一般口演 16

除脳ラット灌流標本を用いた 自発呼吸に伴う頸筋支配神経活動の解析

Analysis of the nerve activity innervating the neck muscles
during the spontaneous respiration using *in situ* rat preparation

○立川哲史^{1,2)}, 中山希世美¹⁾, 望月文子¹⁾, 中村史朗¹⁾
清本聖文¹⁾, 飯島毅彦²⁾, 井上富雄¹⁾

Satoshi Tachikawa^{1,2)}, Kiyomi Nakayama¹⁾, Ayako Mochizuki¹⁾, Shiro Nakamura¹⁾
Masaaki Kiyomoto¹⁾, Takehiko Iijima²⁾, Tomio Inoue¹⁾

¹⁾ 昭和大学歯学部口腔生理学講座

²⁾ 昭和大学歯学部全身管理歯科学講座歯科麻酔科学部門

¹⁾ Department of Oral Physiology, Showa University School of Dentistry

²⁾ Department of Perioperative Medicine Division of Anesthesiology, Showa University School of Dentistry

I. 目 的

全身麻酔導入時の偶発症に換気不全による高炭酸ガス血症がある。高炭酸ガス血症が呼吸パターンの変化に関与することは臨床的にも広く知られているが¹⁾、吸息時に連動して活動する気道上部の筋と横隔膜の筋活動のタイミングに与えている影響は明らかでない。本研究では、Paton ら²⁾ によって開発された除脳ラット灌流標本を用い、灌流液の二酸化炭素濃度を变化させる事により、横隔神経、上喉頭神経、舌骨下筋群を支配する第一、第二頸髄神経の枝 (C1-2) の活動がどのように変化するかを調べた。

II. 方 法

実験には生後 3 - 4 週齢の Wistar ラット 5 匹を用いた。イソフルレンの吸入による麻酔下にて、以下に示す外科的手術を行い、標本作製した。まず、剣状突起直上付近を基点とし胸壁の皮膚を剥離し、剣状突起から鎖骨レベルまで吻尾方向に肋骨を切断することにより開胸し、抗凝固剤であるヘパリン (1 ml, 10 IU) をシリンジを用いて心臓に注入した。次に、横隔膜直下で腹部を切断して下半身を離断し、氷冷した人工脳脊髄液に標本を浸漬して仮死状態にした。呼吸と心拍の停止を確認し

た後、開頭し、precollicular レベルで除脳を行った。次いで全身の皮膚の除去、両側肺実質の除去を行い、記録用チャンパーに標本を仰臥位にピンで固定した。下行大動脈の断端からダブルルーメンカテーテル (φ1.25 mm, DLR-4, Braintree Scientific) を挿入し、カテーテルの先端が 2, 3 椎骨分進んだところに留置した後、チュービングポンプを用いて人工脳脊髄液をカテーテルのメインルーメンを介して送液し、体外循環法にて標本の灌流を開始した。標本が自発呼吸を開始するまでは、1 分間に循環血液量の 3 - 4 倍の灌流液が流れるように設定し、自発呼吸開始後は徐々に全血量の 5 倍程度まで灌流液量を増加させた。人工脳脊髄液の組成は、125 mM NaCl, 3 mM KCl, 24 mM NaHCO₃, 1.25 mM KH₂PO₄, 1.25 mM MgSO₄, 2.5 mM CaCl₂, 10 mM glucose とした。灌流液は 95% O₂ - 5% CO₂ 混合ガスで曝気する事により pH が約 7.4 になるように調整した人工脳脊髄液に、膠質浸透圧調整剤 (1.25% Ficoll 70)、抗凝固剤 (10 IU ヘパリン) を加えたものを使用した。灌流経路の途中でヒーターコントローラー (TC-324C, Warner Instruments) を組み込み、灌流液の温度が 31℃ になるようにした。カテーテルのサブルーメンは圧トランスデューサーと接続し、血圧を常にモニターした。

灌流開始後、標本が自発呼吸を再開し、呼吸運動や手足の運動が起きてきた事を確認した後、筋弛緩剤 (臭

化ベクロニウム $2-4 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, $360 \mu\text{L}$) を加え、標本を非動化した。横隔神経、上喉頭神経、C1-2を剖出し、吸引電極を用いて複合活動電位を記録した。コントロールとして5分程度の記録を行った後、灌流液を92% O_2 - 8% CO_2 混合ガスで曝気した溶液 (pH7.2) あるいは90% O_2 - 5% CO_2 - 5% N_2 混合ガスで曝気した溶液 (pH7.4) に5分間切り替えて、 CO_2 濃度上昇および O_2 濃度低下の影響を観察した。

Ⅲ. 結果および考察

下行大動脈に挿入したカテーテルを介して循環液の灌流を開始すると、数分で自発呼吸が再開した。再開後すぐの呼吸運動は胸郭のみであったが、時間と共に胸郭の動きと同期して開口運動が加わった。標本を非動化した後、左側の横隔神経、上喉頭神経、C1-2から複合活動電位を記録したところ、横隔神経の吸息性活動とほぼ同期して上喉頭神経、C1-2から神経活動が記録された。

CO_2 濃度を上昇させたところ、呼吸頻度は 0.32 Hz から 0.27 Hz に変化し、平均 $15.1 \pm 9.5\%$ 減少した。また、吸息に一致した横隔神経、上喉頭神経および C1-2 活動の振幅は、それぞれ $20.6 \pm 8.8\%$, $11.1 \pm 3.2\%$, $26.3 \pm 8.8\%$ 増大した。横隔神経の吸息性活動を基準として各神経の活動開始のタイミングを比較すると、 CO_2 濃度の上昇により、横隔神経の活動より上喉頭神経および C1-2 の活動が、より先行して見られるようになった。横隔神経の活動開始から C1-2 の活動開始までの時間は、コントロールで 0.28 ± 0.03 秒であったのに対し、 CO_2 濃度を上昇させたことにより 0.83 ± 0.04 秒となった。これら

の結果から、 CO_2 濃度の上昇により中枢の化学受容野が刺激され、呼吸数の変動や神経活動の振幅の増大を引き起こし、また頸部の筋肉と横隔膜の活動タイミングに変化を起こすことが示唆された。

CO_2 濃度上昇に用いる混合ガスでは O_2 分圧は低下するので、 O_2 濃度低下により末梢の化学受容器である頸動脈小体、大動脈体が興奮し、呼吸パターンに影響する可能性がある。そこで CO_2 濃度を変化させずに O_2 濃度を低下させたガス (90% O_2 - 5% CO_2 - 5% N_2) を用いて同様の実験を行った。その結果、呼吸数、横隔神経、上喉頭神経、C1-2 の神経活動の振幅、神経活動の開始のタイミングに有意な差は見られなかった。このことから、循環血液量の5倍の灌流量では、 O_2 濃度を95%から90%に低下させても末梢の化学受容器は影響を受けないと考えられる。

以上の結果から、生後3-4週齢の除脳ラット灌流標本において CO_2 濃度を上昇させ pH を変化させると、呼吸頻度の低下および舌骨下筋群の活動開始タイミングが早まることが明らかになった。このような変化は、高 CO_2 濃度負荷時の呼吸パターンの変化に対応していると考えられる。

Ⅳ. 文 献

- 1) 池上之浩, 田勢長一郎. Permissive hypercapnia. 蘇生 2002; 21 (2): 1-8.
- 2) Paton, JFR. A working heart-brainstem preparation of the mouse. J Neurosci Methods 1996; 65: 63-68.