

平成 22年 6 月 7 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791304

研究課題名 (和文) 眼窩および上下顎の骨格成長における涙腺神経切断の影響に関する研究

研究課題名 (英文) Research on skeletal growth of the maxilla and orbit following lacrimal nerve resection in neonatal rats.

研究代表者

藤田研也 (FUJITA KENYA)

信州大学・医学部・講師・附属病院

研究者番号：00447781

研究成果の概要 (和文)：これまでに開瞼で誘発される三叉神経固有感覚神経 (涙腺神経の枝) が、脳幹の中でどこにあり、どのような役割をしているかの解剖学的研究報告は皆無であった。本研究ではラットを用いて、涙腺神経を鋭敏な逆行性神経トレーサーであるフルオロゴールドで涙腺神経の断端を標識し、脳幹の観察をおこない、涙腺神経から固有感覚を司る三叉神経中脳路核への投射を確認した。

研究成果の概要 (英文) There is no report that reveals the role and anatomical distribution of the proprioception of the eyelid, and the origin of the first branch of the trigeminal nerve. In this study, we labeled the lacrimal nerve stump of rats by retrograde neuronal tracer, Fluoro-Gold. We could observed the labeled somata of trigeminal mesencephalic nucleus in the midbrain and pons.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,500,000	450,000	1,950,000
21年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 形成外科学

キーワード：涙腺神経、ラット、三叉神経中脳路核、青斑核

1. 研究開始当初の背景：

ヒトのミューラー筋を伸展すると、上眼瞼挙筋が不随意に収縮することを筋電計検査の所見から我々は報告した¹⁾。そこから、ミューラー筋が、開瞼を維持するための筋紡錘のような一種の固有知覚受容器の役割をしてい

るのではないかという仮説を立てた。また、我々は、ヒト上眼瞼での解剖学および組織学的検討から、ミューラー筋を収縮させる遠心性神経およびミューラー筋の緊張状態を中枢へ伝達する求心性神経とともに、涙腺神経から

三叉神経の経路内に存在することを確認した。

片側性先天性眼瞼下垂症患者では顔面骨に左右差を生じることがあり、また咬合についても左右差を生じることがある。これはミューラー筋からの求心性刺激の左右差によると考えているが未だ明らかになっていない。

そこで我々は出生直後の新生児ラット（生後1日：P1）の涙腺神経を剖出し、両側あるいは片側の涙腺神経の神経切除（約1.5 mm）を行い、その後の成育障害、生存率、顎骨、咬合の左右差、顔面骨の成長の左右差を観察する計画で実験を開始した。

しかし、新生児ラットの涙腺神経は無髄神経であり、非常に細く、剖出が手技的に不可能であったので、その実験系を断念した。ラットの涙腺神経を切断したところ眼瞼下垂を生じることが観察できた。この神経の投射を研究することで開瞼のメカニズムを明らかに出来ると考え、以下の研究を行った。

2. 研究の目的

三叉神経中脳路核は主に第二枝、第三枝からの投射を受けるとされているが、三叉神経第一枝から、特に涙腺神経から中脳路核への投射があると報告はわずかである。涙腺神経から三叉神経中脳路核への投射を明らかにする目的で本研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 涙腺神経の標識

ウィスター系ラット オス200-250 g 6匹を用いた。涙腺神経の3本の分枝のうち、

- ①内側の枝を切断(n=2)(図1)
- ②中央の枝を切断(n=2)
- ③外側の枝を切断(n=2)した。

神経切断端に鋭敏な逆行性トレーサーであるフルオロゴールド (FG) 8%を、内径0.1mmのポリエチレンチューブに満たし、チューブ内腔に神経断端を顕微鏡下に誘導して、浸漬した。FGの漏出を防ぐため、その上から瞬間接着剤でシールした。トレーサーの側頭筋への誤標識を防ぐため、同側の側頭

筋は切除した。

生存期間6日後にパラホルムアルデヒドで灌流固定を行い、凍結切片(40 μm)にて脳幹部の観察を行った。

(2) 青斑核の同定

内側の枝を切断し、FGで標識した検体を用いた。

tyrosine hydroxylase 染色 (TH 染色) を行い、青斑核との位置関係を観察した。1次抗体は Anti-Tyrosine Hydroxylase (rabbit)、2次抗体：Alexer Fluoro® 488 Donkey Anti-mouse IgG とした。青斑核の局在を明らかにし、FGで標識された中脳路核細胞との位置関係を観察した。

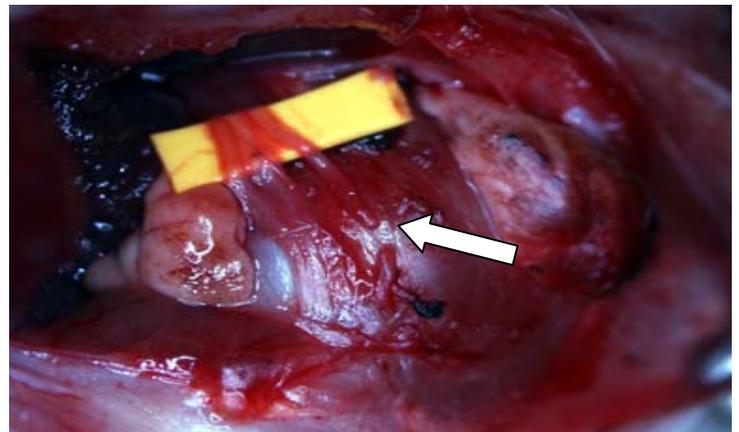


図1

4. 研究成果

実験結果 (1) 涙腺神経の標識

涙腺神経内側の枝を切断した個体の脳では中脳、橋において多数の標識された三叉神経中脳路核 (図2)、外転神経核を多数確認した。

三叉神経運動路核は標識されなかった。中央の枝を切断した脳では標識された細胞は脳幹部に認めなかった。

外側の枝を標識した個体では中脳に2個、3個の三叉神経中脳路核細胞を認め、橋では1個、3個の標識された三叉神経中脳路核細胞を認めた。



図 2

実験結果 (2) 青斑核の同定

青斑核を染色すると、FG で標識された三叉神経中脳路核が青斑核に隣接して、確認された(図 3)。

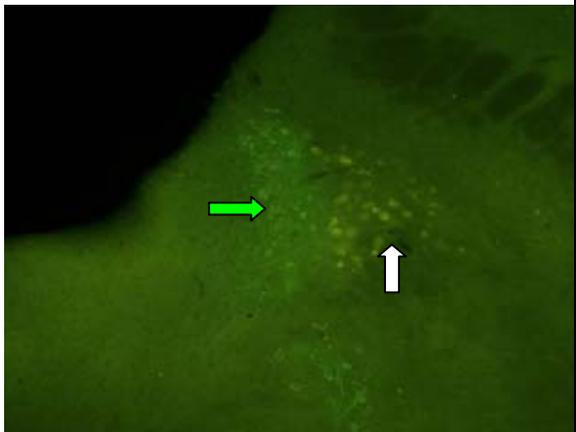


図 3 : 緑色矢印 : TH 染色された青斑核、白色矢印 : FG で標識された三叉神経中脳路核細胞

【考察】

涙腺神経から、とくに涙腺神経内側枝から多くの三叉神経中脳路核への投射が確認された。このことから涙腺神経内側枝に三叉神経固有感覚神経が存在していると考えられた。ヒト眼瞼、涙腺神経の解剖と比較すると、この涙腺神経内側枝がミュラー筋伸展により三叉神経固有感覚を伝達している可能性があると考えられた。内側枝、外側枝にトレーサーを入れた個体では外転神経核が標識されたが、これは涙腺神経が外直筋に近接しているためトレーサーの漏出を生じ、標識され

たものとする。これまで三叉神経第 2 枝 3 枝から中脳路核細胞への投射が報告されているが、今回の実験では側頭筋を除去したため三叉神経運動路核は標識されなかった。つまり、今回標識された中脳路核細胞は側頭筋への漏出による三叉神経中脳路核細胞への標識ではないと考えられた。

また涙腺神経から投射される三叉神経中脳路核は覚醒の中枢である青斑核の近傍に存在していた。両者が近接して存在することは gap junction を介して三叉神経中脳路核細胞から青斑核へ興奮が伝えられている可能性と矛盾しない。

眼瞼挙筋速筋の随意的開瞼により、ミュラー筋が伸展され、それにより生じた三叉神経固有感覚が動眼神経核に投射し、上眼瞼挙筋遅筋を収縮させて開瞼を維持している可能性があると考えられた。

同固有感覚により、ミュラー筋伸展刺激は覚醒の中枢である青斑核を刺激する可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Ban R, Matsuo K, Osada Y, Ban M, Yuzuriha S. Reflexive contraction of the levator palpebrae superioris muscle to involuntarily sustain the effective eyelid retraction through the transverse trigeminal proprioceptive nerve on the proximal Mueller's muscle: verification with evoked electromyography. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2008 Nov 13.
- 2) Yuzuriha S, Matsuo K, Hirasawa C, Moriizumi T. Refined distribution of myelinated trigeminal proprioceptive nerve fibres in Mueller's muscle as the mechanoreceptors to induce involuntary

reflexive contraction of the levator and frontalis muscles.

J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2009 (62)
480-487

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)

〔学会発表〕(計1件)

① 藤田研也 フルオロゴールドによる涙腺神経の逆行性探索、第18回 日本形成外科学会基礎学術集会、2009. 10. 1、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤田研也 (FUJITA KENYA)

信州大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00447781