

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791984

研究課題名(和文) レーザー光刺激法を利用した顎運動関連ニューロンの脳幹内ネットワークの解明

研究課題名(英文) The understanding of the neural circuits in the brainstem involved in jaw movement using laser photolysis

研究代表者

中村 史朗 (Nakamura, Shiro)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：60384187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、系統的レーザー光刺激法を用いて、顎運動をコントロールする脳・神経メカニズムが口を開く筋と口を閉じる筋で異なること、またこの脳・神経メカニズムが生後発育とともに変化することを明らかにした。本研究の成果は、噛むことにより促進される顎口腔機能や身体・精神活動の発達・維持のメカニズムの解明に大きく貢献できるとともに、咀嚼障害からの機能回復・治療法確立のために必要な基礎的データとして期待される。

研究成果の概要(英文)：We revealed that the neural circuits involved in jaw movement differed between jaw-closing and jaw-opening muscles and changed with postnatal development, using the systematic laser photostimulation method. The outcomes of this study provide information of understandings of mechanisms that are responsible for development and maintenance of orofacial functions and physical-psycho activities. Furthermore, our basic data obtained from this study are important for development of treatments of masticatory disorders and rehabilitation of masticatory functions.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：顎運動 三叉神経運動核 プレモーターニューロン ケージド化合物 パッチクランプ 脳幹スライス
標本

1. 研究開始当初の背景

顎運動の基本的なパターンは、脳幹に位置するパターンジェネレーターによって形成され、介在ニューロンを介して三叉神経運動ニューロンへと送られる (Nakamura et al. *Neurosci. Res.* 1995)。三叉神経運動ニューロンに顎運動指令を直接伝える最終介在ニューロン群はプレモーターニューロンと呼ばれ、三叉神経運動核周囲網様体に豊富に存在していることが解剖学的、電気生理学的に報告されてきた。これらのプレモーターニューロンは様々な情報を統合して顎筋運動ニューロンに運動指令を送る重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、その他様々な領域に存在するプレモーターニューロン群の機能的役割や存在部位による機能差異についてはほとんど明らかになっていない。

本研究代表者らは、従来の電気刺激では困難であった広範囲かつ選択的なニューロン刺激のために、レーザー光照射により活性化するケージド化合物に着目し、このレーザー光刺激法をプレモーターニューロン探索に利用する着想を得た。そこで代表者らは先行研究として、ケージド・グルタミン酸存在下で三叉神経上核および顔面神経核背側網様体をレーザー光照射すると、三叉神経運動ニューロンに興奮性シナプス応答が誘発され、さらにそれぞれの領域からのシナプス応答の誘発パターンに差があることを見出した (Nakamura et al. *J Neurophysiol.* 2008; Gemba-Nishimura, et al. *Neuroscience* 2010)。したがって、レーザー光刺激法はプレモーターニューロンの刺激に有効であることを確認した。

2. 研究の目的

そこで研究代表者らは、系統的レーザー光刺激法を用いて、様々な領域に存在するプレモーターニューロン群の脳幹内分布およびシナプス伝達機序を明らかにするとともに、様々なプレモーターニューロン群から運動ニューロンへのシナプス伝達機序がプレモーターニューロン群の部位によって異なるかどうかを多角的に解析することを目的とした。それにより、それぞれのプレモーターニューロン領域が、顎運動パターンの形成過程において、どのような機能的役割を果たしているのかを解明できると期待した。

3. 研究の方法

(1) レーザー光刺激法を用いたプレモーターニューロン領域から閉口筋および開口筋運動ニューロンへのシナプス伝達様式

実験には生後 1~5 日齢の Wistar 系ラットを用いた。脳幹を摘出後、厚さ 500 μm の前

頭断脳幹スライス標本を作製した。咬筋あるいは顎二腹運動ニューロンからパッチクランプ記録を行い、あらかじめスライス標本に灌流投与した MNI-caged-glutamate (300 μM) に対して、レーザー光を照射して局所的にグルタミン酸を解離させ、遊離グルタミン酸刺激により誘発される電流応答を解析した。レーザー光照射には Micropoint レーザーシステムを用い、三叉神経上核 (Sup) 三叉神経主感覚核 (Pr) PrV 背外側網様体 (dRt) および三叉神経間領域 (Int) を含む三叉神経運動核を囲う L 字型の範囲に設定した 76 個の格子の中心点にレーザー光を照射した。咬筋および顎二腹筋運動ニューロンの同定には、標本作製 1~2 日前に咬筋および顎二腹筋にデキストラン・ローダミンあるいは Alexa488 含有コレラトキシンをそれぞれ注入し、対応する運動ニューロンを逆行性に標識した。

(2) プレモーターニューロンからのシナプス伝達の生後発育変化

実験には生後 1~12 日齢の Wistar 系ラットを用いた。実験(1)と同様に前頭断スライス標本を作製し、三叉神経運動核周囲プレモーターニューロン領域を光刺激した際の応答をパッチクランプにより記録した。記録したデータは、生後 1~5 日齢と 9~12 日齢のグループに分け解析した。

4. 研究成果

(1) レーザー光刺激法を用いたプレモーターニューロン多領域から閉口筋および開口筋運動ニューロンへのシナプス伝達様式

生後 1~5 日齢では、dRt、SupV、PrV または IntV へのレーザー刺激により、約 70% の咬筋および顎二腹筋運動ニューロンにシナプス後電流 (PSC) が誘発された。とくに咬筋運動ニューロンでは、dRt あるいは PrV 背側のレーザー刺激でバースト状の PSC が低頻度型 PSC よりも有意に多く誘発された。これに対して顎二腹筋運動ニューロンではこのような傾向は認められなかった。さらに GABA_A 受容体拮抗薬 SR95531 とグリシン受容体拮抗薬ストリキニンの投与下で PSC の誘発に変化は認められなかった (Nonaka et al. *J Dent Res.* 91: 888-893, 2012)。

以上の結果から、dRt、SupV、PrV および IntV には咬筋および顎二腹筋運動ニューロンにグルタミン酸性出力を送るプレモーターニューロンが存在し、収束性入力をする可能性が考えられた。さらにこれらの収束性入力は咬筋および顎二腹筋運動ニューロンで異なる入力様式を示すことが示唆された (図 1)。このような三叉神経運動ニューロンへの多様な入力は顎運動時の多様な咀嚼筋活動の発現に関連している可能性が考えられる。

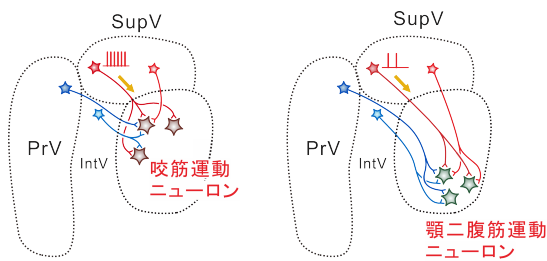


図 1 プレモーターニューロン群から咬筋および顎二腹筋運動ニューロンへのシナプス伝達

(2)プレモーターニューロンからのシナプス伝達の生後発育変化

摂食行動は、生後吸啜から咀嚼へと大きく転換するが、この吸啜から咀嚼への転換に伴って、顎運動制御に関わる中枢神経機構が変化すると考えられる。研究成果(1)で明らかになったプレモーターニューロンから三叉神経運動ニューロンへの収束性入力は、多様な顎運動パターンの形成に役立っている可能性が考えられたが、このような収束性入力が生後発育に伴いどのように変化するのかについては不明である。そこで、プレモーターニューロンから三叉神経運動ニューロンへの収束性入力の生後変化について電気生理学的に解析した。

生後 9~12 日齢では、1~5 日齢の結果と同様に、SupV、PrV または IntV へのレーザー光刺激によって、記録したすべての咬筋運動ニューロン (n = 27) および顎二腹筋運動ニューロン (n = 20) で立ち上がりの鋭い内向きのPSCが誘発された。咬筋運動ニューロンは3つの異なるプレモーターニューロン領域の刺激により応答するニューロンが約 40% 存在したのに対し、顎二腹筋運動ニューロンでは、約 30%であった。また、生後 1~5 日齢の咬筋運動ニューロンではバースト状のPSCが低頻度型PSCよりも有意に多く誘発されたのに対し、生後 9~12 日齢では低頻度型PSCが咬筋および顎二腹筋運動ニューロンともに誘発される割合が有意に大きかった。しかし生後 9~12 日齢でも、MNI-caged-glutamateの濃度を上げて (600 μM)レーザー刺激するとバースト状PSCが誘発されるようになった。また、SupVへの刺激は顎二腹筋運動ニューロンよりも咬筋運動ニューロンで有意に高い割合でPSCを誘発した。

以上の結果より、生後 9~12 日齢のラットでも複数のプレモーターニューロン領域からの入力が咬筋運動ニューロンと顎二腹筋運動ニューロンに収束しており、咬筋運動ニューロンは顎二腹筋運動ニューロンよりも広い領域から入力を受けていることが示された。さらに、複数のプレモーターニューロ

ン領域からの入力様式は生後発育とともに変化することが示唆された(図2)。このような三叉神経運動ニューロンへの入力様式の発育変化は、吸啜から咀嚼への摂食行動の変化に關与する可能性が考えられる。

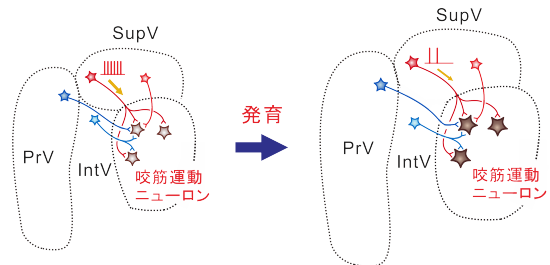


図 2 プレモーターニューロン群から咬筋運動ニューロンへのシナプス伝達の生後発育変化

本研究で得られた以上の成果は、噛むことにより促進される顎口腔機能や身体・精神活動の発達・維持のメカニズム解明に大きく貢献できるとともに、咀嚼障害をきたす神経疾患や顎関節疾患等の発症・病態メカニズムの解明や、歯の喪失等による咀嚼障害からの機能回復・治療法確立のために必要な基礎的データとして期待される。

本研究で得られた成果の一部は、Journal of Dental Research 誌 91 巻 888-893 ページ (2012 年) に掲載された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Nakamura S, Nakayama K, Mochizuki A, Sato F, Haque T, Yoshida A, Inoue T. Electrophysiological and morphological properties of rat supratrigeminal premotor neurons targeting the trigeminal motor nucleus. *J Neurophysiol.* 111 (9): 1770-1782, 2014

Inoue T, Yamaoka A, Hironaka S, Nakamura S, Nakayama K, Mochizuki A, Mukai Y, Itabashi K. Postnatal changes in the repetitive firing properties of rat jaw-closing motoneurons. *J Jpn Soc Stomatognath Funct.* 19 (2): 137-144, 2013

Ihara Y, Nakayama K, Nakamura S, Mochizuki A, Takahashi K, Inoue T. Coordination of NMDA-induced rhythmic activity in the trigeminal and hypoglossal nerves of neonatal mice in vitro. *Neurosci Res.* 75(2): 138-149, 2013

Nonaka M, Nishimura A, Nakamura S, Nakayama K, Mochizuki A, Iijima T, Inoue T. Convergent premotoneuronal inputs to single trigeminal motoneurons. *J Dent Res.* 91:

〔学会発表〕(計 14 件)

Gemba C, Nakayama K, Nakamura S, Mochizuki A, Inoue M, Inoue T Effects of histamine on neurotransmission from the mesencephalic trigeminal nucleus to trigeminal motoneurons in rats. Society for Neuroscience 43rd annual meeting San Diego 2013/11/13

中村史朗、中山希世美、望月文子、吉田篤、井上富雄 三叉神経上核プレモーターニューロンの形態学および生理学的特性 第 55 回歯科基礎医学会学術大会、岡山、2013 年 9 月 21 日

Inoue T, Nonaka M, Ihara Y, Nakamura S, Nakayama K, Yazawa I, Mochizuki A: Neural mechanisms controlling jaw and tongue movements. Symposia; Neural control of feeding behaviors, S3-5-2-3, Neuro2013, Kyoto, 20-23 June, 2013

Nakamura S, Matsuda K, Nonaka M, Mochizuki A, Nakayama K, Iijima T, Yokoyama A, Inoue T Postnatal development of convergent premotoneuronal inputs to single trigeminal motoneurons. 2nd Meeting of the International Association for Dental Research – Asia Pacific Region, Bangkok, 2013/8/21

Nakamura S, Nonaka M, Matsuda K, Nakayama K, Mochizuki A, Iijima T, Inoue T Convergent inputs to single trigeminal motoneurons from the premotor neurons which were located in the regions surrounding the trigeminal motor nucleus in rats. NANOSYMPOSIUM; Oral movements; Theme D: Sensory and Motor Systems, Soc Neurosci abstr 14.10, Neuroscience 2012, New Orleans, October 10-13, 2012

Inoue T, Nakayama K, Ihara Y, Nakamura S, Mochizuki A, Takahashi K Coordination of NMDA-induced suckling-like rhythmic activity in the trigeminal and hypoglossal nerves of In vitro brain preparations from newborn mice. NANOSYMPOSIUM; Oral movements; Theme D: Sensory and Motor Systems, Soc Neurosci abstr 14.01, Neuroscience 2012, New Orleans, October 10-13, 2012

中村史朗、望月文子、中山希世美、井上富雄 三叉神経運動ニューロン樹状突起における情報処理機構 日本顎口腔機能学会第 49 回学術大会、北九州、2012 年 10 月 21 日、プログラム・事前抄録集 54

野中睦美、松田啓資、中村史朗、中山希世美、望月文子、横山敦郎、飯島毅彦、井上富雄 三叉神経運動核周囲領域からの三

叉神経運動ニューロンに対する収束性入力 第 54 回歯科基礎医学会学術大会、郡山、2012 年 9 月 15 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 史朗 (NAKAMURA, Shiro)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号: 60384187