

グルカゴン様ペプチド-1 が反射性嚥下に及ぼす効果

水谷 諭史

緒言

摂食を調節する物質の一つにグルカゴン様ペプチド-1 (Glucagon-like peptide-1; GLP-1) がある^{1,2)}。GLP-1 は腸管の L 細胞より産生され、血中へ分泌される^{3,4)}。GLP-1 により膵島 B 細胞からのインスリン分泌が促進され、血糖値が低下する⁴⁾。GLP-1 は摂食を抑制することも知られている^{1,2)}。腸管より分泌された GLP-1 は腸管の GLP-1 受容体に作用し、迷走神経を介する情報が視床下部へと伝達することにより、摂食を抑制すると考えられている⁵⁻⁷⁾。腸管以外では、延髄の孤束核ニューロンが GLP-1 を産生及び分泌することが知られている^{8,9)}。GLP-1 を含有する孤束核ニューロンが視床下部に投射し、摂食を抑制する⁹⁻¹¹⁾。

反射性嚥下を誘発する部位は咽頭・喉頭及びその近傍に広がり、これらの部位に舌咽神経や上喉頭神経の求心性ニューロンが分布している^{12, 13)}。機械的及び化学的刺激等の感覚情報は上喉頭神経を介して^{12, 13)}、延髄背側部の迷走神経背側複合核群の外側部に到達する¹⁴⁾。この部位は嚥下起動神経群を含み、末梢からの感覚情報や上位中枢からの入力により嚥下を惹起する^{14, 15)}。

GLP-1 と同じく摂食抑制作用をもつレプチンや、摂食亢進作用をもつグレリンを嚥下起動神経群に微量注入することにより、上喉頭神経電気刺激で惹起された反射性嚥下が抑制される^{16, 17)}。摂食亢進作用をもつオレキシン-A も同様の作用をもつことが明らかとなっている¹⁸⁾。このように、複数の摂食を調節する物質が延髄背側部を介して反射性嚥下を修飾する。したがって、GLP-1 が延髄背側部のニューロンに作用し、摂食の初期過程である嚥下に影響を及ぼす可能性が考えられる。

本研究では、摂食抑制作用をもつ GLP-1 が反射性嚥下にどのような影響を及ぼすかについて明らかにするとともに、その作用部位を同定した。

材料ならびに方法

1. 動物と手術

本研究は、岡山大学動物実験施設倫理委員会（承認番号 OKU-2015162）の承認を得て行った。実験には体重約 250 - 350 g の SD (Sprague-Dawley) 系雄性ラット (Clea Japan, Inc., Japan) 73 匹を使用した。ウレタン・クロラロース（ウレタン, 0.8 g/kg; クロラロース, 65 mg/kg body wt.）を腹腔内投与することにより麻酔を導入した。

仰臥位に固定したラット頸部の皮膚を正中切開し、露出した気管にカニューレを挿入して呼吸を確保した。大腿部正中切開により、露出した大腿静脈にリンゲル液を充填したシリコンチューブ（内径：0.50 mm，外径：1.0 mm）を挿入し、必要に応じて麻酔を追加した。引き続きラットを伏臥位に固定し、前頭部から頸部にかけて皮膚を正中切開し脳定位固定装置 (Narishige, Japan) に固定した。試薬投与を行うため後頭骨及び硬膜を切除した。ラットを再び仰臥位に固定し、分離切断した上喉頭神経中枢端に双極プラチナイリジウム線電極（直径：100 μ m，極間距離：1.0 mm）を装着し、シリコーン (Wacker Asahikasei Silicone Co., Ltd., Japan) を用いて封入した。

ラットを伏臥位に固定し、電気刺激及び試薬投与を行った。実験中は、体温制御装置

(ATB-1100, Nihon Kohden, Japan) を用いてラットの直腸温を 36.0-36.5 °C に維持した。

2. 電気刺激と記録

上喉頭神経の中樞端を 20 秒間電気刺激することにより、反射性嚥下を惹起した。以前の研究と同様に^{17, 18)}、幅 0.1 - 0.3 msec、強度 0.1 - 0.3 mA の範囲のパルスで刺激を行った。刺激中の嚥下回数が 10 回から 20 回の範囲となるよう刺激のパラメーターを調整した。試薬投与 10 分前から試薬投与 50 分後まで、5 分毎に電気刺激を行った。ただし、投与後 1 分から 5 分までは 2 分毎に電気刺激を行った。

極間距離 2 mm の双極釣針電極 (UI2-513, Unique Medical, Japan) を顎舌骨筋に刺入して、舌骨上筋群の筋電図を導出、高域遮断フィルタ (30 Hz) 及び低域遮断フィルタ (5 Hz) を介して、増幅器を用いて記録した。この筋電図をパワーラボシステム (AD Instruments Japan Inc., Japan) を用いてパーソナルコンピュータに取り込み、専用ソフトウェア LabChart (AD Instruments Japan Inc., Japan) を用いて解析した。筋電図波形と喉頭挙上を目視することより嚥下を同定した。

3. 試薬の投与

各動物に対して GLP-1 の投与は 1 回限りとした。いずれの溶液も微量注入装置 (XF-320J, Nihon Kohden, Japan) を用い、マイクロシリンジに装着した先端直径 30 μm の微量ガラス管 (World Precision Instruments, USA) より 60 nL の溶液を 6 秒かけて注入した。

迷走神経背側複合核群正中部は最後野、孤束核交連部及び孤束核の内側核が含まれる。正中部に GLP-1 受容体アンタゴニストを投与すると摂食量が増加することが明らかになっている¹¹⁾。したがって、GLP-1 は正中部に作用し摂食に影響をおよぼす。正中部にオレキシン-A を注入すると反射性嚥下を抑制することが明らかになっている¹⁸⁾。すなわち摂食関連ペプチドが正中部に作用して反射性嚥下に影響をおよぼすことが明らかになっている。一方、迷走神経背側複合核群外側部は嚥下起動神経群を含む部位である¹⁵⁾。レプチンや、グレリンを嚥下起動神経群に微量注入することにより、反射性嚥下が抑制される^{16, 17)}。すなわち摂食関連ペプチドが外側部に作用し反射性嚥下に影響をおよぼす。したがって GLP-1 が迷走神経背側複合核群の正中部あるいは外側部に作用して反射性嚥下に影響をおよぼす可能性が考えられる。本研究では GLP-1 の反射性嚥下に及ぼす効果及び作用部位を明らかにするため、迷走神経背側複合核群の異なる 2 部位、すなわち正中部と外側部、にリンゲル液に溶解した GLP-1 (GLP-1 (7-36 Amide), Peptide Institute, Japan) を 20 pmol の用量で投

与した。正中部（門から吻側 500 μm ，正中，脳表面から深さ 400 μm の部位， $n = 7$ ）及び外側部（門から吻側 500 μm ，正中から刺激側に 800 μm ，脳表面から深さ 800 μm の部位， $n = 7$ ）にそれぞれガラス管の先端を刺入し，試験溶液を注入した（図 1）。対照として正中部（ $n = 7$ ）及び外側部（ $n = 7$ ）に溶媒を注入した。実験終了後試薬注入と同一部位に再度ガラス管の先端を刺入し，生理食塩水に溶解した 2% ポンタミンスカイブルー溶液を注入し，試薬の拡散範囲を確認した。正中部注入時には最後野，孤束核交連部及び孤束核の内側核が染色された。外側部注入時には孤束周囲の孤束核を含む部位が染色された。

GLP-1 の反射性嚔下に及ぼす効果が GLP-1 受容体を介した応答であるかどうかを明らかにするため，GLP-1 受容体アンタゴニストであるエキセンディン(5-39) (Peptide Institute, Japan)¹⁹⁾ をリンゲル液に溶解し，60 pmol の用量で GLP-1 (20 pmol) 注入の 20 分前に正中部に注入した ($n = 7$)。対照として溶媒であるリンゲル液を，GLP-1 (20 pmol) 注入の 20 分前に正中部に注入した ($n = 7$)。

用量依存性効果を確認するため，GLP-1 を 5 pmol ($n = 3$)，10 pmol ($n = 3$)，20 pmol ($n = 4$) の用量で投与した。延髄の部分破壊実験により GLP-1 が孤束核の内側核に作用することが明らかになったので（結果 2），GLP-1 を孤束核の内側核（門から吻側 500 μm ，正中から刺激側に 300 μm ，脳表面から深さ 400 μm の部位）に注入した（図 5A）。

4. 延髄の部分破壊

GLP-1 の作用部位を同定するため、迷走神経背側複合核群正中部に含まれる 3 部位のいずれかを破壊した。破壊部位は、1) 最後野及びその周囲 (n = 7), 2) 孤束核交連部及びその周囲 (n = 7), 3) 孤束核の内側核及びその周囲 (n = 7) である。最後野については、吸引器 (HK435A; Medo Industries Co., Ltd., Japan) に装着した注射針 (23 G; Terumo Corporation Japan) を用いて陰圧により吸引除去した。孤束核交連部及び孤束核の内側核については、単極電極 (UK-7005; Unique Medical, Japan) を用いて 1 mA の強度で 10 秒間通電し電気焼灼した。破壊後 1 時間以上経てから GLP-1 を 20 pmol の用量で迷走神経背側複合核群正中部に注入し、反射性嚔下抑制作用に及ぼす部分破壊による影響を観察した。

実験終了後、10%ホルマリン溶液により灌流固定して延髄を摘出した。凍結マイクロトーム (Yamato Kohki Industrial Co., Ltd., Japan) を用いて、厚さ 50 μm の切片を作成した。切片をニッスル染色し、エンテランにより封入し、組織学的に破壊部位を同定した (図 3A)。

5. 結果の解析

上喉頭神経電気刺激中（20 秒間）に生じた嚥下回数を目視および嚥下筋電図により計測し、嚥下頻度とした。嚥下運動以外による筋電図波形を計測から除外することにより、目視および嚥下筋電図による嚥下頻度の記録の整合性をとった。刺激開始時点から初回嚥下筋電図のピークまでの時間を計測し、嚥下潜時とした。全ての数値データを平均±標準誤差で示した。経時変化の有意差を検定する際には、試薬投与 5 分前の値と投与 1, 3, 5, 10 及び 15 分後の値を Dunnett 法を用いて比較した。GLP-1 の正中部投与 10 分後に、嚥下頻度及び嚥下潜時に最も大きな変化がみられたので、試薬投与 5 分前と 10 分後の値の差を嚥下頻度及び嚥下潜時の変化量とし以後の解析に用いた。4 群を比較する際には分散分析法を用いた。多重検定には Student-Newman-Keuls 法（SNK 法）を用いた。2 群間を比較する際には、対応のない t-検定を用いた。いずれの場合も有意水準は 5%とした。用量依存性効果を検討する際には、GLP-1 投与 10 分後の嚥下頻度と嚥下潜時の変化量を回帰分析し、ポアソンの相関係数 R を算出した。

結果

1. GLP-1 の反射性嚥下に及ぼす効果

GLP-1 の反射性嚥下に及ぼす効果を調べるため、延髄内に GLP-1 を注入した。試薬注入の際のガラス管先端部位を図 1 に示す。図 2A は、上喉頭神経電気刺激により惹起された反射性嚥下筋電図の典型例を示す。GLP-1 迷走神経背側複合核群正中投与により、反射性嚥下が抑制された (図 2A, 2 段目)。図 2B は経時変化を示す。正中部に GLP-1 を投与すると、投与 3, 5, 10 及び 15 分後に嚥下頻度が有意に減少し、投与 10 分後に嚥下潜時が有意に延長した (図 2B)。外側部に GLP-1 を投与しても嚥下頻度及び嚥下潜時ともに有意な変化がみられなかった (図 2B)。両部位への溶媒注入は効果をもたなかった。

正中部に GLP-1 を投与した群 (嚥下頻度の変化量: -4.40 ± 1.21 回/20 秒, 嚥下潜時の変化量: 1.65 ± 0.37 秒), 外側部に GLP-1 を投与した群 (嚥下頻度の変化量: -0.57 ± 1.04 回/20 秒, 嚥下潜時の変化量: 0.12 ± 0.12 秒), 正中部に溶媒を投与した群 (嚥下頻度の変化量: -0.29 ± 0.68 回/20 秒, 嚥下潜時の変化量: -0.06 ± 0.07 秒), 外側部に溶媒を投与した群 (嚥下頻度の変化量: -0.14 ± 0.94 回/20 秒, 嚥下潜時の変化量: 0.00 ± 0.04 秒) の 4 群間に、嚥下頻度及び嚥下潜時の変化量に有意な差がみられた (嚥下頻度の変化量: $F(3, 24) = 6.56, p < 0.05$, 嚥下潜時の変化量: $F(3, 24) = 19.29, p < 0.05$) (図 2C)。多重検定の結果、正中部に GLP-1

を投与した群は、外側部に GLP-1 を投与した群及び正中部に溶媒を投与した群に対して嚔下頻度及び嚔下潜時ともに変化が有意に大きかった (図 2C)。一方で、外側部に GLP-1 を投与した群は外側部に溶媒を投与した群に比して嚔下頻度及び嚔下潜時とも、変化に有意な差がみられなかった (図 2C)。

2. GLP-1 作用部位の同定

GLP-1 が正中部のいずれの部位に作用して反射性嚔下を抑制するかを明らかにするため、正中部に含まれる異なる 3 部位をそれぞれ破壊した。破壊部位を図 3A に示す。各部位の破壊後に、GLP-1 を正中部に注入した。試薬注入時のガラス管先端部位を図 1 に示す。対照とする無破壊群は、結果 1 の正中部に GLP-1 を投与した群 (図 3B の対照群) と同一の値を用いた。

GLP-1 投与後の嚔下頻度及び嚔下潜時の変化量を解析した。無破壊群 (対照：結果 1)、最後野吸引除去群 (嚔下頻度の変化量： -4.71 ± 1.02 回/20 秒，嚔下潜時の変化量： 2.92 ± 1.09 秒)，孤束核交連部電気焼灼群 (嚔下頻度の変化量： -3.43 ± 0.48 回/20 秒，嚔下潜時の変化量： 2.17 ± 0.47 秒)，孤束核の内側核電気焼灼群 (嚔下頻度の変化量： -0.43 ± 0.53 回/20 秒，嚔下潜時の変化量： 0.02 ± 0.13 秒) の 4 群間に、嚔下頻度の変化量及び嚔下潜時の変化量と

もに有意な差がみられた（嚔下頻度の変化量：F (3, 24) = 6.81, p < 0.05, 嚔下潜時の変化量：F (3, 24) = 4.32, p < 0.05）（図 3B）。多重検定の結果，孤束核の内側核電気焼灼群は，無破壊群，最後野吸引除去群，孤束核交連部電気焼灼群に比して嚔下頻度及び嚔下潜時ともに変化が有意に小さかった（図 3B）。一方，最後野吸引除去群，孤束核交連部電気焼灼群は無破壊群と比較して嚔下頻度及び嚔下潜時とも，変化に有意な差はみられなかった（図 3B）。

3. GLP-1 受容体阻害の効果

GLP-1 の反射性嚔下抑制作用が GLP-1 受容体を介すかどうかを明らかにするため，GLP-1 受容体アンタゴニストであるエキセンディン(5-39) を迷走神経背側複合核群正中部に前投与した。エキセンディン(5-39) 注入 20 分後に GLP-1 を正中部に注入した。試薬注入時のガラス管先端部位を図 1 に示す。GLP-1 投与後の嚔下頻度及び嚔下潜時の変化量をそれぞれ比較した。エキセンディン(5-39) 前投与群（嚔下頻度の変化量：-1.14±0.67 回/20 秒，嚔下潜時の変化量：0.03±0.07 秒）は溶媒前投与群（嚔下頻度の変化量：-4.00±0.93 回/20 秒，嚔下潜時の変化量：1.09±0.32 秒）に対して嚔下頻度及び嚔下潜時ともに変化が有意に小さかった（図 4）。エキセンディン(5-39) のみの投与では，嚔下頻度の変化量

(0.17 ± 1.17 回/20 秒, NS) 及び嚔下潜時の変化量 (-0.07 ± 0.08 秒, NS) に有意な差はみられなかった。

4. GLP-1 の用量依存性効果

用量依存性効果を確認するため、3 用量の GLP-1 を孤束核の内側核に注入した。試薬注入時のガラス管先端部位を図 5A に示す。GLP-1 投与後の嚔下頻度及び嚔下潜時の変化量の回帰分析し、それぞれ相関係数 R を算出した。嚔下頻度の変化量 ($R = 0.93$) 及び嚔下潜時の変化量 ($R = 0.74$) に強い相関がみられた (図 5B)。

考察

本研究により、GLP-1 が孤束核の内側核の GLP-1 受容体を介して反射性嚔下を抑制することが明らかになった。

GLP-1 の迷走神経背側複合核群正中投与により嘔下頻度の有意な減少と嘔下潜時の有意な延長がみられた (図 2)。注入に用いた 60 nL の溶液は直径が約 480 μm の球形となる。注入部位を Paxinos と Watson の脳地図に照合すると GLP-1 は最後野、孤束核交連部、孤束核の内側核のいずれかに作用すると考えられる²⁰⁾。迷走神経背側複合核群外側部に GLP-1 を投与しても嘔下頻度及び嘔下潜時に有意な変化がみられなかったため、溶液の拡散により外側部に含まれる嘔下起動神経群に GLP-1 が直接作用したのではなく、内側部のニューロンを介して反射性嘔下を抑制したと考えられる。

孤束核の内側核を破壊することにより GLP-1 の反射性嘔下抑制作用が消失した (図 3)。最後野または孤束核交連部のいずれを破壊しても、GLP-1 の反射性嘔下抑制作用はみられなかった (図 3)。破壊範囲を Paxinos と Watson の脳地図と照合すると、反射性嘔下抑制における GLP-1 の作用部位は孤束核の内側核である (図 3A)²⁰⁾。

GLP-1 受容体アンタゴニストであるエキセンディン(5-39) を正中投与により GLP-1 の反射性嘔下抑制作用が消失した (図 4)。孤束核に GLP-1 受容体が存在することは免疫組織学的に明らかにされている²¹⁾。延髄部分破壊実験と合わせると、GLP-1 の反射性嘔下抑制作用は孤束核の内側核の GLP-1 受容体を介した応答であると考えられる。本実験で投与したエキセンディン(5-39) の用量は単独で反射性嘔下亢進作用のみ見られない用量

であったので、エキセンディン(5-39)の前投与が GLP-1 受容体を阻害することにより、後に投与した GLP-1 の作用を消失させたと考えられる。

嚥下頻度及び嚥下潜時の変化量と GLP-1 の投与量の間に関係がみられた (図 5) ので、GLP-1 の反射性嚥下抑制作用は用量依存性応答であると考えられる。したがって、GLP-1 の反射性嚥下抑制作用は溶媒注入による機械的刺激等の効果ではなく、溶質である GLP-1 の作用による応答であると考えられる。本実験の GLP-1 投与量は過去の GLP-1 を脳実質内に投与した研究の投与量とほぼ同一となっており、妥当な投与量であると考えられる²²⁾。

GLP-1 は腸管の L 細胞より分泌される³⁾。GLP-1 は血液脳関門を通過するので²³⁾、腸管より分泌された GLP-1 が体循環を経て孤束核に存在する GLP-1 受容体に作用する可能性があると考えられる。しかし、GLP-1 は血中でジペプチジルペプチターゼ-4 により急速に分解されるので^{24, 25)}、中枢に対する影響は少ないと考えられる。GLP-1 は腸管のみならず孤束核でも分泌される^{8, 9)}。本研究で明らかにされた孤束核の内側核を介した GLP-1 の反射性嚥下抑制作用は、孤束核で分泌された GLP-1 由来の応答を示すものであると推測される。

嚥下は摂食の初期過程であり，本研究で見出された GLP-1 の反射性嚥下抑制効果は GLP-1 の摂食抑制作用とも関連していると考えられる。GLP-1 受容体アンタゴニストを第四脳室に投与すると摂食量が増加することが知られている²⁶⁾。本研究の作用部位と同部位である孤束核の内側核に GLP-1 受容体アンタゴニストを投与すると摂食量が増加する¹¹⁾。さらに，GLP-1 受容体アゴニストを孤束核の内側核に投与すると摂食量減少及び体重の減少がみられるので，GLP-1 は孤束核の内側核の GLP-1 受容体を介し食欲を低下させ摂食を抑制していると考えられている²⁷⁾。したがって，本研究で明らかになった孤束核の内側核を介した GLP-1 の反射性嚥下抑制作用は，GLP-1 の摂食抑制機能及び食欲低下機能に関連すると考えられる。

結論

本研究により, GLP-1 は孤束核の内側核の GLP-1 受容体を介して反射性嚥下を抑制することが明らかとなった。

謝辞

稿を終えるに当たり, 本研究を行う機会を与えて下さった岡山大学大学院医歯薬学総合研究科口腔生理学分野 松尾龍二教授に謹んで感謝の意を表します。本研究を行うに当たり, 多大なご援助とご協力を頂きました岡山大学大学院医歯薬学総合研究科口腔生理学分野の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JP, Smith DM, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR.: A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, **379**, 69-72, 1996.

- 2) Tang-Christensen M, Larsen PJ, Goke R, Fink-Jensen A, Jessop DS, Moller M, Sheikh SP.: Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats. *Am J Physiol.*, **271**, R848-856, 1996.

- 3) Varndell IM, Bishop AE, Sikri KL, Uttenthal LO, Bloom SR, Polak JM.: Localization of glucagon-like peptide (GLP) immunoreactants in human gut and pancreas using light and electron microscopic immunocytochemistry. *J Histochem Cytochem.*, **33**, 1080-1086, 1985.

- 4) Kreymann B, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR.: Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet*, **2**, 1300-1304, 1987.

- 5) Merchenthaler I, Lane M, Shughrue P.: "Distribution of pre-pro-glucagon and glucagon-like peptide-1 receptor messenger RNAs in the rat central nervous system. *J Comp Neurol.*, **403**, 261-280, 1999.

- 6) Abbott CR, Monteiro M, Small CJ, Sajedi A, Smith KL, Parkinson JR, Ghatei MA, Bloom SR.: The inhibitory effects of peripheral administration of peptide YY(3-36) and glucagon-like peptide-1 on food intake are attenuated by ablation of the vagal-brainstem-hypothalamic pathway. *Brain Res.*, **1044**, 127-131, 2005.

- 7) Berthoud HR.: Vagal and hormonal gut-brain communication: from satiation to satisfaction, *Neurogastroenterol Motil.*, **20 Suppl 1**, 64-72, 2008.

- 8) Jin SL, Han VK, Simmons JG, Towle AC, Lauder JM, Lund PK.: Distribution of glucagonlike peptide I (GLP-I), glucagon, and glicentin in the rat brain: an immunocytochemical study. *J Comp Neurol.*, **271**, 519-532, 1988.

- 9) Larsen PJ, Tang-Christensen M, Holst JJ, Orskov C.: Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neuroscience.*, **77**, 257-270, 1997.

- 10) Tang-Christensen M, Vrang N, Larsen PJ.: Glucagon-like peptide containing pathways in the regulation of feeding behaviour. *Int J Obes Relat Metab Disord.*, **25 Suppl 5**, S42-47, 2001.

- 11) Hayes MR, Bradley L, Grill HJ.: Endogenous hindbrain glucagon-like peptide-1 receptor activation contributes to the control of food intake by mediating gastric satiation signaling. *Endocrinology.*, **150**, 2654-2659, 2009.

- 12) Bradley RM.: Sensory receptors of the larynx. *Am J Med.*, **108 Suppl 4a**, 47S-50S, 2000.

- 13) Storey AT, Johnson P.: Laryngeal water receptors initiating apnea in the lamb. *Exp Neurol.*, **47**, 42-55, 1975.

- 14) Furusawa K, Yasuda K, Okuda D, Tanaka M, Yamaoka M.: Central distribution and peripheral functional properties of afferent and efferent components of the superior laryngeal nerve: morphological and electrophysiological studies in the rat. *J Comp Neurol.*, **375**, 147-156, 1996.

- 15) Jean A.: Brain stem control of swallowing: neuronal network and cellular mechanisms. *Physiol Rev.*, **81**, 929-969, 2001.

- 16) Felix B, Jean A, Roman C.: Leptin inhibits swallowing in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, **291**, R657-663, 2006.

- 17) Kobashi M, Xuan SY, Fujita M, Mitoh Y, Matsuo R.: Central ghrelin inhibits reflex swallowing elicited by activation of the superior laryngeal nerve in the rat. *Regul Pept.*, **160**, 19-25, 2010.

- 18) Kobashi M, Mizutani S, Fujita M, Mitoh Y, Shimatani Y, Matsuo R.: Central orexin inhibits reflex swallowing elicited by the superior laryngeal nerve via caudal brainstem in the rat. *Physiol Behav.*, **130**, 6-12, 2014.

- 19) Montrose-Rafizadeh C, Yang H, Rodgers BD, Beday A, Pritchette LA, Eng J.: High potency antagonists of the pancreatic glucagon-like peptide-1 receptor. *J Biol Chem.*, **272**, 21201-21206, 1997.

- 20) Paxinos G, Watson C.: The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, Burlington, 2007.

- 21) Tauchi M, Zhang R, D'Alessio DA, Stern JE, Herman JP.: Distribution of glucagon-like peptide-1 immunoreactivity in the hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei. *J Chem Neuroanat.*, **36**, 144-149, 2008.
- 22) Schick RR, Zimmermann JP, vom Walde T, Schusdziarra V.: Peptides that regulate food intake: glucagon-like peptide 1-(7-36) amide acts at lateral and medial hypothalamic sites to suppress feeding in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, **284**, R1427-1435, 2003.
- 23) Kastin AJ, Akerstrom V, Pan W.: Interactions of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) with the blood-brain barrier. *J Mol Neurosci.*, **18**, 7-14, 2002.
- 24) Mentlein R, Gallwitz B, Schmidt WE.: Dipeptidyl-peptidase IV hydrolyses gastric inhibitory polypeptide, glucagon-like peptide-1(7-36)amide, peptide histidine methionine and is responsible for their degradation in human serum. *Eur J Biochem.*, **214**, 829-835, 1993.

- 25) Kieffer TJ, McIntosh CH, Pederson RA.: Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Endocrinology*, **136**, 3585-3596, 1995.
- 26) Punjabi M, Arnold M, Ruttimann E, Graber M, Geary N, Pacheco-Lopez G, Langhans W.: Circulating Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) Inhibits Eating in Male Rats by Acting in the Hindbrain and Without Inducing Avoidance. *Endocrinology.*, **155**, 1690-1699, 2014.
- 27) Alhadeff AL, Grill HJ.: Hindbrain nucleus tractus solitarius glucagon-like peptide-1 receptor signaling reduces appetitive and motivational aspects of feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, **307**, R465-470, 2014.

脚注

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔生理学分野（主任：松尾龍二教授）

図表の説明

図1 延髄内への試薬投与部位

GLP-1 及びエキセンディン(5-39) の投与部位を示す。黒丸は迷走神経背側複合核群正中部に GLP-1, エキセンディン(5-39) もしくは溶媒を注入した際のガラス管先端部位を示す。黒三角は迷走神経背側複合核群外側部に GLP-1 もしくは溶媒を注入した際のガラス管先端部位を示す。4V は第四脳室, AP は最後野, NTS は孤束核, sol は孤束, DMV は迷走神経背側運動核, 12 は舌下神経核, cc は中心管を示す。右下の数値は Bregma (十字縫合) からの距離を示す。

図2 GLP-1が反射性嚥下に及ぼす効果

A: 迷走神経背側複合核群正中部に GLP-1 を投与した際の反射性嚥下の筋電図記録例を示す。それぞれの筋電図上の黒丸は嚥下を示し、下線は上喉頭神経の電気刺激期間を示す。

上から GLP-1 (20 pmol) 投与 5 分前, 10 分後, 50 分後の応答を示す。B: 延髄内に GLP-1

投与した際の反射性嚥下の経時変化を示す。上段は嚥下頻度の経時変化を示し、下段は嚥

下潜時の経時変化を示す。星標は GLP-1 投与 5 分前との有意な差を示す。C: 試薬投与後

の変化量を示す。上段は嚥下頻度の、下段は嚥下潜時の変化量を示す。上段、下段ともに

左から、正中部に GLP-1 を注入した群、正中部に溶媒を注入した群、外側部に GLP-1 を

注入した群、外側部に溶媒を注入した群を示す。星標は正中部に溶媒を注入した群との、

剣標は外側部に GLP-1 を注入した群との有意な差を示す。正中部への GLP-1 注入により

反射性嚥下の減弱が生じた。

図3 延髄部分破壊が GLP-1 の反射性嚥下抑制作用に及ぼす効果

A: 延髄の破壊部位を示す。最後野については吸引除去し、孤束核交連部及び孤束核の内側核については電気焼灼した。a: 無破壊群 (対照) の延髄前額断図を示す。4V は第四脳

室, AP は最後野, NTS は孤束核, sol は孤束, DMV は迷走神経背側運動核, 12 は舌下神

経核，cc は中心管を示す。右下の数値は Bregma（十字縫合）からの距離を示す。b：最後野吸引除去後の延髄表面を太線で示す。c：孤束核交連部電気焼灼群の破壊範囲を太線で示す。d：孤束核の内側核電気焼灼群の破壊範囲を太線で示す。c，d：星印は電極の先端を示す。B：GLP-1 正中部注入による変化量を示す。上段は嚔下頻度の，下段は嚔下潜時の変化量を示す。上段，下段ともに，左から無破壊群（対照），最後野吸引除去群，孤束核交連部電気焼灼群，孤束核の内側核電気焼灼群を示す。ただし，無破壊群（対照）については，
図 2C の迷走神経背側複合核群正中部に GLP-1 を注入した群と同一の実験結果を用いた。
星標は無破壊群（対照）との，剣標は最後野吸引除去群との，二重剣標は孤束核交連部電気焼灼群との有意な差を示す。孤束核の内側核の破壊により，GLP-1 の反射性嚔下抑制作用が消失した。

図 4 エキセンディン(5-39) が GLP-1 の反射性嚔下抑制作用に及ぼす効果

いずれも迷走神経背側複合核群正中部に GLP-1 を注入した際の変化量を示す。上段は嚔下頻度の，下段は嚔下潜時の変化量を示す。上段，下段ともに左は溶媒前投与群，右はエキセンディン(5-39) 前投与群を示す。星標は溶媒を前投与した群との有意な差を示す。エキセンディン(5-39) 前投与により GLP-1 の反射性嚔下抑制作用が消失した。

図 5 GLP-1 の反射性嚔下抑制作用の用量依存性効果

A : GLP-1 注入時のガラス管先端部位を黒四角示す。4V は第四脳室, AP は最後野, NTS は孤束核, sol は孤束, DMV は迷走神経背側運動核, 12 は舌下神経核, cc は中心管を示す。右下の数值は Bregma (十字縫合) からの距離を示す。B : 3 用量の GLP-1 を注入した際の変化量をプロットし, その回帰直線を示す。上段は嚔下頻度の, 下段は嚔下潜時の変化量を示す。GLP-1 の反射性嚔下抑制作用に用量依存性効果がみられた。

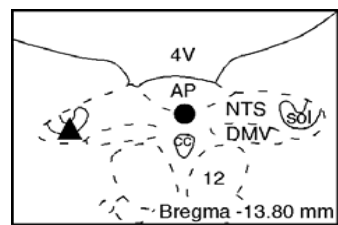


図1 延髄内への試薬投与部位

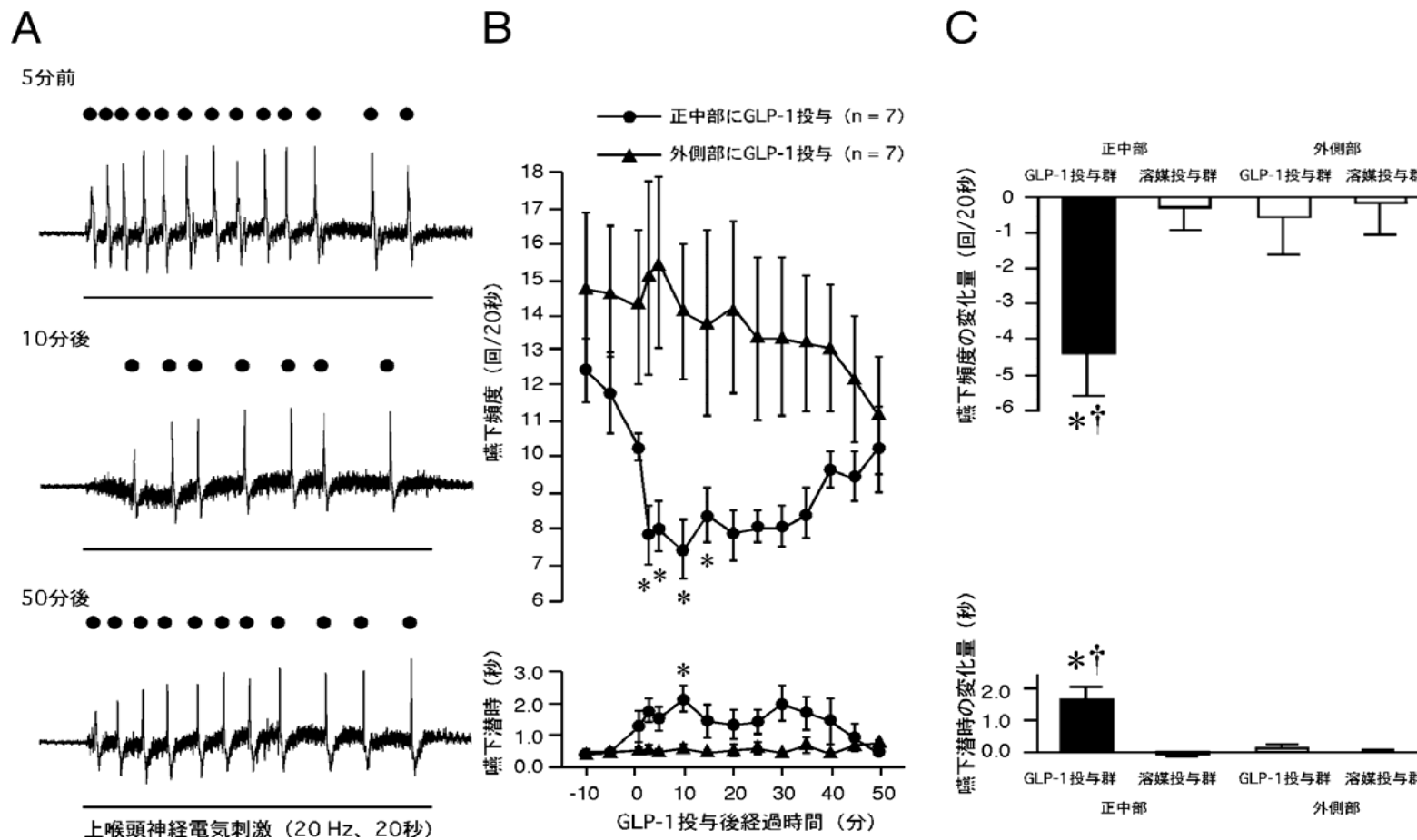


図2 GLP-1が反射性嚥下に及ぼす効果

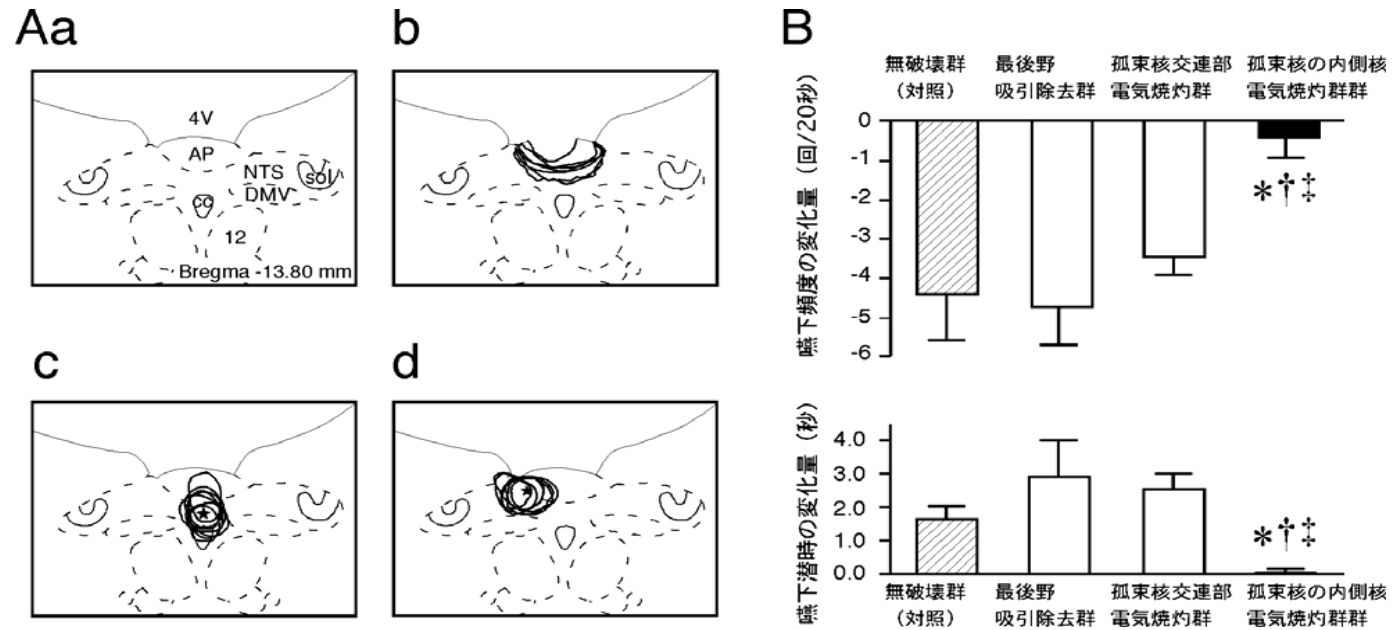


図3 延髄部分破壊がGLP-1の反射性嚔下抑制作用に及ぼす効果

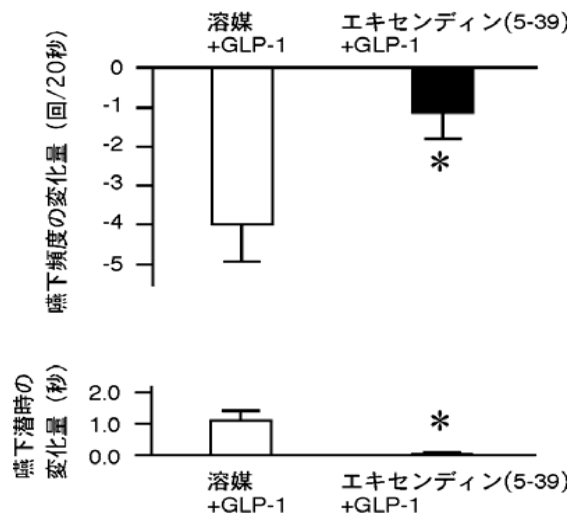


図4 エキセンディン(5-39)がGLP-1の反射性嚥下抑制作用に及ぼす効果

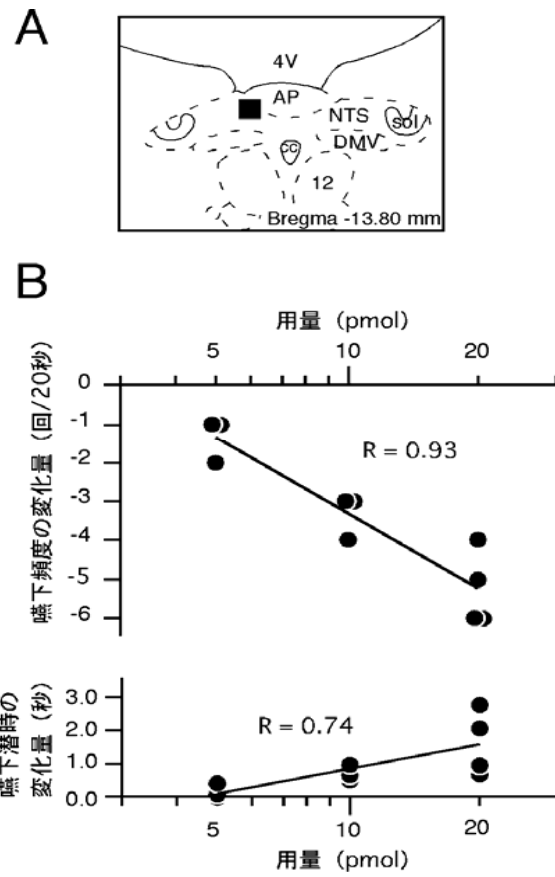


図5 GLP-1の反射性嚔下抑制作用の用量依存性効果