの逆行性のフィールド電位のある場所をみつけると必ずその近傍に呼息性のニューロンが存在した。それらのニューロンの多くは、対側の呼吸背側群（孤束核腹外側部）の刺激に逆行性に応じ、また脊髓の刺激にも逆行性に応じることからBOTの呼息ニューロン群の場所であることが確認された。その場合迷走神経本幹からの逆行性のフィールド電位はそこより尾側で記録されるのみでBOTではほとんど記録できなかった。

イ) 上喉頭神経運動ニューロンの細胞内電位変化と上喉頭神経求心系の影響

図1は上喉頭神経運動ニューロンよりの細胞内記録の例である。図1Aは、内枝と外枝を同時に刺激（80 μ Aで）しているため逆行性と順行性の応答が同時に得られている。逆行性に誘発されたスパイクにつづいて興奮性シナプス後電位（EPSP）がみられ、それに続く過分極電位がある。図1Bには時間軸を拡大して逆行性スパイクが潜時1.1ミリ秒で発生している様子を示している。この場合、求心性線維の閾値より低いため刺激強度を下げると（40 μ A）逆行性のスパイク発射はなくなり順行性のEPSPのみが残る。その例が図1Cで3.9ミリ秒の潜時間でEPSPが発生しているのがわかる。図CbはCaのトレースを加算平均したものである。図A, B, Cとも上のトレースは細胞内電位、下のトレースはその細胞のすぐ外側の電位である。また刺激の時点は矢印で示してある。上記の応答はこれまでに細胞内記録で解析した10個の上喉頭神経運動ニューロンに共通した性質である（平均潜時 3.8 ± 0.37 ミリ秒）。単シナプス性のEPSPは観察されておらず単シナプス反射弓は存在しないと思われる。図2は上喉頭神経運動ニューロンの膜電位の変化が呼吸リズムとどのような位相関係にあるかを調べるため横隔神経から記録される電位との比較を行なったものである。図2Aの破線の部分を拡大したものが図2Bである。共に上下のトレースが細胞内記録、下が横隔神経発射を整流し積分した波形である。両方のトレースの変化はほぼ同様に時間経過を示していることが分かる。これは上喉頭神経運動ニューロンが吸息性の活動をしていることを示している。この上喉頭神経ニューロンの脱分極はEPSPが関

与していることが示されている（江連：発表準備中）。この図でみるかぎり上喉頭神経ニューロンの活動が横隔神経の活動に先行しているということもなく、ほぼ同時に脱分極を開始し、ほぼ同時に過分極を開始しているのが知られる。これは調べた5個の運動ニューロンで呼吸性のリズムを持っていたもの共通した性質であった。2個では呼吸性のリズム自体が観察されなかった。

ロ) BOT呼吸ニューロンの細胞内電位変化と上喉頭神経求心系の影響

図3は上喉頭神経運動ニューロンの核近傍で（図5を参照）で記録された呼吸性ニューロンの例である。いわゆるBOTの呼吸ニューロンである。図Aの破線の部分を拡大したものが図Bで、このニューロンは呼息時に脱分極し、吸息の開始時に一致して過分極している。詳細にみるとこの過分極の始まる時点は横隔神経発射の開始時点よりも数10ミリ秒先行しているのがわかる。この過分極が抑制性シナプス後電位（IPSP）であることが示されている（江連：発表準備中）。この呼吸リズム生成に重要な働きをしていると思われるニューロンにたいして上喉頭神経の求心系がどのような影響を与えているかを調べたのが図4である。図4Bのa、b、c、dは図Aのそれぞれa、b、c、dを加算平均したものであり、刺激の上喉頭神経刺激の時点は矢印で示してある。刺激により膜電位は過分極を示すが（図4Ab）、この電位は+2nAの通電（図Aa）に増大し-2nAの通電によって（図Ac）減少することよりIPSPであることがわかる。なお図Adは細胞外記録である。IPSPの潜時は5.5ミリ秒であることから、シナプスを複数個介するものであることが示唆される。刺激の閾値は運動ニューロンにEPSPを発生させるものと同定度に低く同じ伝導速度の速い求心性線維によるものと思われるにもかかわらず平均潜時で1.8ミリ秒の差があることを特記する。これは記録解析された16個のニューロンに共通する性質であり（平均潜時5.6±0.41ミリ秒）、またこの型のニューロンにはEPSPの存在が確認されていない。

ハ) 上喉頭神経運動ニューロンとBOTの呼吸性ニューロンとの分布関係

前述のようにBOTの呼吸性ニューロンは常に上喉頭神経の運動ニューロンと同じ領域で記録された。細胞外記録用の電極で同時に記録される場合もしばしばであることから、両者はほぼ潜在していることが知られた。そこで呼吸性ニューロンの分布と上喉頭神経運動ニューロンの分布との関係を示したのが図5である。図5Aで脳幹部を上からみたもので呼吸性ニューロンの記録された場所（Fast Green FCFによるマークが2個所に黒まるで示されている）に対して顔面神経核と下オリブ核が出現する領域を呼吸性ニューロンの存在した切片の上に投影したものである。斜線で示した領域はRetrofacial Nucleusと思われるニューロン集団の領域であり、その境界部に色素のマークが存在した。図5Bは脳幹延髄部の前額断で上喉頭神経運動ニューロンの記録された領域のレベルである。顔面神経核

のやや尾側であるこのレベルでは呼息性のニューロンも記録され、ちょうど図5Aの斜線の領域に相当した。図5Bの三角印が呼息性ニューロンの記録された場所で、その実線で囲んだ領域が上喉頭神経運動ニューロンによる逆行性のフィールド電位が記録された領域である。すなわち図5Aと5Bの関係より上喉頭神経運動ニューロンと呼息性ニューロンはRetrofacial Nucleusのニューロン群の中とその近傍に存在していることが示唆される。両ニューロンともほぼ同じ領域に存在していることが分かるが、図B5をよく見ると呼息性ニューロンの分布はやや腹側で内側であることが示唆される。

考 察

イ) 上喉頭神経運動ニューロンに見られた呼吸リズムの意味

正常の呼吸時には、いわゆる呼吸筋である横隔膜と肋間筋のみではなく咽頭や喉頭の筋群も同期して活動していることが良く知られている(6, 7)。横隔膜や肋間筋の呼吸運動と微妙に協調して活動することによって、換気に必要な気道の確保をする意味があるとされている。この調節が睡眠時などに異常を起こすと呼吸維持が不可能となることが予想され上気道閉塞型の睡眠時無呼吸に実際に関連があるのではないかとされている(2, 6)。上喉頭神経の遠心性線維は上喉頭神経外枝を通過し内喉頭筋の輪状甲状筋(前筋)を支配している。輪状甲状筋の呼吸時の活動がどのくらい重要な意味があるかについては定説はないが、基本的には吸息時に収縮し気道の確保に役割を果たしていると思われる。しかし動物実験では麻酔の深度によっては、呼息性に発射する上喉頭神経運動ニューロンの線維も存在するという報告もある(7)。また、吸息性に活動する場合は、吸気に先立って気道を確保する必要から横隔神経の発射よりも時間的に早く発射を開始するとの報告もある(1)。我々が本実験で用いた条件下では上喉頭神経運動ニューロンは吸気性に活動をするか、深い麻酔下では発火自体を停止するかであった。これは細胞内記録によっても確認された。膜電位は吸気に一致して脱分極をし呼気相と共に過分極をするというリズムを繰り返した。今までのところ横隔神経発射に先行して脱分極が起こることは確認していない。本研究以外に上喉頭神経運動ニューロンから細胞内記録した仕事はないと思われるため、この膜電位でみた場合の時間関係を今後もっと詳細に調べていく必要がある。

ロ) 上喉頭神経求心線維の刺激効果

喉頭や下咽頭に存在する受容器からの求心情報を伝える重要な経路の一つは上喉頭神経内枝を通過するものである。この求心路は嚥下反射など重要な経路であると共にその刺激は呼吸活動に対して非常に大きな影響を与えることが報告されている(7)。ただ刺激の強度や頻度を変えると呼吸系に対する効果が興奮から抑制に変わったりするので、その大局的な

意味での刺激効果に関してはまだ問題がある。しかしニューロンのレベルでみた単発刺激による効果に関しては再現性を期待できる。本実験では上喉頭神経運動ニューロンに対して多シナプス性のEPSPの存在が示された。これはこれまでに報告されている反回神経系の内喉頭筋支配ニューロンに対する上喉頭神経内枝刺激によるEPSP(4)と潜時の関係からみて基本的に同等のものと思われる。つまり上喉頭神経内枝は上喉頭神経運動ニューロンを特別扱いすることなく、反回神経系の内喉頭筋支配ニューロンも同時に影響を与えているということである。

上喉頭神経内枝の刺激によりBOTの呼息性ニューロンに多シナプス性のIPSPが存在することが発見されたが、その機能的な意味については今後の研究を待たねばならない。しかしこの呼息ニューロンは上喉頭神経運動ニューロンと違って、呼吸中枢の中で大きな役割を担っているニューロンである可能性が高いためこのIPSPは上喉頭神経内枝の呼吸系修飾機構の解明にとってカギとなるかも知れない。睡眠時無呼吸に例をとると喉頭や咽頭に生じた異常は単に上気道閉塞型の無呼吸を引き起こすのみならず上記の経路によって呼吸中枢のリズムそのものも変化させる、あるいは停止させるといった可能性も存在すると思われる。

上喉頭神経求心系の刺激による上喉頭神経運動ニューロンに対するEPSPの潜時とBOTの呼息性ニューロンに対するIPSPの潜時には1.8ミリ秒程度の差があるので、後者に至る経路には一つか二つのニューロンを余計に介していると思われる。この経路の解析は今後の課題である。

ハ) 上喉頭神経の運動ニューロンの核とRetrofacial Nucleusとの関係

Merrill(3)によると、呼息性ニューロンの分布はRetrofacial Nucleusに完全には一致せずにやや内側に位置するということである。一方、吉田ら(8)やMizuno(5)らのHRP法による上喉頭神経の運動ニューロンの存在する領域はまさにこの辺にあたる。今回の我々の純粋に電気生理的手法によるデータはこれらと首尾一貫した結果である。つまり目立つ大きさの細胞体でretrofacial nucleusと呼ばれるにふさわしい集合体を形成している主なものは、上喉頭神経の運動ニューロンであることが示唆される。一方その核内と内腹側に小型の呼息性ニューロンが存在しBöttinger複合体と定義される領域をなしていると思われる。またこの核の中と周囲には吸息の開始時点でバースト状に発火する別の型の吸息性ニューロンの存在も確認されるが、それはさらに小型ではないかと思われる。これは細胞内記録の時に電極の太さによって取れるニューロンの性質に違いがあることから推察される。この上喉頭神経運動ニューロンの核とその近傍にBOTの呼息ニューロン群が存在することになんらかの積極的な意味があるのかどうかは不明である。

参考文献

- 1) Fukuda. : Temporal differences in the onset of inspiratory activity among superior laryngeal, hypoglossal and phrenic nerves of the vagotomized rat. J. Physiol. Soc. Japan, 46(1984)533.
- 2) Lucier G. E. , Daynes J. and Sessle B. J. : Laryngeal reflex regulation : peripheral and central neural analyses. Exp. Neurol. , 62(1978)200-213.
- 3) Merrill E. G. , Lipski J. , Kubin L. and Fedorko L. : Origin of the expiratory inhibition of nucleus tractus solitarius inspiratory neurones. Brain Res. , 263(1983)43-45.
- 4) Mori J. : Intracellular potentials of ambiguous motoneurons. Jop. J. Physiol. , 23(1973)251-259.
- 5) Nomura S. and Misuno N. : Central distribution of efferent and afferent componts of the cervical branches of the vagus nerve. Anat. Embryol. , 166(1983)1-18.
- 6) 角：嚔下とそれに関連する生体機能の制御。「呼吸、嚔下、発声の制御」平野編集 篠原出版 (1982) 107-161。
- 7) 鈴木：内喉頭筋の呼吸機能。「呼吸、嚔下、発声の制御」平野編集 篠原出版 (1982) 81-105。
- 8) 吉田、宮崎、山田、平野、金関：内喉頭筋支配神経起始核について。日耳鼻, 85 (1982) 456-463。

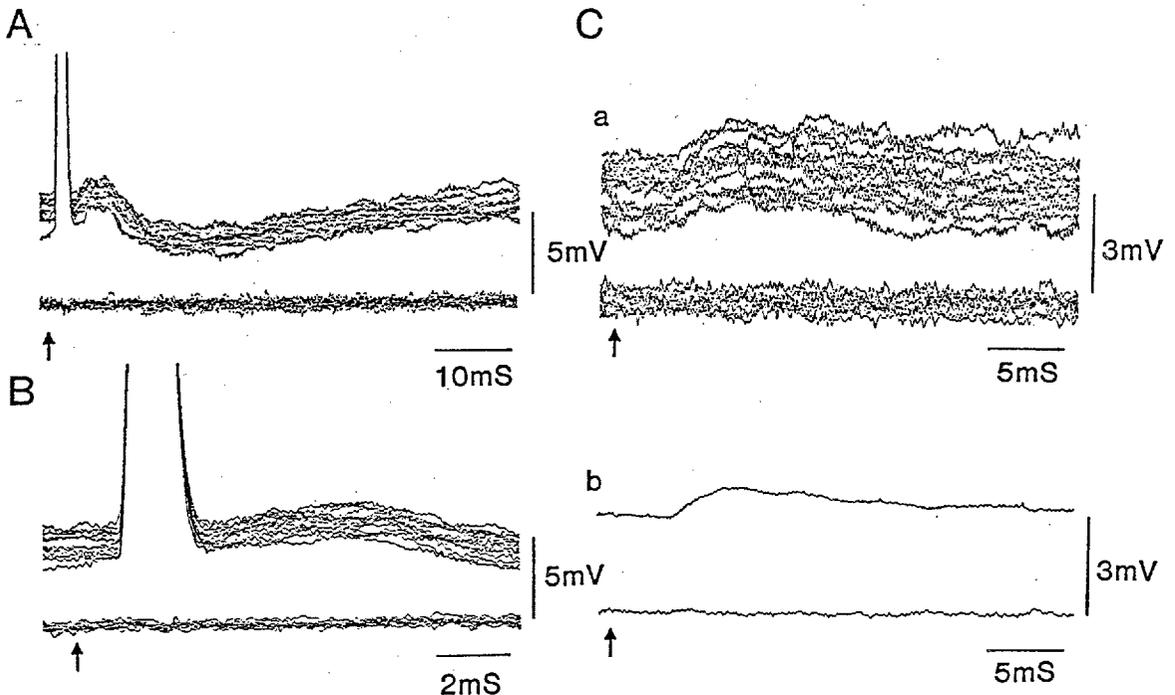


図1 上喉頭神経運動ニューロンの同定と上喉頭神経求心線維の刺激効果。

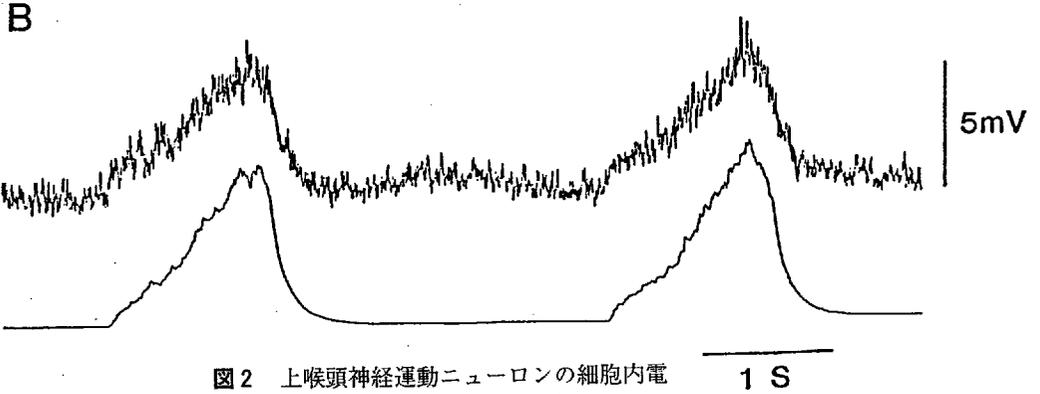
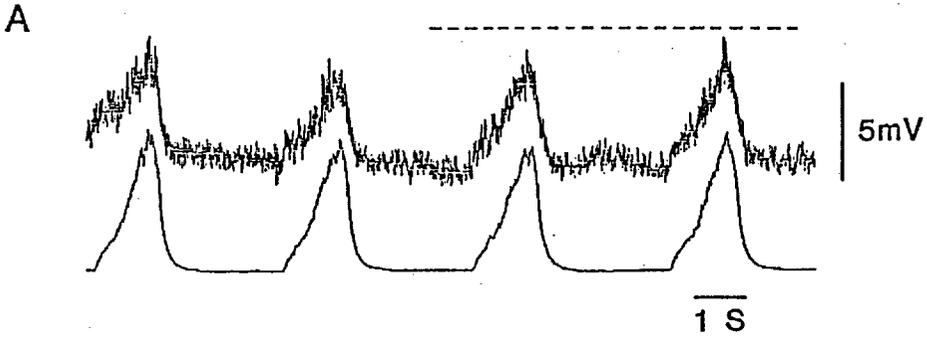


図2 上喉頭神経運動ニューロンの細胞内電位 (上のトレース) の呼吸性変動と横隔神経発射 (下のトレース)。

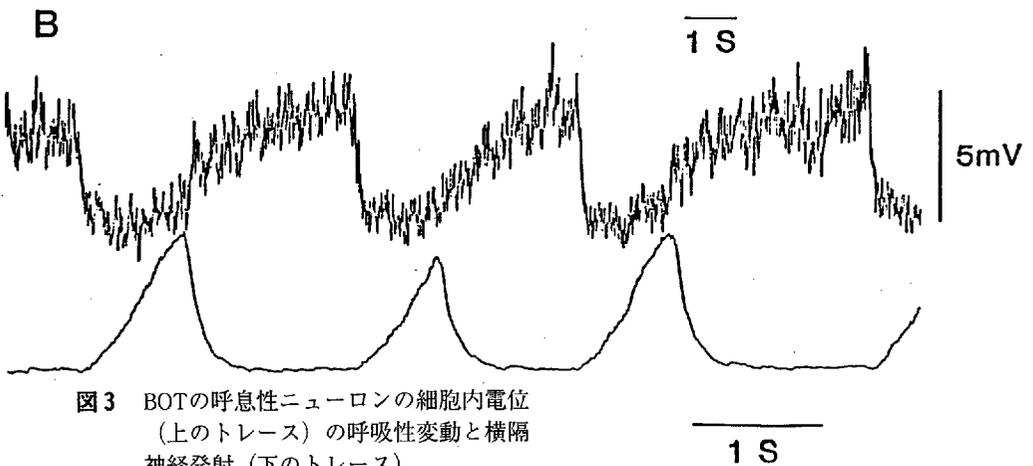
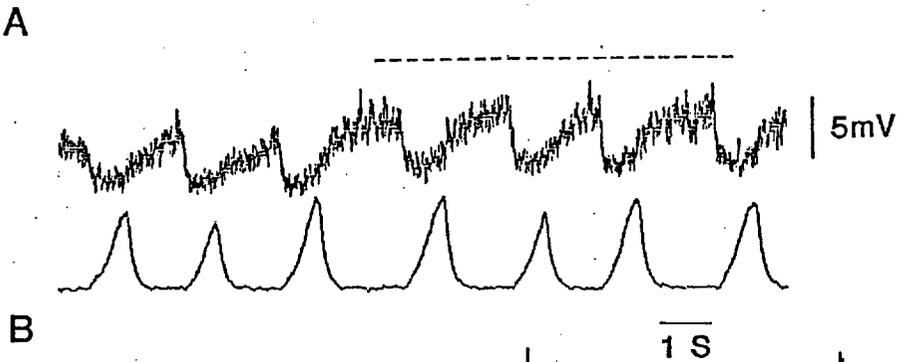


図3 BOTの呼吸性ニューロンの細胞内電位 (上のトレース) の呼吸性変動と横隔神経発射 (下のトレース)。

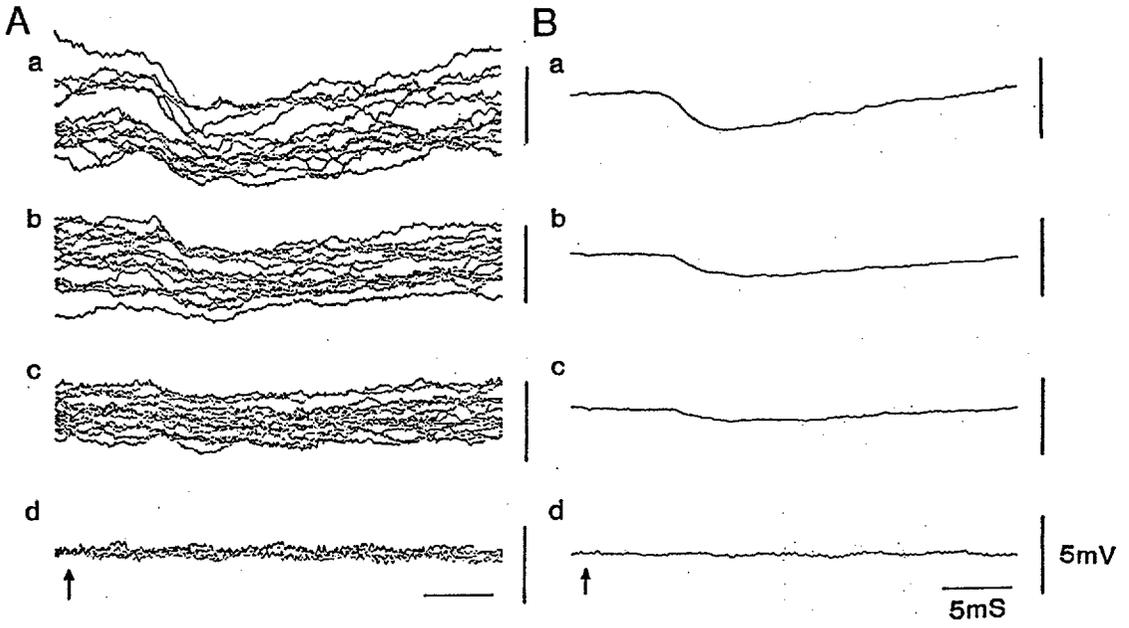


図4 BOTの呼吸性ニューロンに対する上喉頭神経求心線維の刺激効果。

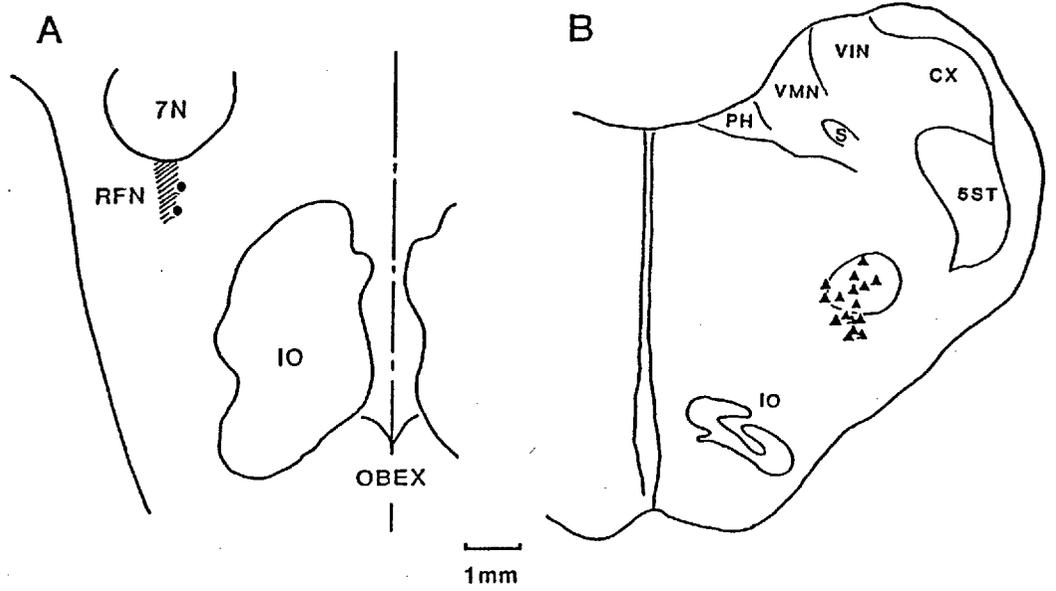
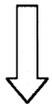
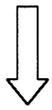


図5 上喉頭神経運動ニューロンとBOTの呼吸性ニューロンの分布。7N：顔面神経核、IO：下オリーブ核、RFN：retrofacial nucleus、PH：舌下神経内側核、S：孤束、VMN：前庭神経内側核、VIN：前庭神経下核、CX：外楔状核、5ST：三叉神経脊髄路。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



目的

呼吸運動は生命維持に不可欠なもので生体にとって格別に重要なものでありこれまでに多くの基礎的、臨床的研究がなされてきた。しかしそのニューロン機構は複雑で、呼吸リズムがどうして発生しているのかということは未だ全くわかっていない。電気生理学的にはこれまでも多くの基礎となる事実が得られている。呼吸の各相において発火するさまざまな型のニューロンが脳幹内に存在しており、それら脳幹のニューロン群は、背側群(孤束腹外側核)、腹側群(疑核複合体)、内側脚傍核に特にまとまって存在し、また網様体中にもニューロンが散在していることが知られている。しかし個々のニューロンの詳細な特性、それらの間の相互関係、線維連絡は知られておらず、また未だ発見されていない重要なニューロン群が存在する可能性もあり呼吸リズム発生の機序は依然として不明である。これは臨床的にも大問題で、例えば睡眠中の突然死、特に乳幼児の突然死が呼吸系の異常に関連するものと考えられているが、この研究の遅れはその原因究明のための大きな障害となっている。

ただ現在、非常に重要な進歩がなされつつある。それは腹側群吻側(retrofacial nucleusの近傍)に位置する一群の呼息性ニューロンが抑制性であり、脳幹や脊髄に投射し吸息性ニューロン群を抑制していることがほぼ確定されたということである(3)。これが脳幹内で呼吸ニューロンどうしの結合が知られた最初の例である。このニューロン群の局在する領域はBotzinger 複合体(以後BOTと略す)と名付けられている。この素姓のはっきりしたニューロンを詳しく解析することにより呼吸リズム生成機構の手掛かりが得られる可能性が大いにあると思われる。

呼吸中枢は神経性に、また体液性に他からの影響を大いに受けることが知られている。まず大脳皮質からの影響があることは呼吸を意志でコントロールできることよりわかる。また睡眠系と密接な相互作用があることはREM睡眠時に呼吸系の動揺が起こることより知られる。中枢と末梢にあるとされる化学受容器からは直接的にコントロールされる。肺の受容器からの呼吸反射は古くから調べられている。上気道、特に喉頭に存在する受容器からも大きな影響が呼吸中枢に及ぼされる。この中でも上喉頭神経を經由する求心系からの影

響は特に大きく上喉頭神経反射として知られている(7)。この呼吸系を末梢から修飾する系の解析はそれ自身重要なことであるとともに、それを通じて呼吸リズム生成の中枢機構解明の手掛かりを与えてくれる可能性がある。