

機関番号：14401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592372

研究課題名 (和文) 哺乳運動に関わる神経回路網の発達について

研究課題名 (英文) Development of neural circuit for generation of sucking movement

研究代表者

石濱 孝二 (ISHIHAMA KOHJI)

大阪大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号：30432454

研究成果の概要 (和文)：

ラットは胎生 21 日で産まれるが胎生 17 日頃から胎仔の顎運動が観察できる。この顎運動に関わる神経回路網は NMDA 受容体、non-NMDA 受容体が関与している。それらの拮抗薬を胎生期に投与され出生した新生仔ラットの、生後 3 週齢における捕食量はコントロール群 2.3g に対し NMDA 受容体拮抗薬投与群は 1.0g、non-NMDA 受容体拮抗薬投与群は 0.9g であり、対照群より少なかった。胎生期の三叉神経運動核におけるシナプス関連タンパクの発現では胎生 16 日目から認めた。この時期に顎運動、哺乳運動の神経回路が形成されると推察できた。

研究成果の概要 (英文)：

Rat fetal jaw movements were observed at from embryonic 17days. The neural circuit for the generation of rhythmical jaw movement participated in NMDA and non-NMDA receptors. The amount of diet intake was 1.0g, 0.9g, and 2.3g in rats injected NMDA antagonist, non-NMDA antagonist, and saline, respectively. The emergence of the synapse related protein in the trigeminal motor nucleus was observed at E16. We considered the neural circuit for the feeding behavior initially formed around this embryonic stage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：哺乳、神経回路網、発達、NMDA、シナプス

1. 研究開始当初の背景

新生児期の哺乳障害には口唇口蓋裂や小顎症など先天奇形、解剖学的障害に起因するものと、神経・筋疾患による機能障害に起因するものとに分類できる。前者に関しては適

切な時期に形成術を行い、形態の改善と機能の回復が得られ、摂食障害にいたる困難な患児は多くない。しかしながら後者の場合は嚥下障害を伴うことや、栄養管理が到達できていても機能障害が改善しないままのことが

多く、哺乳指導や摂食栄養指導を中心とした治療に難渋しているのが現状である。また、新生児期の神経学的な疾患に起因する哺乳障害について病因、病態の研究は少なく確立した治療法はない。これまで当研究代表者らは咀嚼や哺乳においてみられるリズムカルな顎運動発現に関わる中枢の制御機構をラットの三叉神経系を中心に電気生理学的な研究を行ってきた。哺乳や咀嚼運動は顎、舌、口唇が協調してリズムカルに運動するが、そのリズム発生器を含めた神経回路網は脳幹内に存在することを明らかにした。そして三叉神経系のみ遊離した脳幹ブロックでは胎生20日でようやくその神経回路網が新生仔ラットの三叉神経活動パターンに類似することがわかった。しかし、リズム発生は胎生18日でも出現していることが確認でき、三叉神経運動ニューロンに機能上の差が胎生18日から20日の間にあると推察された。三叉神経系のリズムカルな顎運動を発現する神経回路網の発生過程で、ここに何らかの障害を受けた場合、生後でみられる神経学的に起因する哺乳障害の1つの症型として認められるのではないと思われる。これまでの研究成果では正常な神経回路網の発生について分かってきたが、新生児期にみられる哺乳障害の病因の解明にはいたっていない。この神経回路網の正常な発生、発達に必要な因子はなにか、または逆に障害を与える因子はなになのか、詳細に解明する必要があると考えた。そこで今回の研究課題はこれまでに研究を行って明らかとなった三叉神経系のリズムカルな神経活動を発現するための神経回路網について、三叉神経運動ニューロンの発達に影響を与える因子を組織学的、行動学的に解析し、その病因と病態の解明を目標とした。

2. 研究の目的

シナプスは情報伝達の頻度に応じて増強され効率的な機能を果たすように変化し、逆に情報伝達の頻度が少なくなれば減弱されるように可塑性を持つ。増強される場合、シナプス後膜におけるレセプターを固定する目的でPSD95などのアンカープロテインの存在が1つの指標になると考えられる。実験動物においてある機能に関する神経回路網の形成過程を追跡する手段はないため、シナプス関連タンパクの発現について経時的に調査することで神経回路の発達について評価する。

哺乳運動を形成する神経回路網にはNMDAレセプターやNon-NMDAレセプターが関与している。出生までにその神経回路は形成されているが、その発達については不明なところが多い。これらのレセプターの拮抗薬を胎生期に曝露することで哺乳や摂食に変化が見られないか行動学的に評価することも重要である。

3. 研究の方法

母獣ラットにNMDAレセプターの拮抗薬、Non-NMDAレセプターの拮抗薬を投与し、胎生期における神経回路網形成への影響を調査した。生後の新生仔ラットの摂食行動について行動学的調査を行った。体重増加、3週齢時に24時間摂食制限ののち、単位時間当たりの捕食量を評価した。

AMPAレセプター、NMDAレセプターの各サブユニットの発現について経時的変化を観察するとともに、PSD95、GRIP、SAP97、SAP102などのシナプス関連タンパクの発現について免疫組織染色を行い比較検討した。評価方法はヘマトキシリンによる対比染色との比較で免疫組織染色陽性ニューロンをカウントし陽性率を求めた。

4. 研究成果

生後3週齢における24時間絶食後の30分間の捕食量はコントロール群 2.3g に対し NMDA 受容体拮抗薬である MK-801 投与群は 1.0g、non-NMDA 受容体拮抗薬 CNQX 投与群は 0.9g であり、対照群より少なかった。拮抗薬投与による中枢の組織学的変化について調査する目的で、胎生期の三叉神経運動核におけるシナプス関連タンパクの発現について、免疫染色とヘマトキシリン染色による対比染色で陽性率を算出し調査した。方法は深麻酔下でラット胎児を母獣ラットから摘出し灌流固定を行い、三叉神経運動核を含む厚さ 50 μ m の凍結連続切片標本を作成した。シナプス関連タンパクの1次抗体としてシナプス形成でみられる SAP102、SAP97、non-NMDA 受容体である AMPA 受容体のアンカープロテインの GRIP、NMDA 受容体のアンカープロテインである PSD95 を用いて ABC 法、AEC にて可視化したのち三叉神経運動ニューロンにおける陽性率を胎生期別 (E16、E18、E20) に求めた。GRIP、SAP97、SAP102 は E16 から三叉神経運動核に陽性ニューロンを認めた。E18 での免疫染色陽性率は、GRIP は 48%、SAP97 は 33%、SAP102 は 34% であった。PSD95 陽性ニューロンは胎生期中には認められなかった。拮抗薬投与群との比較は現段階で拮抗薬投与群における n 数が少なく評価できていないため今後の検討課題と考える。

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 17 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 2010; 1312: 32-40. 査読有

2) Yamanishi T, Takao K, Koizumi H, Ishihama K, Nohara K, Komaki M, Enomoto A, Yokota Y, Kogo M. Alpha2-adrenoceptors coordinate swallowing and respiration. J Dent Res 2010; 89: 258-63. 査読有

3) Umemura T, Yasuda K, Ishihama K, Yamada H, Okayama M, Hasumi-Nakayama Y, Furusawa K. A comparison of the postnatal development of muscle-spindle and periodontal-ligament neurons in the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat. Neurosci Lett 2010; 473: 155-7. 査読有

4) Yamaoka M, Ishizuka M, Ishihama K, Takahashi M, Takahashi M, Yamada H, Teramoto Y, Yasuda K, Shiba T, Uematsu T, Furusawa K. Bone formation without lamina dura in the middle-aged and elderly: possible dependence on enamel. Clin Interv Aging 2010; 5: 37-43. 査読有

5) Ishihama K, Sumioka S, Sakurada K, Kogo M. Floating aerial blood mists in the operating room. J Hazard Mater 2010; 181: 1179-81. 査読有

6) Shimoji S, Ishihama K, Yamada H, Okayama M, Yasuda K, Shibutani T, Ogasawara T, Miyazawa H, Furusawa K. Occupational safety among dental health care workers. Advances in Medical Education and Practice 2010; 1: 41-7. 査読有

7) Wada T, Ishihama K, Yonemitsu K, Sumioka S, Yamada C, Higuchi M, Kogo M. Blood contamination of environmental surfaces in outpatient oral surgery operator. Asian J Oral Maxillofac Surg 2010; 22: 12-6. 査読有

8) Yamada H, Ishihama K, Yasuda K, Hasumi-Nakayama Y, Okayama M, Yamada T, Furusawa K. Precontoured mandibular plate with three-dimensional model significantly shortened the mandibular reconstruction time. Asian J Oral Maxillofac Surg 2010; 22: 198-201. 査読有

9) Yamada T, Ishihama K, Yasuda K,

Hasumi-Nakayama Y, Ito K, Yamaoka M, Furusawa K. Inferior alveolar nerve canal and branches detected with cone beam dental CT in lower third molar region. J Oral Maxillofac Surg 2010; in press. 査読有

10) Yamaoka M, Takahashi M, Ishihama K, Uematsu T, Furusawa K. Age-related disruption of the lamina dura: evidence in the mandibular horizontal incompletely impacted third molar. Clin Interv Aging 2009; 4: 451-6. 査読有

11) Idoji Y, Ishihama K, Iida S, Yamanishi H, Kogo M. Mandibular fractures in severely developmental disabled persons. J Trauma 2009; 66: 704-10. 査読有

12) Ishihama K, Koizumi H, Wada T, Iida S, Tanaka S, Yamanishi T, Enomoto A, Kogo M. Evidence of floating aerosolized blood mist during oral surgery. J Hosp Infect 2009; 71: 359-64. 査読有

13) Koizumi H, Nomura K, Yokota Y, Enomoto A, Yamanishi T, Iida S, Ishihama K, Kogo M. Regulation of trigeminal respiratory motor activity in the brainstem. J Dent Res 2009; 88: 1048-53. 査読有

14) Yamanishi T, Koizumi H, Komaki M, Ishihama K, Adachi T, Enomoto A, Takao K, Iida S, Kogo M. Possible involvement of neurons in locus coeruleus in inhibitory effect on glossopharyngeal expiratory activity in a neonatal rat brainstem-spinal cord preparation in vitro. Neurosci Res 2008; 60: 2-9. 査読有

15) Ishihama K, Iida S, Koizumi H, Wada T, Adachi T, Isomura-Tanaka E, Yamanishi T, Enomoto A, Kogo M. High incidence of blood exposure due to imperceptible contaminated splatters during oral surgery. J Oral Maxillofac Surg 2008; 66: 704-10. 査読有

16) Ishihama K, Yasuda K, Nakayama Y, Ono Y, Umemura T, Miyashita M, Yamada H, Shibutani T, Furusawa K. Patient safety in a dental university hospital. Review of

adverse events and incident reports. Hosp Dent 2008; 20: 95-8. 査読有

17) Koizumi H, Ishihama K, Enomoto A, Kogo M. Angiomyolipoma of the tongue. Br J Oral Maxillofac Surg 2008; 46: 3-4. 査読有

〔学会発表〕(計 22 件)

1) 木田久美子、石濱孝二、山西整、磯村恵美子、大槻浩一、古郷幹彦：下唇粘液貯留嚢胞摘出術後の下唇知覚異常と組織学的検討 口腔顔面神経機能学会 2011.3.5 新潟大学

2) 山田高久、石濱孝二、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、山田秀史、宮下みどり、伊藤香那、古澤清文：下顎智歯抜去時における臼歯枝損傷の可能性 口腔顔面神経機能学会 2011.3.5 新潟大学

3) 岡山政樹、石濱孝二、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、山田秀史、下地茂弘、山田高久、伊藤香那、古澤清文：ラット三叉神経運動核におけるシナプス関連タンパクの発現について。日本口腔外科学会総会 2010年10月17日千葉幕張メッセ

4) 山西整、原田丈司、石濱孝二、森本泰成、宮成典、辻忠孝、大槻浩一、古郷幹彦：不確縫線核ニューロンによる呼吸恒常性の維持機構 日本口腔外科学会総会 2010.10.17 千葉幕張メッセ

5) 下地茂弘、石濱孝二、安田浩一、山田秀史、中山洋子、梅村哲弘、宮下みどり、岡山政樹、山田高久、古澤清文：下顎埋伏智歯抜去術における血液飛沫曝露について 日本口腔外科学会総会 2010.10.17 千葉幕張メッセ

6) 岡山政樹、石濱孝二、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、山田秀史、下地茂弘、山田高久、伊藤香那、古澤清文：胎生期におけるNMDA, non-NMDA 受容体拮抗薬投与と生後ラットの顎口腔機能の行動学的影響について。日本神経科学会 2010年9月2日神戸国際会議場

7) 山田高久、石濱孝二、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、山田秀史、宮下みどり、伊藤香那、山岡稔、古澤清文：下顎智歯抜去における下歯槽神経臼歯枝損傷の可能性について

て 日本口腔科学会総会 2010.6.24 札幌

8) 伊藤香那、中山洋子、小笠原慶一、梅村哲弘、安田浩一、古澤清文：上顎骨に対する外科手術後の感覚異常について 口腔顔面神経機能学会 2010.2.27 大阪歯科大学

9) 山田謙一、山西整、辻忠孝、沢井奈津子、田中晋、住岡聡、大槻浩一、磯村恵美子、古郷幹彦、大倉正也：頸部郭清術後における副神経に関わる上腕運動の機能評価 口腔顔面神経機能学会 2010.2.27 大阪歯科大学

10) 小橋寛薫、山西整、田中晋、谷口佳孝、田峰謙一、野原幹司、石濱孝二、小野雄大、小野高裕、古郷幹彦：舌感覚が嚥下時の舌口蓋接触圧パターンに及ぼす影響 口腔顔面神経機能学会 2010.2.27 大阪歯科大学

11) 山本奈穂、山西整、李篤史、田中晋、宮成典、應谷昌隆、奥野恵実、石濱孝二、古郷幹彦：当科において三叉神経痛と診断された症例の統計学的検討 口腔顔面神経機能学会 2010.2.27 大阪歯科大学

12) 岡山政樹、石濱孝二、山田秀史、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、山田高久、小笠原慶一、山岡稔、古澤清文：ラット三叉神経運動核におけるシナプス関連タンパクの発生的変化。日本口腔外科学会総会 2009年10月10日札幌コンベンションセンター

13) 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 日本口腔外科学会総会 2009年10月10日札幌コンベンションセンター

14) 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 日本口腔外科学会総会 2009年10月10日札幌コンベンションセンター

15) 辻忠孝、田中晋、古郷幹彦：脳内オレキシン活性レベルが摂食行動パターンへ与える影響 日本口腔外科学会総会 2009年10月10日札幌コンベンションセンター

16) 山田高久、石濱孝二、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、山田秀史、宮下みどり、伊藤香那、山岡稔、古澤清文：下顎埋伏智歯抜

歯における歯科用 CT を用いた術前評価の有用性 日本口腔外科学会総会 2009年10月10日札幌コンベンションセンター

17) 下地茂弘、石濱孝二、安田浩一、山田秀史、中山洋子、梅村哲弘、宮下みどり、岡山政樹、山岡稔、古澤清文：下顎埋伏智歯抜歯におけるエアロゾルの発生要因について 日本口腔外科学会総会 2009年10月10日札幌コンベンションセンター

18) 山田秀史、石濱孝二、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、下地茂弘、岡山政樹、山田高久、山岡稔、古澤清文：ラット三叉神経におけるシナプス関連タンパクの胎生期変化について。日本神経科学会 2009年9月17日名古屋国際会議場

19) 山田秀史、石濱孝二、安田浩一、中山洋子、梅村哲弘、宮下みどり、山岡稔、古澤清文：歯科治療時に発生するエアロゾルについて 日本口腔科学会総会 2009年4月17日アクトシティ浜松

20) 梅村哲弘、安田浩一、中山洋子、石濱孝二、古澤清文：三叉神経中脳路核ニューロンの生後発達とセロトニンによる神経修飾 日本口腔外科学会総会 2008年10月20日徳島 アクティとくしま

21) 住岡聡、石濱孝二、田中晋、和田剛信、樋口将隆、並川麻理、山田智明、飯田征二、小泉英彦、古郷幹彦：中央手術室の排気ダクトで捕集された血液について 日本口腔外科学会総会 2008年10月20日徳島 アクティとくしま

22) 樋口将隆、石濱孝二、田中晋、住岡聡、和田剛信、吉村奈津子、相川友直、大倉正也、古郷幹彦：口腔悪性腫瘍手術施行症例における術後感染について 日本口腔外科学会総会 2008年10月20日徳島 アクティとくしま

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石濱 孝二 (ISHIHAMA KOHJI)
大阪大学・歯学部附属病院・講師
研究者番号：30432454

(2) 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

(H20～H23.2 まで分担者として参画)

研究者番号：30230220

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

下地 茂弘 (SHIMOJI SHIGEHIRO)

松本歯科大学・歯学部・助手

研究者番号：10549380

岡山 政樹 (OKAYAMA MASAKI)

松本歯科大学・歯学部・助手

研究者番号：90549370

山田 高久 (YAMADA TAKAHISA)

松本歯科大学・歯学部・助手

研究者番号：30549382