

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500635

研究課題名(和文)咀嚼運動が脳機能に及ぼす効果の神経性機序

研究課題名(英文)Neural mechanisms of the effects of masticatory activity on cerebral functions

研究代表者

堀田 晴美(Hotta, Harumi)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究副部長

研究者番号：70199511

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：咀嚼運動が脳機能に及ぼす効果の神経性機序を、認知機能と脳血流調節に重要な前脳基底部コリン作動系に着目して調べた。麻酔したラットの咬筋の筋電図、大脳皮質の血流と神経活動、前脳基底部神経活動を同時記録した。咬筋活動と脳波低振幅化の出現に伴い、大脳皮質血流が増加した。血流反応に先行して前脳基底部神経活動が増加した。筋弛緩薬投与後にも、咬筋運動神経活動に伴い、大脳皮質血流が増加した。大脳皮質血流反応は、前脳基底部への神経活動抑制薬あるいはコリン作動性神経毒投与により半減した。以上より、咀嚼筋活動に伴い、前脳基底部コリン作動性血管拡張系が賦活されること、その賦活には、中枢指令が関与することが示された。

研究成果の概要(英文)：We aimed to examine neural mechanisms of the effects of masticatory activity on cerebral functions, focusing on cholinergic vasodilator system originating in basal forebrain that is essential for cognition. In anesthetized rats, masseter muscle activity, regional cerebral cortical blood flow (rCBF) and cortical local field potential (LFP) were measured. Increase in rCBF was associated with an activation of masseter muscle and simultaneous desynchronization of cortical LFP. The rCBF response was preceded by excitation of basal forebrain neurons projecting to the cortex, and reduced by inactivation or lesion of the cholinergic nucleus. Increase in rCBF in association with an activation of motor neurons of masseter muscle was observed even after immobilization induced by administration of muscle relaxant. The results suggest that basal forebrain neurons were activated in association with masseter muscle activity, central command is involved in that activation.

研究分野：自律神経生理学

キーワード：咀嚼運動 脳血流 大脳皮質 コリン作動系 セントラルコマンド

1. 研究開始当初の背景

咀嚼には、摂食・消化における役割ばかりでなく、注意力を高める、認知症を予防するなど、脳の高次機能維持にも有益な役割があることが示されている¹。リハビリテーションの現場においても、咀嚼機能の重要性が認識されつつある。陽電子断層撮影を用いたヒトを対象とした脳研究により、咀嚼運動に伴って脳局所血流が広範な領域で増加することが示されている²。しかし、このような、咀嚼運動が脳機能に及ぼす効果に関わる神経性メカニズムについては、不明のまま残されている。

大脳皮質や海馬には、アセチルコリンを使って情報を伝えるコリン作動性線維が広く分布する。このコリン作動性線維は、前脳基底部にあるマイネルト核と中隔核と呼ばれる神経核に由来する。この前脳基底部コリン作動系はアルツハイマー病で著しく変性しており、認知機能に必須であると考えられている。マイネルト核や中隔核を刺激すると、投射先である大脳皮質や海馬で著しい脳局所血流の増加が起こる³。

これまで研究代表者らは、理学療法に根本的に重要な身体への刺激が大脳皮質や海馬に与える影響とその機序を、動物を用いて調べてきた。例えば、麻酔動物の皮膚を擦ったり関節を動かしたりする刺激で、血圧変化とは無関係に大脳皮質局所血流が増えること⁴、皮膚を擦ることで生じる大脳皮質局所血流の増加がマイネルト核ニューロン活動の抑制により半減すること⁵を見出した。また、意識下の動物のトレッドミル歩行中に海馬においてアセチルコリン放出と脳局所血流が増え、その脳血流変化がアセチルコリン受容体遮断薬投与後に減弱することを示した⁶。以上の研究から、体性感覚刺激や歩行が、前脳基底部コリン作動系の活性化を介して大脳皮質や海馬に影響を与えることがわかってきた。一方、基本的な身体活動である咀嚼運動も、体性感覚刺激の一つと捉えられるが、コリン作動系との関係は調べられていない。以上の研究の流れから、咀嚼などの口の運動によって、前脳基底部コリン作動系が活性化されて大脳皮質や海馬のニューロンや血管に作用するために認知機能に良い影響が及ぶ可能性が考えられる。

2. 研究の目的

咀嚼運動が脳機能に及ぼす効果の神経性機序を、認知機能と脳血流調節に重要な、前脳基底部コリン作動系に着目して調べることが目的とする。

- (1) 咬筋活動に伴い、大脳皮質における脳波と脳血流、血圧、大脳皮質にコリン作動性線維を投射する前脳基底部マイネルト核のニューロン活動が変化する可能性を調べ、その時間経過を解析する。
- (2) マイネルト核ニューロン活動の抑制あるいは破壊が大脳皮質血流反応に及ぼす影

響を調べる。

- (3) 上記反応における中枢からのセントラル・コマンドの関与を調べる。

3. 研究の方法

(1) Wistar 系雄性ラットを用いた。ラットを pentobarbital で麻酔した。適度の深さの麻酔下では、頸や手足は動かず、口のみが自発的に動くことを利用し、咀嚼筋の自発活動が現れやすい麻酔深度で実験を行った。体温コントローラと人工呼吸器を用いて体温と呼吸を生理的状态に維持した。大腿動脈にカテーテルを挿入し、一般動脈圧を観血的に連続記録した。

(2) 主な咀嚼筋の一つである咬筋の筋電図を記録した。頭頂葉を部分的に開頭し、大脳皮質局所血流をレーザー・ドップラー法で経時的に測定した。マイネルト核ニューロンの活動と相関するといわれている脳波を、大脳皮質(前頭葉)局所電位として同時に記録した。

(3) 前脳基底部マイネルト核に電極を刺入して活動電位を記録した。大脳皮質に直接投射するニューロンの活動を、大脳皮質(前頭葉)への電気刺激で逆行性に同定した。咬筋活動前後の各パラメータの記録波形をコンピュータに取り込み、加算平均し、反応の潜時や時間経過を比較した。

(4) 脳血流反応におけるマイネルト核ニューロン活動の関与を調べるため、ニューロンの興奮を抑制する GABA 受容体作動薬 muscimol、あるいはコリン作動系選択的神経毒 192-IgG-saporin を一側マイネルト核に微量注入した。マイネルト核から大脳皮質への投射は一側性(同側性)であるため、健常側半球と抑制・破壊側半球とで大脳皮質における反応を比較した。muscimol の影響は急性実験で、投与前後に反応を調べた。神経毒投与では、コリン作動系の減少が確認されるといわれている 2 週間後に、実験を行った。

(5) セントラル・コマンドの関与を確かめるため、三叉神経運動核の咬筋運動ニューロン活動を記録し、筋弛緩薬を投与して筋活動の結果生じる求心性入力を遮断した前後に、咬筋運動ニューロン活動に伴う脳局所血流反応を比較した。

4. 研究成果

(1) 咬筋活動に伴う大脳皮質血流と前脳基底部マイネルト核ニューロン活動の増加

麻酔下のラットにおいて、咬筋活動と脳波低振幅化の出現に伴い、大脳皮質血流が増加した。大脳皮質血流は、咬筋活動出現前の安静時に比べて約 25% 増加した。血圧は、約 10% 程度上昇した。大脳皮質血流の増加に伴い、前脳基底部マイネルト核から大脳皮質に投射するマイネルト核ニューロンの活動頻

度が増加した。マイネルト核ニューロン活動応答の時間経過は、大脳皮質血流増加反応に約2.5秒先行した。この潜時は、マイネルト核を電気刺激した際の脳血流増加反応の潜時と一致した。

(2)マイネルト核ニューロン活動の抑制・破壊の影響

大脳皮質血流を左右両側で記録し、前脳基底部分部マイネルト核への神経活動抑制・コリン作動系破壊薬注入側半球と、健常側半球とで、大脳皮質における反応を比較した。薬物を投与しなかった側では、前述の無処置のラットと同様に、筋活動に伴って約25%の脳血流増加が見られた。しかし、薬物投与側では脳血流反応が約半分に減少し、血圧反応と同程度となった。

(3)非動化の影響

中枢からのセントラル・コマンドの関与を調べるため、筋弛緩薬投与により筋活動の影響を除外し、三叉神経運動核の咬筋運動ニューロン活動と大脳皮質血流との関係を調べた。筋弛緩薬投与後、筋活動は消失したが、咬筋運動ニューロン活動に伴い、大脳皮質血流増加が見られた。ただし脳血流増加の程度は、筋弛緩薬投与前よりも小さい傾向があった。

(4) 考察と意義・展望

以上の結果から、咀嚼筋活動に伴う大脳皮質血流増加の少なくとも半分は、前脳基底部分部コリン作動性血管拡張系の活動亢進に起因することが示唆された。さらにこの血流増加反応を引き起こす神経回路には、動こうとするセントラル・コマンドと、筋収縮によって生じる体性感覚刺激の両者が関与する可能性が示された。

これまで、咀嚼運動と高次脳機能との関係が示されてきたが、そのメカニズムの詳細は不明のまま残されていた。研究代表者らはこれまでに、前脳基底部分部コリン作動系の活性化が、神経細胞の生存と機能を支える神経成長因子の分泌を高め^{7,8}、虚血による神経細胞死を防ぐ事⁹を示してきた。従って、本研究によって咀嚼運動に伴い前脳基底部分部からのコリン作動系が活性化することが明らかとなったことにより、咀嚼運動と高次脳機能との関連のメカニズムが説明可能となった。

咀嚼などの口の運動は、手足の運動機能の低下した障害者や寝たきりの高齢者においても行われる運動である。長期臥床により、身体機能ばかりでなく認知機能も低下する。口の動きに伴ってコリン作動系が活性化されることを示した本研究の結果は、手足の運動機能の低下した障害者や寝たきりの高齢者においても、適切な咀嚼訓練によって、認知機能の低下を食い止めたり、低下した認知機能を改善させたりできる可能性を示す。実際に、患者の症状緩和を目的にして実践され

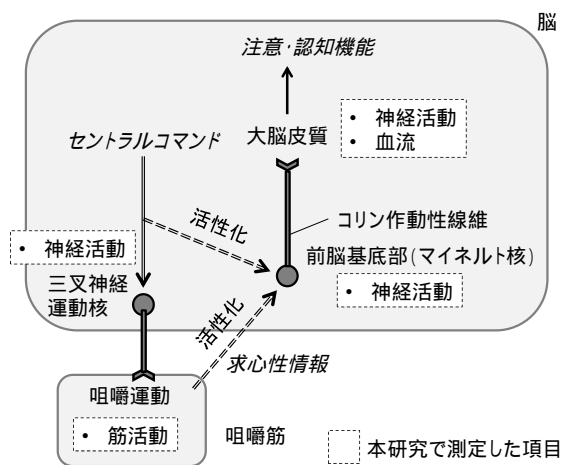


図1 . 本研究の結論を示す模式図

つつある咀嚼のリハビリはその一例である。咀嚼という最も基本的な身体活動が脳機能維持に作用するしくみが明らかになることで、「自分で食べる」ということが、私達の心身の健康や脳機能の維持・回復にいかにか大切であるかの理解が深まる。これをきっかけに、日常的な身体活動と高次脳機能との関わりについての生体の巧妙なメカニズムが、さらに解明されていくものと期待される。

<引用文献>

1. Ono Y, Yamamoto T, Kubo KY, Onozuka M. Occlusion and brain function: mastication as a prevention of cognitive dysfunction. *J Oral Rehabil.* 2010; 37: 624-640.
2. Momose T, Nishikawa J, Watanabe T, Sasaki Y, Senda M, Kubota K, Sato Y, Funakoshi M, Minakuchi S. Effect of mastication on regional cerebral blood flow in humans examined by positron-emission tomography with ¹⁵O-labelled water and magnetic resonance imaging. *Arch Oral Biol.* 1997; 42: 57-61.
3. Sato A, Sato Y. Cholinergic neural regulation of regional cerebral blood flow. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 1995; 9: 28-38.
4. Hotta H, Sato A, Schmidt RF, Suzuki A. Cerebral regional cortical blood flow response during joint stimulation in cats. *Neuroreport.* 2005; 16: 1693-1695.
5. Nakajima K, Uchida S, Suzuki A, Hotta H, Aikawa Y. The effect of walking on regional blood flow and acetylcholine in the hippocampus in conscious rats. *Auton Neurosci.* 2003; 103: 83-92.
6. Piché M, Uchida S, Hara S, Aikawa Y, Hotta H. Modulation of somatosensory-evoked cortical blood flow changes by GABAergic inhibition of the

- nucleus basalis of Meynert in urethane-anaesthetized rats. *J Physiol*. 2010; 588: 2163-2171.
7. Hotta H, Kagitani F, Kondo M, Uchida S. Basal forebrain stimulation induces NGF secretion in ipsilateral parietal cortex via nicotinic receptor activation in adult, but not aged rats. *Neurosci Res*. 2009; 63: 122-128.
 8. Hotta H, Uchida S, Kagitani F. Stimulation of the nucleus basalis of Meynert produces an increase in the extracellular release of nerve growth factor in the rat cerebral cortex. *J Physiol Sci*. 2007; 57: 383-387.
 9. Hotta H, Uchida S, Kagitani F. Effects of stimulating the nucleus basalis of Meynert on blood flow and delayed neuronal death following transient ischemia in the rat cerebral cortex. *Jpn J Physiol*. 2002; 52: 383-393.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 15 件)

Watanabe N, Piché M, Hotta H. Types of skin afferent fibers and spinal opioid receptors that contribute to touch-induced inhibition of heart rate changes evoked by noxious cutaneous heat stimulation, *Mol Pain*, 査読有, 11巻, 2015, 4

DOI: 10.1186/s12990-015-0001-x

堀田晴美, 渡辺信博, タッチによるストレス反応の抑制, *アンチエイジング医学*, 11 巻, 2015, 34-41

Hotta H, Watanabe N, Piché M, et al., Non-noxious skin stimulation activates the nucleus basalis of Meynert and promotes NGF secretion in the parietal cortex via nicotinic ACh receptors, *J Physiol Sci*, 査読有, 64巻, 2014, 253-260

DOI:10.1007/s12576-014-0313-z

Piché M, Watanabe N, Sakata M, Oda K, Toyohara J, Ishii K, Ishiwata K, Hotta H. Basal μ -opioid receptor availability in the amygdala predicts the inhibition of pain-related brain activity during heterotopic noxious counter-stimulation, *Neurosci Res*, 査読有, 81-82巻, 2014, 78-84

DOI: 10.1016/j.neures.2014.02.006

Piché M, Watanabe N, Hotta H. Regulation of gastric motility and blood flow during acute nociceptive stimulation of the paraspinal muscles in urethane-anaesthetised rats, *J Physiol Sci*, 査読有, 64巻, 2014, 37-46

DOI: 10.1007/s12576-013-0288-1

堀田晴美. 皮膚にふれると起こる無意識の反応, *心身健康科学*, 10 巻, 2014, 1-4

堀田晴美. ニコチン性アセチルコリン受容体の刺激が脳機能に及ぼす影響. *アンチエイジング医学*, 10 巻, 2014, 76-80

堀田晴美, 鈴木はる江, 脳血管の神経性調

節. *Clinical Neuroscience*, 32巻, 2014, 1345-1348

堀田晴美. マイクロコーンによる疼痛緩和の神経性機序, *全人的医療*, 13 巻, 2014, 39-45

Watanabe N, Ishii K, Hotta H, et al., Differential human brain activity induced by two perceptually indistinguishable gentle cutaneous stimuli, *NeuroReport*, 査読有, 24 巻, 2013, 425-430

DOI: 10.1097/WNR.0b013e32836164d4

Hotta H, Masamoto K, Uchida S, et al., Layer-specific dilation of penetrating arteries induced by stimulation of the nucleus basalis of Meynert in the mouse frontal cortex, *J Cereb Blood Flow Metab*, 査読有, 33巻, 2013, 1440-1447

DOI:10.1038/jcbfm.2013.92

堀田晴美. 二光子顕微鏡を用いた脳循環イメージング, *基礎老化研究*, 査読有, 37 巻, 2013, 17-21

堀田晴美, 内田さえ, 正本和人, 菅野巖. 前脳基底部の刺激で誘発される大脳皮質の層特異的な血管拡張, 脳循環代謝, 査読有, 24 巻 (suppl), 2013, 95-101

堀田晴美. 自律神経系は感覚より鋭敏に、わずかな皮膚刺激の違いを区別する, *自律神経*, 査読有, 50 巻, 2013, 263-265

Watanabe N, Miyazaki S, Mukaino Y, Hotta H. Effect of gentle cutaneous stimulation on heat-induced autonomic response and subjective pain intensity in healthy humans, *J Physiol Sci*, 査読有, 62巻, 2012, 343-350

DOI: 10.1007/s12576-012-0210-2

〔学会発表〕(計 14 件)

堀田晴美. “散歩と脳血流との関係についての基礎研究” 日本基礎老化学会第 38 回大会, 2015 年 6 月 13 日, 横浜

堀田晴美. “脳血管の neurogenic control—前脳基底部からの皮質投射線維と血流調節” 第 24 回 脳血管シンポジウム, 2014 年 9 月 13 日, 大阪

堀田晴美, 渡辺信博, ピシエマシュー, 原早苗, 内田さえ, 余川隆. “非侵害性皮膚刺激によるマイネルト基底核の賦活と大脳皮質におけるコリン作動性の NGF 分泌促進” 第 91 回日本生理学会大会, 2014 年 3 月 16-18 日, 鹿児島

Hotta H, Masamoto K., Uchida S., et al., “Arterial dilation in the parenchyma of the cerebral cortex in response to stimulation of the nucleus basalis of Meynert measured by two-photon microscopy.” The 8th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience (ISAN), July 29-August 2, 2013, Giessen, Germany

Hotta H, Masamoto K., Uchida S., et al., “Layer-specific dilation of cortical arteries during stimulation of the nucleus basalis of

Meynert in mice.” The 37th International Congress of Physiological Sciences, July 21-26, 2013, Birmingham, UK
堀田晴美, 正本和人, 内田さえ他, “マイネルト核刺激による大脳皮質層特異的な動脈拡張反応” 日本基礎老化学会第 36 回大会, 2013 年 6 月 4-6 日, 大阪
堀田晴美, “軽微な機械的皮膚刺激による膀胱の排尿収縮抑制の神経性メカニズム” 第 90 回日本生理学会大会, 2013 年 3 月 27-29 日, 東京
堀田晴美, 内田さえ, 正本和人, 関口優太, 伊藤浩, 菅野徹, “前脳基底部刺激によるマウス大脳皮質実質内における細動脈の拡張” 第 24 回日本脳循環代謝学会総会, 2012 年 11 月 8-9 日, 広島
堀田晴美, “自律神経系は感覚より鋭敏に, わずかな皮膚刺激の違いを区別する” 第 65 回日本自律神経学会総会, 2012 年 10 月 25-26 日, 東京
原早苗, 渡辺信博, 内田さえ, 堀田晴美, “麻酔ラットへの体性感覚刺激が大脳皮質における神経成長因子分泌に及ぼす影響” 第 65 回日本自律神経学会総会, 2012 年 10 月 25-26 日, 東京
Hotta H., Watanabe N., Miyazaki S., Mukaino Y., “Gentle cutaneous stimulation inhibits noxious heat-induced autonomic responses in conscious humans independently of perception and texture discrimination” Neuroscience 2012 (Society for Neuroscience), October 13-17, 2012, New Orleans, USA
Watanabe N., Miyazaki S., Mukaino Y., Hotta H., “Touch inhibits noxious heat-induced autonomic responses in conscious humans independent of perception and recognition” 14th World Congress of Pain, Milan, August 27-31, 2012, Milan, Italy
渡辺信博, 原早苗, 内田さえ, 堀田晴美, “大脳皮質の神経成長因子分泌に対する体性感覚刺激の効果” 第 35 回日本基礎老化学会大会, 2012 年 7 月 26-27 日, 千葉
Hotta H., “Modulation of bladder functions by gentle cutaneous stimulation” 2012 Spring Conference of the Korean Society for Gerontology and the 11th Korea-Japan Gerontologist Joint Meeting, June 14-15, 2012, Korea

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀田 晴美 (Harumi Hotta)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)

・東京都健康長寿医療センター研究所・研究副部長

研究者番号 : 70199511