

機関番号：14401
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20592330
 研究課題名（和文）ブラキシズム・オーラルディスクネジア発症における脳幹内制御機構の
 解明
 研究課題名（英文）Analysis of neural mechanism within brainstem related to
 the pathogenesis of bruxism and oral dyskinesia.
 研究代表者
 田中 晋 (Tanaka Susumu)
 大阪大学・大学院歯学研究科・招聘教員
 研究者番号：00367541

研究成果の概要（和文）：睡眠時ブラキシズム(Brx) やオーラルディスクネジア(OD) 発症に関わる三叉神経系ニューロン群の興奮特性について、Glutamate、5-HT、Orexin などの神経伝達物質により膜興奮性は中脳路核ニューロンでは抑制され、運動核ニューロンでは増大した。免疫組織染色により、神経伝達物質の受容体発現は生後発達の増加した。三叉神経系において運動—感覚系は相反した独立の神経修飾作用を受けており、Brx, OD では受容体活性の変化などにより、運動—感覚系の協調された制御機構が破綻することが推察された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the membrane properties in trigeminal neurons related to the pathogenesis of sleep bruxism and oral dyskinesia. Application of Glutamate, 5-HT or Orexin, one of neurotransmitters, suppressed membrane properties of rat trigeminal mesencephalic neurons, while those transmitters increased the membrane excitability in trigeminal motoneurons. Morphological study using immunostaining also revealed the developmental increase of receptor expressions of neurotransmitters examined in this study. These results show the differential modulatory effects on motor and sensory system in trigeminal network independently. It is interesting to speculate that some abnormalities such as denatured receptor sensitivity to neurotransmitters might disrupt regulation in a coordinate manner between motor and sensory inputs and exert oral motor dysfunction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：三叉神経 顎運動 脳幹 不随意運動

1. 研究開始当初の背景

睡眠時のブラキシズムや薬剤性のオーラルディスクイネジアなどの病的な不随意顎運動は末梢あるいは中枢性に基本的な顎運動パターンが修飾されることにより発症すると考えられているが、詳細な機序は未だ不明である。吸啜や咀嚼運動などでみられる基本的な顎運動パターンは、呼吸や歩行運動と同様に脳幹内に存在する central pattern generatorにより形成されることが知られている。中枢性司令と末梢からの反射性司令とにより誘発される運動が拮抗する場合は、中枢性司令が優先して随意運動が出現するが、薬剤投与下あるいは睡眠時においては両者のバランスが変調をきたすことにより、リズムの失調を伴う異常な顎運動パターンを惹起する可能性が高いと推察される。

こうした機能に対する解析は主に *in vivo* における実験系により行われてきたが、脳幹内における詳細な神経制御機構を解明するためには *in vitro* における細胞レベルでの研究が不可欠である。しかしながら末梢からの反射性司令に関わる三叉神経系ニューロン群の細胞レベルでの興奮機序は殆ど明らかにされていない。

研究代表者らは、これらの活動の発現、修飾に I_h や persistent Na current (I_{NaP}) が特異的に関与していることを明らかにしてきた (Tanaka and Chandler, 2006. *J. Neurosci Res*, 83; 1362-1372.; Wu et al., 2005. *J. Neurophysiol*, 93; 2710-2722; Tanaka et al., 2003. *J. Neurophysiol*, 89; 1288-1298; Tanaka and Chandler. 2003. *Soc. for Neurosci. Abstr.* 473.1, Tanaka and Chandler. 2002. *Soc. for Neurosci. Abstr.* 744.3.)。さらに研究代表者らの最近の研究より I_h や I_{NaP} はグルタミン酸や 5-HT(セロトニン)

などの神経伝達物質により抑制的に制御される結果が得られた。このことは 5-HT を始めとする神経伝達物質が、睡眠時ブラキシズムや薬剤性オーラルディスクイネジアの発症機序あるいは制御に関与していると推察されていることから、細胞レベルでの病態をさらに詳細に解明していく上で重要な知見であると考えられた。

2. 研究の目的

脳幹内に存在する pattern generator により形成される顎運動リズムは、三叉神経運動核ニューロンへの興奮性ならびに抑制性入力 of 強さとそのタイミングによって修飾を受けている。すなわち、出力となるバースト活動の持続時間とリズム周期は、基本的には運動核ニューロンへ投射しているニューロンのイオンチャネルの特性によって決定されると考えられる。Whole-cell patch-clamp recording法を用いて直接シナプスを形成しているニューロンの活動を記録することは、*in vivo* では追求が困難な感覚-運動調節系の詳細なメカニズムを明らかにする上で有用である。そこで本研究では、睡眠時ブラキシズムや薬剤性オーラルディスクイネジア発症に関わる三叉神経感覚系・運動系入力の生理学的役割を細胞レベルで詳細に追求する目的で電気生理学的、形態学的検討を行った。

3. 研究の方法

電気生理学的検討については生後 2-12 日齢の SD 系新生仔ラットより脳幹スライス標本を作製し、赤外線透視条件下で三叉神経中脳路核ニューロンあるいは運動核ニューロンを同定して whole-cell patch clamp recording technique を用いて whole-cell recording を行った。まず、吸啜から咀嚼運動期における三叉神経中脳路核ニューロン、

運動核ニューロンの基本的な電気生理学的膜興奮特性について、標準膜特性（膜容量、膜抵抗値、静止膜電位）を調べた後、

Current-clamp recording 条件下でスパイク発射特性について検討した。細胞内通電刺激強度を short pulse (3 ms), long pulse (1 sec) に分けて、誘発されるスパイク活動特性（活動電位最大振幅値、スパイク持続時間、AHP 特性）をそれぞれ解析した。

Glutamate (ACPA), 5-HT, Orexin などの神経伝達物質による薬剤刺激によりニューロンの興奮性が如何に影響を受けるか voltage-clamp, current-clamp 法をそれぞれ用いて種々の検討を行った。また生後 5, 10, 20, 40 日齢 マウス群をそれぞれ用いてハロセン吸入麻酔下で、灌流固定を行い、クライスタットにて三叉神経中脳路核を含むレベルの凍結横断連続切片を作製した。核神経伝達物質にそれぞれ特異的な一次抗体を用いて一連の免疫組織化学染色を行った。Diaminobenzidine (DAB) にて可視化し、ニュートラルレッドにて対比染色を行い光学顕微鏡下で日齢群ごとに中脳路核、運動核にみられる各サブタイプの陽性終末の染色状態について比較・解析した。

4. 研究成果

三叉神経中脳路核ニューロンにおいてスパイク形成に重要な役割を果たしている内向き整流性 K 電流 (I_h)、持続性 Na 電流 (I_{NaP}) の神経伝達物質による修飾作用について、Glutamate (ACPA)、5-HT により両電流成分の最大振幅値は抑制され、膜興奮性の抑制効果は生後発達的に増大することが明らかとなった。Current-clamp 条件下で観察される voltage-sag についても同様に抑制された。本抑制作用はゲート特性の変化によるものではなく、単一チャンネルにおける電流密度の

変化によるものであることが示唆された。また時定数値については slow, fast 成分ともに増大傾向を示した。さらに細胞内セカンドメッセンジャーのうち、PKA-cAMP が修飾作用に関与していることが明らかとなった。一方、運動核ニューロンでは 5-HT により I_h 活性、膜興奮性は増大し、中脳路核ニューロンに対する効果と相反することが明らかとなった。運動核ニューロンでは 5-HT₂ 受容体が主に関与していたのに対し、中脳路核ニューロンでは 5-HT₁ 受容体が修飾に関与していた。摂食中枢から分泌される神経ペプチドであるオレキシン (Ox) についても中脳路核ニューロンのスパイク発射頻度の低下を伴い興奮性が減弱したのに対して、運動核ニューロンではスパイク発射頻度の上昇を伴い興奮性が増大した。

免疫組織染色を用いた形態学的検索では、今回用いた神経伝達物質の両ニューロンにおける受容体の発現は生後発達的に増加し、ニューロンの神経修飾作用の増大と一致することが明らかとなった。以上より三叉神経系において運動-感覚系は相反した独立の神経修飾作用を受けており、ブラキシズムやディスキネジアにおいては受容体活性の変化などにより、運動-感覚系の協調された制御機構が破綻することが推察された。

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)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Okamoto R, Enomoto A, Koizumi H, Tanaka S, Ishihama K, Kogo M: Long-term potentiation of intrinsic excitability in trigeminal motoneurons. Brain Res, 1312, 2010, 32-40. (査読有)
2. Tanaka S, Yasuda K, Furusawa K:

Glutamatergic modulation of slow inward rectification in trigeminal primary sensory neurons. *Matsumoto Shigaku*, 34(1), 2008, 1-12. (査読有)
[学会発表] (計5件)

1. Tsuji T, Tanaka S, Inui T et al. Orexin-A changes the characteristics of masticatory muscle activities in feeding behavior. 40th Annual meeting of Neuroscience 2010. Nov. 13 (San Diego, CA, USA)
2. Kawasaki Y, Saito M, Toyoda H, Sato H, Tanaka S, et al. Membrane hyperpolarization depresses AMPA currents in the primary sensory neuron of the rat mesencephalic trigeminal nucleus. 40th Annual meeting of Neuroscience 2010. Nov. 13 (San Diego, CA, USA)
3. 榎本明史、小泉英彦、田中晋、岡本怜子、辻忠孝、古郷幹彦：NMDA 誘発性顎運動時の三叉神経中脳路核ニューロンの神経活動 第54回日本口腔外科学会総会 2009年10月9日～10日（北海道）
4. 岡本怜子、榎本明史、小泉英彦、田中晋、古郷幹彦：三叉神経運動ニューロンにおける神経可塑性についての研究 第54回日本口腔外科学会総会 2009年10月9日～10日（北海道）
5. 岡本怜子、榎本明史、小泉英彦、田中晋、石浜孝二、横田佑介、古郷幹彦：三叉神経運動ニューロンにおける神経活動の可塑性について 第62回日本口腔科学会総会 2008年4月17日～18日（福岡）

[図書] (計1件)

田中 晋、大倉正也、石浜孝二、榎本明史、古郷幹彦. 摂食機能発現に関わる「脳」と「器官」解明への戦略的アプローチ. 生命歯科医

学のカッティング・エッジ. 2008, 212-225(総287).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 晋 (TANAKA SUSUMU)
大阪大学・大学院歯学研究科・招聘教員
研究者番号：00367541

(2) 研究分担者

古澤 清文 (FURUSAWA KIYOFUMI)
松本歯科大学・大学院歯学独立研究科・教授
研究者番号：90165481

(3) 研究分担者

安田 浩一 (YASUDA KOUICHI)
松本歯科大学・大学院歯学独立研究科・准教授
研究者番号：30230220

(H20.4～H23.2まで研究分担者として参画)