

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670789

研究課題名(和文)レム睡眠時咀嚼様顎運動発生機構の探索

研究課題名(英文)Generation of REM twitches in jaw muscles during REM sleep

研究代表者

加藤 隆史(Takafumi, Kato)

大阪大学・歯学研究科(研究院)・講師

研究者番号：50367520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトや実験動物のレム睡眠中にリズムをもつ顎の運動が生じる機構はわかっていない。本研究では、大脳皮質と咀嚼リズム発生に関わる脳領域への連絡を調べ、その連絡路である皮質下行路をレム睡眠中の実験動物で連続電気刺激すると、覚醒やノンレム睡眠と比較して強い強度の刺激であれば開口筋群にリズム性活動を誘発できることがわかった。したがって、レム睡眠中に咀嚼リズム発生機構を駆動させることができ、大脳皮質からの興奮性入力がある一定以上の強度になり、運動ニューロンに対する抑制を凌駕する状態になれば、リズム性顎筋活動を発生しうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Neural mechanisms for the genesis of rhythmic jaw movements (RJMs) during REM sleep remain unknown. We found the distinct patterns of descending projections from sensori-motor cortex to subcortical structures in diencephalon, midbrain, pons and medulla, including masticatory motor system. Then we succeeded to induce RJMs during REM sleep using electrical microstimulation to cortical the descending fibers. However, the motor threshold for the genesis of the RJMs was significantly higher during REM sleep than NREM sleep and wakefulness. Therefore, the data suggest that facilitatory inputs through cortical descending tracts can activate masticatory rhythm generator during REM sleep when these inputs are strong enough to overcome motor inhibition.

研究分野：口腔解剖学

キーワード：REM睡眠 リズム発生機構 咀嚼筋 大脳皮質 睡眠関連運動異常症

1. 研究開始当初の背景

睡眠中にリズム性顎運動(RJMs)が頻発する睡眠時ブラキシズム、睡眠時てんかん、レム睡眠行動異常症などでは、歯の咬耗や破折、補綴・インプラント治療の失敗、顎関節症や頭痛、口腔内外傷の原因と考えられ、歯科臨床では非常に問題とされる。にもかかわらず、これらRJMsの病態生理機構に関する基礎研究は極めて少なく、睡眠中にRJMsが発生する機構は未だ不明である。

動物モデルを用いた研究から、自然睡眠中の咀嚼筋活動量の変動は頸筋と咀嚼筋で異なること、咬筋では顎二腹筋より高い活動を示し、両筋の活動の量的・時間的変動が一致しないこと、咀嚼筋活動は覚醒強度が高いほど増強すること、睡眠中の咬筋活動の発生様式は不規則だが、反復性の咬筋バーストが散見され、その中にはリズムを示すことがあること、などの睡眠中の咀嚼筋活動の特性を明らかにしてきた。また、NREM睡眠とREM睡眠では、開閉口筋の活動発現様相や活動パターンが異なっており、実験動物(モルモット)のレム睡眠で観察された開閉口筋の活動パターンは、咀嚼と似た様相を呈することを示した。

開閉口筋の筋電図活動のパターンやタイミングは、各々の筋を支配する運動ニューロンに対する入力系の時間的協調性を示していることから、レム睡眠では、覚醒時の咀嚼と同様の神経ネットワークが賦活されるので、咀嚼様の顎運動が発生すると考えられる。しかし、レム睡眠中に、脳幹網様体に存在し、咀嚼筋にリズム性活動を惹起させる神経回路網が駆動するかどうかはわかっていない。

2. 研究の目的

動物のレム睡眠中に、大脳皮質下行路を連続電気刺激して、RJMsを誘発することを試み、さらにその応答特性を解析することによって、レム睡眠中の咀嚼リズム発生機構の応答性を調べる。

3. 研究の方法

[実験1]

麻酔下にてHartley系モルモットに手術を施し、以下の電極を体内に設置し、電極コネクタを頭蓋骨に固定した。記録項目は、睡眠覚醒状態(脳電図・眼電図・頸筋筋電図)、自律神経活動(心電図)、顎運動機能(咬筋・顎二腹筋筋電図)とした。同時に、脳定位固定装置に動物の頭部を着脱可能とするため、金属管・ネジを用いたアタッチメントを固定した。

外科手術後の回復期間(約2週間)に、

動物を実験環境(防音箱)で睡眠できるようにトレーニングして、安定した動物の睡眠を確保できるようにした。その際、頭部に記録ケーブルを接続し、電極の状態を確認するため睡眠覚醒のモニターを行った。

トレーニングを終えた動物を再度麻酔下で固定装置に固定し、ガラス被覆金属電極を中脳腹側部を走行する皮質下行路を探索した。その際、刺激電極を徐々に刺入しながら、電気刺激(30Hz, 持続時間:1ms, 強度:50-250uA, 約2秒)を与えて、RJMsを誘発し、刺激効果が高い部位に刺激電極を留置し、頭蓋骨に固定した。

電極刺入実験から回復後、防音箱内で実験動物を自由行動させてデータを記録した。動物が、覚醒 ノンレム睡眠 レム睡眠 覚醒という周期を繰り返す間に、電気刺激を与える方法と、実験者が動物の睡眠状態を確認して、覚醒, ノンレム睡眠, レム睡眠時に手で刺激を与える方法を併用した。刺激条件は、長時間連続電気刺激(30Hz, 持続時間:1ms, 2秒)と短時間連続刺激(500Hz, 持続時間:1ms, 3発)とした。刺激強度は、記録前覚醒中のRJMs反応閾値を1Tとし、2段階の刺激強度(1.2T, 2.0T)とした。同一動物で、刺激実験は一日あたり約2~3時間程度とし、複数日にわたって行った。実験終了後、麻酔下にて刺激部位を電気凝固し、灌流固定後組織切片を作成した。刺激に対する咀嚼筋の応答の有無をスコアし、刺激に対する応答性を計算した。また、刺激に対する筋電図活動の振幅を算出した。また、連続電気刺激に対する応答については、刺激からリズム性顎運動発生までの潜時と筋電図活動の間隔も算出した。また、組織切片は顕微鏡下で観察して刺激部位が皮質下行路にあることを確認した。

[実験2]

Hartley系モルモットに全身麻酔下にて手術を施し、咀嚼筋筋電図(咬筋・顎二腹筋)の記録用ワイヤー電極を設置し、動物を脳定位固定装置に装着できるようにした。1~2週間後、動物を脳定位固定装置に固定し、ガラス被覆金属電極を用い、大脳皮質咀嚼野内の複数部位に電気刺激を与え咀嚼筋活動を記録した。その後、刺激部位に順行性トレーサー(BDA)を注入した。注入後14日生存させた後、凍結脳切片を作成し神経軸索やその神経終末を可視化し、顕微鏡下で観察し、神経軸索の走行とその分布や投射部位を調べた。

4. 研究成果

自由行動下の覚醒・ノンレム睡眠中に皮質下行路へ強度1.2Tの短時間連続電気刺激を与えると、顎二腹筋に短潜時応答を誘発できた。しかし、レム睡眠では、短潜時応答を愈

発できるもののその発生頻度や振幅は大幅に低かった。しかし、刺激強度を 2.0T に上昇させると、発生頻度・振幅ともに増大した。

強度 1.2T の長時間連続電気刺激を与えると、覚醒・ノンレム睡眠において、リズムカルな顎二腹筋活動に遅れて咬筋が活動する RJMs を誘発することができた。レム睡眠においても、RJMs を誘発できたが、刺激中に顎二腹筋活動を示すパターンであった。レム睡眠での RJMs の誘発率は、覚醒・ノンレム睡眠に比べて、大幅に低かった。しかし、刺激強度を 2.0T にすると、レム睡眠での誘発率は大幅に上昇したが、覚醒・ノンレム睡眠よりも低いまだだった。さらに、レム睡眠における、刺激から RJMs 誘発までの潜時は、覚醒と同等だったが、ノンレム睡眠では最も長かった。また、発生したリズムカルな顎二腹筋のバースト間隔は、刺激強度の強弱に関わらず、覚醒・ノンレム睡眠と同等だった。

刺激を与えた皮質下行路は、RJMs を誘発できる大脳皮質咀嚼野の 3 部位からの下行線維が走行する部位に相当していた。これらの 3 部位を長時間連続電気刺激して得られた RJMs の特性は異なっていた。それぞれの皮質部位から視床、中脳、橋、延髄への直接投射の分布は異なっていた。特に、橋・延髄において、大脳皮質一次運動野に相当する咀嚼野からは主に三叉神経運動核内側や小細胞網様体へ投射を認め、一次感覚野に相当する部位からは、三叉神経運動核外側の三叉神経感覚核や小細胞網様体への投射を認めた。

以上の結果から、レム睡眠に皮質下行路を電気刺激して興奮性入力を与えると、短潜時応答や RJMs を誘発できることがわかった。しかし、レム睡眠では運動ニューロンの興奮性が強く抑制されているため、高い刺激強度が必要となることがわかった。また、咀嚼リズムを発生させる神経網の興奮性は、レム睡眠でもある程度維持されていることが示唆された。また、レム睡眠で誘発できる顎運動リズムが覚醒・ノンレム睡眠と同等だったため、皮質下行路への連続電気刺激によって駆動する神経網は、覚醒・ノンレム睡眠・レム睡眠で変わらない可能性が示唆された。

本研究では、皮質下行路への長時間電気刺激によって RJMs を発生させることができたため、その出力部位である大脳皮質咀嚼野からの興奮性入力レム睡眠中に RJMs の発現に関わる可能性が示唆された。

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 1 件)

1. Kato T, Seki S, Higashiyama M, Masuda Y, Kitamura S, Yoshida A. Anatomical

organization of descending cortical projections orchestrating the patterns of cortically-induced rhythmical jaw muscle activity in guinea pigs. Neuroscience Research, accepted.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 東山亮, 加藤隆史, Haque Tahsinul, 佐藤文彦, 矢野博之, 吉田篤: レム睡眠における錐体路連続電気刺激に対する開口筋の応答特性 第 90 回 日本解剖学会近畿支部学術集会、2014 年 11 月 29 日、大阪
2. 東山亮, 加藤隆史, 佐藤文彦, 矢谷博文, 吉田篤: レム睡眠中の錐体路刺激に対する開口筋の応答特性 第 56 回 歯科基礎医学会学術大会、2014 年 9 月 27 日、福岡
3. Fujio T, Sato F, Tomita A, Moritani M, Yoshida A: Central processing of masticatory muscle sensation、Neuroscience 2014, November 15-19, 2014, Washington DC, USA
4. 藤尾隆史, 佐藤文彦, 富田章子, Tahsinul Haque, 池之上悦子, 大原春香, 堤香奈子, 加藤隆史, 前田芳信, 吉田篤: 咬筋筋紡錘の感覚の脳内伝達様態の解明 第 8 回 三叉神経領域の感覚 - 運動統合機構研究会、2014 年 10 月 19 日、軽井沢

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

加藤隆史 (Takafumi Kato)

大阪大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号： 50367520

(2)研究分担者

吉田篤 (Atsushi Yoshida)

大阪大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：90201855

(3)連携研究者

()

研究者番号：