

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592699

研究課題名(和文)顎運動異常に関わる高次脳の抑制機構を *in vivo* 単一運動ニューロンで解明する

研究課題名(英文) Study of cerebral cortical mechanisms possibly responsible for jaw-movement disorders

研究代表者

吉田 篤 (Yoshida, Atsushi)

大阪大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：90201855

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：大脳皮質の中の無顆粒皮質外側部ばかりでなく、一次体性感覚野や前頭前皮質外側部(島皮質)の電気刺激でも、刺激部位特異性を持った顎運動が誘発されたが、無顆粒皮質内側部の電気刺激では誘発されなかった。神経トレーサー実験によって、これらの皮質部位から、興奮性または抑制性の三叉神経運動前ニューロン(運動前ニューロンは孤束核にも認められた。)が存在する三叉神経感覚核や運動核周囲の網様体への直接投射が認められた。これらの大脳皮質から三叉神経運動ニューロンへの間接投射によって、各大脳皮質が部位特異性を持った顎運動の発現に関わっており、この複数の間接投射が上手く働かないことで顎運動異常が生ずると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Electrical stimulation of the primary somatosensory cortex and the lateral part of the prefrontal cortex (insular cortex) as well as the lateral part of the agranular cortex induced jaw-movements which are specific for the cortical location stimulated. However, stimulation of the medial part of the agranular cortex did not induce any jaw-movements. These cortical areas sent direct projections to the trigeminal sensory nuclear complex and the reticular formation around the trigeminal motor nucleus both of which include excitatory and/or inhibitory premotoneurons. Note that such premotoneurons were also found in the solitary tract nucleus. These results may indicate that several indirect projections from the cerebral cortical areas to the trigeminal motor nucleus via its premotoneurons are involved in the induction of the characteristic jaw-movements, and the jaw-movement disorders are attributed to the disorders of the indirect projection systems from the cerebral cortical areas.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯学

キーワード：顎運動 三叉神経運動核 運動ニューロン 大脳皮質

1. 研究開始当初の背景

抗パーキンソン病薬などの服用で起きる薬物性オーラルジスキネジアは、大脳基底核での脱抑制（抑制性ニューロンが抑制され、その系が異常に興奮すること）が疑われている（Fujita et al., Eur J Pharmacol 2010）。同様に、オーラルジスキネジアやブラキシズムなどの顎口腔の運動異常も、三叉神経運動ニューロンに対する脳内抑制機構の破綻が関与しているものが存在する可能性が高い。しかし、顎運動を司る三叉神経運動ニューロンを直接抑制するニューロンを更に抑制（または賦活）させる脳内神経機構の多くは不明のままである。これを解明することは、オーラルジスキネジアやブラキシズムなどの顎口腔の運動異常の病因の解明とその治療に有益な情報を提供することになると期待された。

2. 研究の目的

そこで本研究では、単一の三叉神経運動ニューロンまたは三叉神経運動ニューロン群を抑制し得る、三叉神経感覚核ニューロンを含む下位脳幹内のニューロンが、顎運動命令に関与する大脳皮質のどの部位と関与し、また大脳皮質が発現させるどのような顎運動に関与しているのか、さらにその皮質部位から発するどのような下行性投射がその顎運動発現と顎運動の抑制に関与しているのかを、in vivo で形態学的、生理学的手法を用いて解明することをめざす。また、研究成果を、顎口腔の運動異常の病因の解明とその治療に有益な情報を提供することをめざす。

3. 研究の方法

動物はラットおよびモルモット用い、ペントバルビタールまたはケタミンによる麻酔下で行う。実験方法は、大阪大学歯学研究科動物実験指針に準拠する。

実験 1：電気刺激で顎運動を誘発する大脳皮質部位の同定と誘発される運動様態を記録する。具体的には、大脳皮質部位に金属電

極を刺入し、連続または単発で電気刺激（皮質内微小刺激法）して誘発される顎運動の様態を磁気を利用した運動記録装置で記録する。また、左右の咀嚼筋（咬筋と顎二腹筋前腹）から筋電図を記録する。

実験 2：実験 1 で認められた顎運動に関わる大脳皮質部位から、三叉神経運動前ニューロン（抑制性ニューロンを含む）が存在する下位脳幹への下行投射の様態を示す。具体的には、順行性神経回路トレーサーである biotinylated dextranamine (BDA) を封入したガラス管微小電極を、実験 1 で同定された大脳皮質に刺入後、BDA を微量注入し、皮質ニューロンの細胞体内に取り込ませる。注入の 7 日後に、動物を深麻酔下で還流固定する。切片を作成後、BDA を可視化し、投射している神経の終末を標識する。

実験 3：顎運動に関わる三叉神経運動前ニューロン（抑制性ニューロンを含む）の存在部位の再検討をする。具体的には、逆行性神経回路トレーサーである Fluorogold (FG) を封入したガラス管微小電極を開口筋運動核と閉口筋運動核に別々に刺入し、FG を微量注入する。注入の 7 日後に、動物を深麻酔下で還流固定する。切片を作成後、FG 抗体を用いて FG を可視化し、投射ニューロンの細胞体を標識する。

実験 4：抑制性神経伝達物質を含む神経の運動前ニューロンへの入力の様態を明らかにする。具体的には、動物を深麻酔下で還流固定後、運動前ニューロンが存在する三叉神経中脳路核を含む脳幹部を摘出する。電子顕微鏡観察用の超薄連続切片を作成後、抑制性の伝達物質である GABA とグリシンに対する抗体を用いて切片を反応し、運動前ニューロンである三叉神経中脳路核ニューロンとシナプスを成している GABA 標識終末とグリシン標識終末の微細構造を電子顕微鏡にて観察する。

4. 研究成果

実験1では、大脳皮質の電気刺激によって顎運動を誘発する皮質部位が同定され、また、誘発される顎運動の様態が明らかになった。具体的には、(1)無顆粒性島皮質内側部(Agm)の刺激では、咀嚼筋の筋活動と顎位変化のいずれも誘発されず、Agmは顎運動の少なくとも駆動への関与は低いことが示された。(2)無顆粒性島皮質外側部(Agl)の吻外側部の高頻度短刺激では、反対側の顎二腹筋前腹から筋活動が認められた。低頻度長刺激では、刺激点の38%で開口が起こり、その18%では顎のリズミカルな運動も認められた。(3)一次体性感覚野(S1)の吻外側部の高頻度短刺激では、Aglの刺激時と同様に反対側の顎二腹筋前腹の筋活動が認められた。低頻度長刺激では、Agl刺激時と同様に開口が誘発され、AglばかりでなくS1も顎運動の駆動と制御に関与することが示された。S1の刺激点の57%でAgl刺激時に類似したリズミカルな顎運動がみられ、リズムを持った顎運動の発現とその制御には、AglよりもS1がより強く関与することが示された。(4)モルモットでは、大脳皮質運動野の刺激では単純開閉口運動が誘発されたのに対し、S1の刺激では自然咀嚼様の顎運動が誘発された。(5)前頭前皮質の外側部(島皮質に相当)電気刺激で、確かに顎運動が誘発された。しかし、誘発部位の正確な同定は現在行っている所で最終結果は得られていない。また、その刺激によって誘発される顎運動の詳細な様態も、継続して検討中である。

実験2では、顎運動に関わる大脳皮質部位からの下行投射(抑制性回路を含む)の様態が明らかになった。具体的には(1)大脳皮質二次体性感覚野(S2)から、抑制性の運動前ニューロンが存在する三叉神経運動核周囲の網様体、小細胞性外側網様体、三叉神経感覚核の吻側部(三叉神経吻側垂核と主感覚核)への投射が認められた。(2)そのS2からの投射は、大脳皮質一次体性感覚野(S1)

からの投射と比較し、多くの共通点と相違点がある事が認められた。三叉神経運動ニューロンを抑制する運動前ニューロンが存在する三叉神経感覚核の吻側部(三叉神経吻側垂核と主感覚核)へは、S1からと同様に、体部位局在性を持った強い投射が認められた。しかし、抑制性の運動前ニューロンが少ない三叉神経中間垂核には、S1からの投射に比べ、極めて弱い投射が存在するのみであった。さらに(3)前頭前皮質の外側部(島皮質に相当)からの投射が、口腔顔面痛が顎運動に及ぼす影響を抑制する事が示された。(4)島皮質からの投射が、S1とS2からの投射と比較し、多くの共通点と相違点がある事が明らかになった。S1とS2からの投射と同様に、三叉神経運動ニューロンを抑制する運動前ニューロンが存在する三叉神経感覚核の吻側部(三叉神経吻側垂核と主感覚核)への投射は認められたが、それらは弱い投射であった。(5)前頭前皮質の内側部からの投射を調べた所、背側脚皮質からのみ、三叉神経尾側垂核への投射が認められたが、三叉神経吻側垂核と主感覚核への投射は認められなかった。この投射様態は、実験1でAgmの刺激で顎運動が誘発できなかったことに関連すると考えられる。

実験3では、顎運動に関わる抑制性の運動前ニューロンの新たな存在部位が明らかになった。具体的には、島皮質が直接投射する事が既に知られている孤束核に、開口筋運動前ニューロンと閉口筋運動前ニューロンの両方が存在し、これらの運動前ニューロンが運動ニューロンに対して抑制性に働いている可能性が示唆された。

実験4では、抑制性神経伝達物質を含む神経の運動前ニューロンへの入力の様態が明らかになった。具体的には、運動前ニューロンの一つである三叉神経中脳路核ニューロンの入力機構の解明を試み、抑制性の伝達物質であるGABAとグリシンを持つニューロン

の入力様態が明らかになった。これらの抑制性入力、我々が既に明らかにしている前頭前皮質外側部（島皮質）や前頭前皮質からの直接投射ではなく、これらの直接投射を介した間接投射であ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 7 件)

- 1) Akhter F, Haque T, Sato F, Kato T, Ohara H, Fujio T, Tsutsumi K, Uchino K, Sessle BJ, Yoshida A. 2014 Projections from the dorsal peduncular cortex to the trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) and other lower brainstem areas in rats. *Neuroscience* 266:23-37.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.01.046>
- 2) Oka A, Yamamoto M, Takeda R, Ohara H, Sato F, Akhter F, Haque T, Kato T, Sessle BJ, Takada K, Yoshida A. 2013. Jaw-opening and -closing premotoneurons in the nucleus of the solitary tract making contacts with laryngeal and pharyngeal afferent terminals in rats. *Brain Res* 1540:48-63.
DOI:10.1016/j.brainres.2013.10.009
- 3) Sato F, Akhter F, Haque T, Kato T, Takeda R, Nagase Y, Sessle BJ, Yoshida A. 2013. Projections from the insular cortex to pain-receptive trigeminal caudal subnucleus (medullary dorsal horn) and other lower brainstem areas in rats. *Neuroscience* 233:9-27.
DOI:10.1016/j.neuroscience.2012.12.024
- 4) Isogai F, Kato T, Fujimoto M, Toi S, Oka A, Adachi T, Maeda Y, Morimoto T, Yoshida A, Masuda Y. 2012. Cortical area

inducing chewing-like rhythmical jaw movements and its connections with thalamic nuclei in guinea pigs.

Neurosci Res 74:239-247.

DOI:10.1016/j.neures.2012.10.009.

- 5) Paik SK, Kwak MK, Bae JY, Yi HW, Yoshida A, Ahn DK, Bae YC. 2012. -aminobutyric acid-, glycine-, and glutamate-immunopositive boutons on mesencephalic trigeminal neurons that innervate jaw-closing muscle spindles in the rat: ultrastructure and development. *J Comp Neurol* 520:3414-3427.
DOI:10.1002/cne.23110.
- 6) T Haque, F Akhter, T Kato, F Sato, R Takeda, K Higashiyama, M Moritani, Y-C Bae, BJ Sessle, A Yoshida. 2012. Somatotopic direct projections from orofacial areas of secondary somatosensory cortex to trigeminal sensory nuclear complex in rats. *Neuroscience* 219:214-233.
DOI:10.1016/j.neuroscience.2012.05.065.
- 7) A Tomita, T Kato, F Sato, T Haque, A Oka, M Yamamoto, T Ono, Y- C Bae, Y Maeda, BJ Sessle, A Yoshida. 2012. Somatotopic direct projections from orofacial areas of primary somatosensory cortex to pons and medulla, especially to trigeminal sensory nuclear complex, in rats. *Neuroscience* 200:166-185.
DOI:10.1016/j.neuroscience.2011.10.048

〔学会発表〕(計 14 件)

- 1) 岡綾香、武田理恵子、大原春香、佐藤文彦、加藤隆史、山城隆、吉田篤 開口筋運動前ニューロンと閉口筋運動前ニューロンのラット孤束核内での機能局在

日本口腔科学会近畿地方部会 2013 (平成 25) 年 12 月 7 日 大阪歯科大学創立 100 周年記念館、大阪市

- 2) 武田理恵子、大原春香、岡綾香、佐藤文彦、加藤隆史、山城隆、吉田篤、三叉神経感覚核ならひに大脳皮質一次および二次体性感覚野から背側視床への投射の検討、第 7 回 三叉神経領域の感覚-運動統合機構研究会 2013 年 11 月 30 日～12 月 1 日 日本歯科大学新潟生命歯学部・新潟大学駅南キャンパスときめいと、新潟市
- 3) Tahsinul Haque, Fatema Akhter, Fumihiko Sato, Takafumi Kato, Atsushi Yoshida, Projections from the dorsal peduncular cortex to the trigeminal subnucleus caudalis and connections of the dorsal peduncular cortex with the insular cortex in rats 第 7 回 三叉神経領域の感覚-運動統合機構研究会 2013 年 11 月 30 日～12 月 1 日 日本歯科大学新潟生命歯学部・新潟大学駅南キャンパスときめいと、新潟市
- 4) F Sato, T Hque, A Oka, K Higashiyama, K Yamada, F Akhter, H Ohara, T Fujio, M Yamamoto, K Uchino, T Kato, A Yoshida 2013, Projections from the insular cortex to pain-receptive trigeminal caudal subnucleus (medullary dorsal horn) and other lower brainstem areas in rats. 日本神経科学会 Neuro2013、2013 年 6 月 20 日 国立京都国際会館、京都市
- 5) T Haque, F Sato, A Oka, R Takeda, F Akhter, M. Higashiyama, T Kato, A Yoshida 2013, Differences in projections from the primary and secondary somatosensory cortex to the trigeminal sensory nuclear complex in the rat. 日本神経科学会 Neuro2013、

2013 年 6 月 20 日 国立京都国際会館、京都市

- 6) A YOSHIDA, F SATO, F AKHTER, T HAQUE, T KATO, R TAKEDA, K HIGASHIYAMA, T FUJIO, H OHARA. DIRECT PROJECTIONS FROM THE PREFRONTAL CORTEX TO OROFACIAL PAIN-RELATED LOWER BRAINSTEM AREAS, ESPECIALLY TO THE TRIGEMINAL CAUDAL SUBNUCLEUS, IN RATS. 4th International Congress on Neuropathic Pain. Metro Toronto Convention Centre, Toronto, Canada, May 23-26, 2013
- 7) 佐藤文彦、加藤隆史、吉田篤 ラット島皮質から口腔顔面感覚が入力する三叉神経感覚核への直接投射 第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会 2013 年 3 月 28 日から 30 日、サンポート高松 (高松市)
- 8) F SATO, F AKHTER, T HAQUE, T KATO, R TAKEDA, K HIGASHIYAMA, Y-BAE, A YOSHIDA. Direct projections from the insular cortex to orofacial pain-related lower brainstem areas, especially to the trigeminal caudal subnucleus, in rats. The Ernest N. Morial Convention Center. New Orleans, USA, Oct. 13 -17, 2012, Society of Neuroscience Annual Meeting.
- 9) A OKA, R TAKEDA, F SATO, F AKHTER, T HAQUE, T KATO, H OHARA, Y-C BAE, K TAKADA, A YOSHIDA. Projections to the trigeminal jaw-opening and jaw-closing premotoneurons in the nucleus of the solitary tract from the pharyngeal mucosa and the insular cortex in rats. The Ernest N. Morial Convention Center. New Orleans, USA, Oct. 13 -17, 2012, Society of Neuroscience Annual Meeting.

- 10) A Yoshida, Y.-C. Bae (2012) Neuronal Mechanisms Controlling Jaw Movements. Nanosymposium on Motor Control of Orofacial Function. The Ernest N. Morial Convention Center. New Orleans, USA, Oct. 13 -17, 2012, Society of Neuroscience Annual Meeting.
- 11) 吉田篤、加藤隆史、佐藤文彦、Tahsinul Haque 大脳皮質一次および二次体性感覚野から三叉神経感覚核への投射の差異 (シンポジウム) 第 54 回歯科基礎医学会学術大会ならびに総会 2012 年 9 月 14~16 日、奥羽大学ビッグアイ (郡山市)
- 12) Tahsinul Haque、Fatema Akhter、佐藤文彦、加藤隆史、岡綾香、Barry J Sessle、吉田篤 大脳皮質一次および二次体性感覚野から三叉神経感覚核への投射の差異の解明 第 6 回三叉神経領域の感覚-運動統合機構研究会 2012 年 7 月 7~8 日、日本大学歯学部 (東京)
- 13) 岡綾香、Fatema Akhter、Tahsinul Haque、佐藤文彦、加藤隆史、吉田篤 孤束核における開口筋運動前ニューロンならびに閉口筋運動前ニューロンの存在およびその機能局在 第 6 回三叉神経領域の感覚-運動統合機構研究会 2012 年 7 月 7~8 日、日本大学歯学部 (東京)
- 14) 吉田篤 大脳皮質から三叉神経感覚核・運動核への投射 (シンポジウム) 第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会 2012 年 3 月 26 日~28 日、山梨大学 (甲府市)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.dent.osaka-u.ac.jp/admission/course/anat2.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 篤 (YOSHIDA, Atsushi)

大阪大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：90201855

(2) 研究分担者

加藤 隆史 (KATO, Takafumi)

大阪大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：50367520

小野 高裕 (ONO, Takahiro)

大阪大学・大学院歯学研究科・准教授

研究者番号：30204241

森谷 正之 (MORITANI, Masayuki)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：80303981

(3) 連携研究者

なし