

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19791466

研究課題名（和文） 咀嚼運動に関与する中枢機構の解明

研究課題名（英文） Central mechanisms involved in masticatory movements

研究代表者

李 淳 (LEE JUN)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：10386055

研究成果の概要：本研究では、以下の検討を行った。①2種類のドパミンD₁受容体アゴニスト（アデニル酸シクラーゼ活性化型、ホスホリパーゼC活性化型）は、顎運動を発現するが、そのタイプによってD₁受容体の関与様式が異なることが示唆された。②内分泌攪乱物質を幼若期に投与したラット群と対照群とでは、ドパミン依存性の行動に差が認められなかった。したがって、内分泌攪乱物質処置ラットの多動症モデルとしての有用性は限られたものであることが考えられた。③側坐核からの遠心性投射路の一つとして考えられる視床背内側核(mdT)のGABA_A受容体の役割について検討した結果、mdTのGABA_A受容体は側坐核のアセチルコリン受容体機能に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：行動薬理学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系歯学

キーワード：ドパミン 大脳基底核 顎運動

1. 研究開始当初の背景

摂食行為は、生命活動の維持に欠かせない重要な機能であることは言うまでもなく、QOLの向上にも資するものである。なかでも咀嚼は、口腔局所の疾患だけでなく、パーキンソン病や、老人性認知症などの中枢神経系の疾患によっても機能が障害されることが知られている。咀嚼運動の発現には、大脳皮質運動野顔面領域や咀嚼野から錐体路を介し、

延髄のパターンジェネレータを経て三叉神経運動核に至る経路が深く関わりとされている。しかし咀嚼運動のリズムやパターンの調節には、さらに錐体外路系といわれる線条体などの大脳基底核が関与しており、錐体路系と錐体外路系からなる複雑な神経機構を介しているものと考えられている。

歯科臨床の場では、高齢者人口の増加とともに、咀嚼障害や摂食嚥下障害患者の診療に

携わる機会が多くなってきている。咀嚼障害患者に対する治療法としては、咬合に対する補綴学的治療の側面からのアプローチが中心に行われているのが現状である。しかし、根本的な改善法や予防法が確立されているとは言い難い。そうしたなか、中枢神経機能の変化に基づく咀嚼障害発生機序の根本的な解明が待たれている。

咀嚼運動メカニズムを解明するために行なわれる、ラットの顎運動を調節する中枢神経機能の研究に関しては、薬物の全身投与実験によってドパミン神経系やアセチルコリン神経系が重要な役割を果たすことが報告されており、線条体などの大脳基底核がその調節に密接に関与することが明らかにされてきている。しかし、顎運動を発現させる脳部位や関与する神経伝達物質についての詳細は未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

ラットの顎運動の調節に関与する中枢神経機能に関しては、薬物の全身投与によってドパミン神経系やアセチルコリン神経系が重要な役割を果たすことが報告されており、線条体などの大脳基底核がその調節に密接に関与することが明らかにされてきている。しかし、顎運動を発現させる脳部位や関与する神経伝達物質についての詳細は未だ不明な点が多い。そこで本研究では、大脳基底核に主眼をおき、咀嚼運動の調節に関与する中枢神経機能の一端を廉価な動物モデルを用いて解明することを目的とした。

具体的には、以下の3つについて検討した。

(1)ラットのドパミンD₁/D₂受容体を刺激すると顎運動が発現することが報告されている。近年、ドパミンD₁受容体アゴニストとして、アデニレートシクラーゼを選択的に活性化するSKF83822 とホスホリパーゼCを選択的に

活性化するSKF83959 が知られるようになった。これまでに、ラットへのSKF83822 とSKF83959 の全身投与は顎運動に異なる作用を示すことが報告されている。しかし、これらの薬物の作用機序の詳細については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、ドパミン受容体アゴニストを自由運動下ラットに投与し、発現する効果を顎運動だけではなく、全身の行動とともに詳細に解析した。

(2)近年、歯科用材料にも含まれるbisphenol-Aは、内分泌攪乱物質として注目されている。これまでに、幼若期のラットにbisphenol-Aを処置すると過活動性が発現することから、小児の注意欠陥多動障害(ADHD)のモデルとなる可能性が指摘されている。そこで、本研究では、新生期にbisphenol-Aを処置したラットがADHDの動物モデルとなりうるか否かについて、ドパミンD₁/D₂受容体刺激薬であるapomorphineで誘発される顎運動を指標として検討した。

(3)ラットの顎運動は、線条体の刺激のみならず、側坐核を刺激しても発現することが知られ、側坐核も顎運動の発現に重要な役割を果たしている。この側坐核からの遠心性投射先として、ventral pallidum (VP) が重要な役割を果たすことが報告されている。このVPからは、mediodorsal thalamus (mdT) へのGABA性の投射が知られている。そこで本研究では、ラットのturning behaviourを指標として、側坐核刺激誘発行動の発現におけるmdTのGABA_A受容体の役割について検討した。

3. 研究の方法

(1)(2)ラットの顎運動の測定

ラットをペントバルビタール (50 mg/kg, i.p.) にて全身麻酔を施し、頭部と顎下にそれぞれ2%リドカイン (0.05 ml, s.c.) を注入し局所麻酔を施した。ラット頸部から下顎先端

にかけて上皮弁を形成し、下顎骨先端部の骨膜を剥離したのち露出した骨面に直径 5 mm、厚さ 2 mm の磁石を外科用アロンアルファにて接着固定した。次いで、頭皮を剥離し、磁気センサ HW-300B を鼻骨上部に設置し、脱離予防のための補強用ネジとともに歯科用即時重合レジンにて固定した。約 1 週間の回復期間の後、観察用ケージにラットを移し、尾静脈から薬液を注入した。薬物投与によって発現する顎運動は、磁気センサから導出された微弱なホール電圧を増幅するためにオペアンプ (LM324) に信号を入力し、スパイク 2 (顎運動解析ソフト) に出力した。ラットの行動観察は薬物投与直後から行い、5 分間毎の行動を肉眼観察し、行動パターンの解析によって、薬物の効果をより詳細に検討した。

(3)ラットの turning behaviour の測定

ラットをペントバルビタールで麻酔し、Paxinos & Watson のアトラスに従って、マニピュレータを用いて薬液注入用のステンレス製ガイドカニューレを左側の側坐核および mdT に植立した。約 1 週間の回復期間の後、ラットを観察用ケージに移し、60 分間環境に馴化させた後、薬物をマイクロシリンジを用い、ガイドカニューレを通じて投与した。誘発される turning behaviour の計数は 5 分間ごとに 180 分間にわたって行った。

実験終了後、ラットを過量のハロタンで安楽死させたうえ、脳を取り出し、ホルマリン液中で固定した。その後、薬物注入部位を中心に厚さ 50 μm の前額断連続組織標本作製し、ニッスル染色を行い、組織学的に薬物注入部位の位置を確認した。

4. 研究成果

(1)ラットに SKF83822 と SKF83959 を静脈

内投与することによって顎運動が発現するかどうかについて検討した。その結果、SKF83822 (0.08 mg/kg) または SKF83959 (0.08 mg/kg) のいずれを投与しても著明な顎運動が発現した(図 1)。

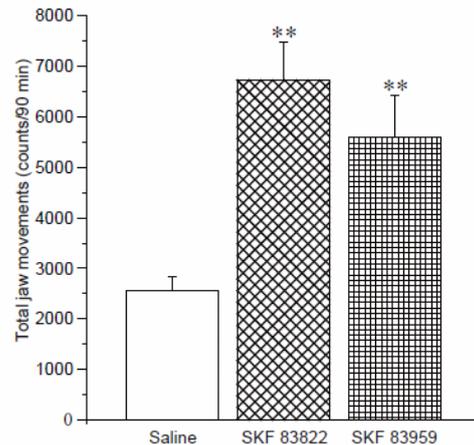


図 1 顎運動発現における SKF83822 および SKF83959 の効果

SKF83822 と SKF83959 は、それぞれ異なる細胞内情報伝達系を介することが知られているので、その顎運動のパターンが異なるかどうかを検討する目的で、発現した顎運動を運動タイプ別に詳細に解析した。顎運動を 4 つの運動タイプ [syntactic grooming, non-syntactic grooming, vacuous chewing (closing dominant), vacuous chewing (open dominant)] に分けて解析した結果、non-syntactic groomingにおける顎運動は、SKF83822 によって著明に発現したのに対し、SKF83959 では有意な発現は認められなかった。一方、他の運動タイプでは、両薬物によって同程度の顎運動が発現した。この結果から、顎運動のタイプによって D_1 受容体の関与様式が異なることが示唆された。

(2) 内分泌攪乱物質の bisphenol-A を幼若期ラットに投与すると ADHD 様の症状を示す

報告があることから、そのモデルとしての妥当性を検討した。生後 5 日のラットに bisphenol-A (40 μg) を大槽内に処置し、8 週齢時に実験をおこなった。まず、自発行動量を測定した結果、bisphenol-A 処置群と対照群とで著明な差はなかった。次に、methylphenidate (1, 3 mg/kg) を投与して発現する運動量の増加について検討したが、両群間に差は認められなかった(図 2)。

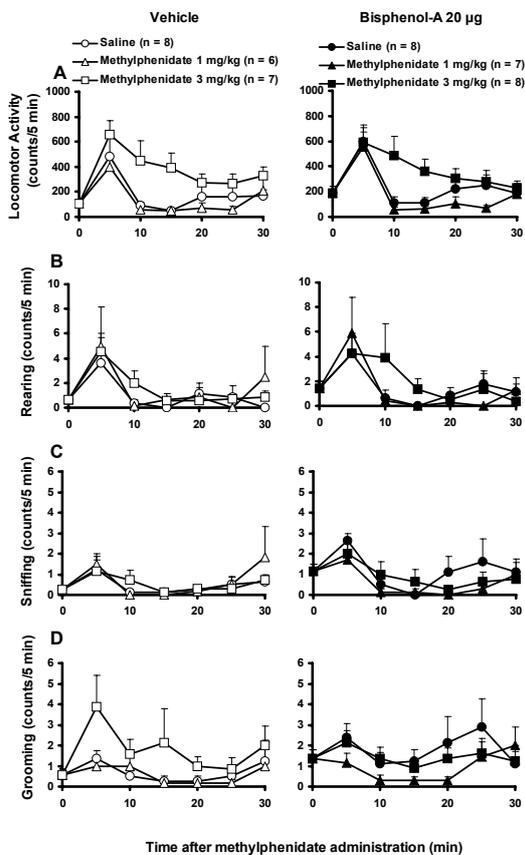


図 2 Methylphenidate 誘発運動量増加に対する bisphenol-A 前処置の効果

さらに、顎運動測定装置を用いて、apomorphine 処置による顎運動の発現について検討した。その結果、対照群、bisphenol-A 処置群ともに apomorphine (1 mg/kg, i.v.) の投与によって同様の顎運動を発現し、両群間に差は認められなかった。以上の結果から、この bisphenol-A 処置ラットの ADHD モデル

としての有用性は限られたものであることが考えられた。

③片側の側坐核のドパミン受容体を刺激すると回転半径が小さく片側の後肢を回転軸とする pivoting が、アセチルコリン受容体を刺激すると回転半径の大きい circling が発現することが知られている。本研究では、側坐核を刺激して発現する turning behaviour における mdT の GABA_A 受容体の役割について検討した。片側の mdT に GABA_A 受容体アゴニストの muscimol (50 ng) またはアンタゴニストの bicuculline (200 ng) を投与しても著明な turning behaviour の発現は認められなかった。片側の側坐核にアセチルコリン受容体アゴニストの carbachol (5 μg) を投与して発現する circling は、同側の mdT に muscimol (50 ng) を投与することによって抑制された。この効果は、bicuculline (200 ng) を併用することで拮抗された(図 3)。

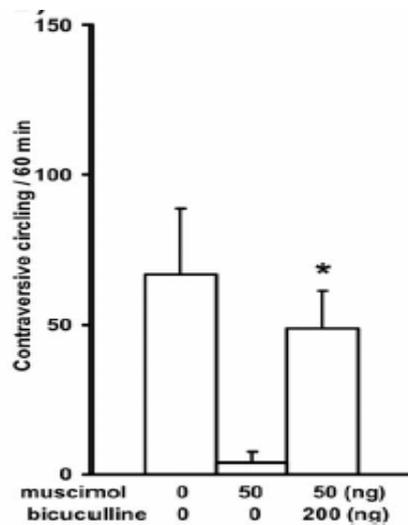


図 3 側坐核に carbachol (5 μg) を投与して発現する circling に対する mdT への muscimol および bicuculline 投与の効果

一方、片側の側坐核にドパミン D₁ 受容体アゴニストの SKF 38393 (5 μg) と D₂ 受容体アゴニストの quinpirole (10 μg) を併用投与し

て発現するpivotingは、mdTにmuscimol (50 ng) またはbicuculline (200 ng) を投与しても影響を受けなかった。以上の結果から、mdTのGABA_A受容体は側坐核のアセチルコリン受容体機能に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

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)

[雑誌論文] (計3件)

①Ikeda H, Kotani A, Lee J, Koshikawa N, Cools AR: GABA_A receptors in the mediodorsal thalamus play a crucial role in rat shell-specific acetylcholine-mediated, but not dopamine-mediated, turning behaviour. *Neuroscience* Vol. 159, 1200-1207, 2009. 査読有り

②Fujita S, Kiguchi M, Lee J, Terakado M, Suga K, Hatanaka H, Koshikawa N: 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the ventrolateral striatum differentially modulate apomorphine-induced jaw movements in rats. *Journal of Oral Science* Vol. 50, No. 4, 387-395, 2008. 査読有り

③Kiguchi M, Fujita S, Lee J, Shimizu N, Koshikawa N: Behavioral responses to methylphenidate and apomorphine in rats exposed neonatally to bisphenol-A. *Journal of Oral Science* vol. 49 No. 4, 311-318, 2007. 査読有り

6. 研究組織

(1) 研究代表者

李 淳 (LEE JUN)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：10386055

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：