

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18791534
 研究課題名（和文） 顎口腔領域の運動ニューロンへのサブスタンス P 終末の入力様式
 研究課題名（英文） Synaptic input of substance P terminals in trigeminal motor neurons
 研究代表者
 中山 洋子（NAKAYAMA YOKO）
 松本歯科大学・歯学部・講師
 研究者番号：30308647

研究成果の概要：

舌下神経核には、呼吸リズムに同期して活動するニューロン（呼吸性オトガイ舌筋ニューロン）と嚥下時に活動するニューロン（嚥下性オトガイ舌筋ニューロン）が存在する。我々は呼吸性オトガイ舌筋ニューロンの局在領域をマッピングするとともに、その領域のサブスタンス P 陽性軸索終末は生後 7 日がピークになっていることを報告した。本研究では舌下神経核に対するサブスタンス P による神経調節機構について超微細構造の検討を行った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,900,000	0	1,900,000
2007 年度	0	0	0
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	450,000	3,850,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：呼吸、嚥下、サブスタンス P、オトガイ舌筋、舌下神経核、三叉神経運動核

1. 研究開始当初の背景

上気道の保持に関する舌運動は、主にオトガイ舌筋が担うとされる。延髄の舌下神経核に局在するオトガイ舌筋の運動ニューロンの中には、呼吸リズムに同期して活動するニューロン（呼吸性オトガイ舌筋ニューロン）と嚥下時に活動するニューロン（嚥下性オトガイ舌筋ニューロン）が存在する。呼吸性オトガイ舌筋ニューロンは、延髄の Pre-Bötzinger Complex に存在する呼吸リ

ズムジェネレーターからの呼吸性神経放電に関わる主入力と、延髄の縫線核細胞などからの調節性入力によってオトガイ舌筋が上気道の保持を担うための運動を制御するとされている。呼吸性オトガイ舌筋ニューロンの神経放電に関わる神経伝達物質としては、グルタミン酸やアデノシン三リン酸が知られている。一方、呼吸性オトガイ舌筋の膜電位感受性の変化を担う神経修飾物質としてはサブスタンス P、セロトニン、ノルアドレナリンなどがある。特にタキキ

ニン類に分類されるサブスタンス P は、呼吸性オトガイ舌筋ニューロンに対して興奮性に働き、その効果が濃度依存性であることが明らかになっている。申請者らは呼吸性オトガイ舌筋ニューロンの局在領域を詳細に **mapping** するとともに、その領域のサブスタンス P 陽性軸索終末の分布量は生後 7 日がピークになっていることを報告した。現在、申請者らはこれらの研究成果をもとに、咀嚼運動に関わる三叉神経運動核およびその周囲におけるサブスタンス P 濃度にも研究を発展させている。

2. 研究の目的

サブスタンス P による運動ニューロンの神経調節には、(1) サブスタンス P 陽性軸索終末が運動ニューロンの細胞体あるいは樹状突起と化学的シナプスを形成する、(2) いわゆる化学的シナプスを形成せず、終末からサブスタンス P が細胞間隙に漏出し、運動ニューロンの受容体を刺激する、などの 2 つのタイプがあるとされている。本研究では舌下神経核と三叉神経運動核のニューロンに対する、サブスタンス P による神経調節機構を明らかにする目的で、以下の如く超微細構造の検討を行う。

1 舌下神経核の呼吸性オトガイ舌筋ニューロンと嚥下性オトガイ舌筋ニューロン領域におけるサブスタンス P 陽性軸索終末の超微細構造 (化学的シナプスの有無)

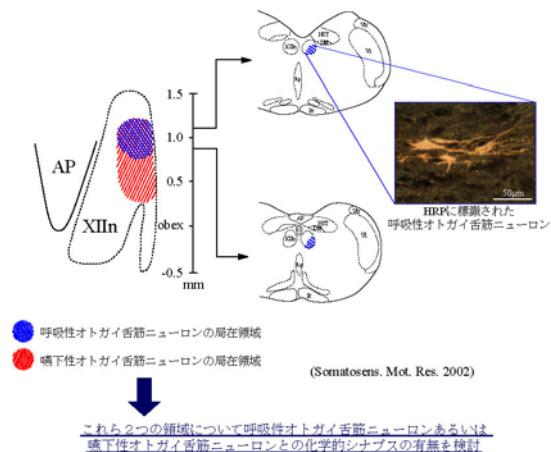
2 三叉神経運動核およびその周囲におけるサブスタンス P 陽性軸索終末の超微細構造 (化学的シナプスの有無)

3. 研究の方法

(1) 呼吸性オトガイ舌筋ニューロンおよび嚥下性オトガイ舌筋ニューロン局在領域におけるサブスタンス P 陽性終末の超微細構造

実験には Wistar 系ラットを用いる。Tiopental 0.5mg/g の腹腔内投与による浸麻酔下で、灌流固定後、脳幹および上部脊髄を摘出しマイクロスライサーにて横断連続切片を作製する。0.3%過酸化水素水による内因性ペルオキシダーゼの除去と、10% Sheep serum による抗体の非特異反応を阻害する前処理の後、Rabbit anti-substance P

polyclonal antibody を 1 次抗体とする一連の免疫組織化学染色を行う。光学顕微鏡下で舌下神経核の呼吸性オトガイ舌筋ニューロン局在領域と嚥下性オトガイ舌骨筋ニューロン局在領域をそれぞれ切り出し、オスミウムにて後固定する。エポン樹脂包埋後、ウルトラマイクロトームで超薄切片を作製し、電子顕微鏡下でサブスタンス P 陽性軸索終末の超微細構造を観察し、呼吸性オトガイ舌筋ニューロンあるいは嚥下性オトガイ舌骨筋ニューロンとの化学的シナプスの有無を検討する。



(2) 三叉神経運動核およびその周囲のサブスタンス P 陽性終末の超微細構造

実験には Wistar 系ラットを用いる。Tiopental 0.5mg/g の腹腔内投与による浸麻酔下で、灌流固定後、脳幹および上部脊髄を摘出しマイクロスライサーにて横断連続切片を作製する。0.3%過酸化水素水による内因性ペルオキシダーゼの除去と、10% Sheep serum による抗体の非特異反応を阻害する前処理の後、Rabbit anti-substance P polyclonal antibody を 1 次抗体とする一連の免疫組織化学染色を行う。光学顕微鏡下で舌下神経核の呼吸性オトガイ舌筋ニューロン局在領域と嚥下性オトガイ舌骨筋ニューロン局在領域をそれぞれ切り出し、オスミウムにて後固定する。エポン樹脂包埋後、ウルトラマイクロトームで超薄切片を作製し、電子顕微鏡下でサブスタンス P 陽性軸索終末の超微細構造を観察する。三叉神経運動核の背外側亜核 (閉口筋領域) と腹内側亜核 (開口筋領域) および三叉神経運動核周囲 (咀嚼リズ

ムジェネレーター局在域)のそれぞれで、サブスタンスP陽性軸索終末と運動ニューロンとの化学的シナプスの有無を検討する。

4. 研究成果

(1) 電子顕微鏡下でサブスタンスP陽性軸索終末の超微細構造を観察し、呼吸性オトガイ舌筋ニューロンあるいは嚥下性オトガイ舌骨筋ニューロンとの化学的シナプスの有無を検討した結果、それぞれのオトガイ舌筋ニューロンとサブスタンスP陽性軸索終末とのシナプス接合が認められた。

(2) 電子顕微鏡下でサブスタンスP陽性軸索終末の超微細構造を観察し、三叉神経運動核の背外側亜核(閉口筋領域)と腹内側亜核(開口筋領域)および三叉神経運動核周囲(咀嚼リズムジェネレーター局在域)のそれぞれで、サブスタンスP陽性軸索終末と運動ニューロンとの化学的シナプスの有無を検討した結果、サブスタンスP陽性軸索終末と運動ニューロンとの接合が認められた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中山 洋子 (NAKAYAMA YOKO)

松本歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：30308647

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者