

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15775

研究課題名(和文) 口腔顔面機能にかかわる脳内回路を解明し、その重要性をコネクトーム研究に反映させる

研究課題名(英文) Study on brain mechanisms involved in orofacial functions to map the entire brain connectivity (connectome)

研究代表者

吉田 篤 (Yoshida, Atsushi)

大阪大学・歯学研究科・教授

研究者番号：90201855

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で次の結果を得た。(1)意識に上らない閉口筋筋紡錘感覚は、三叉神経中脳路核ニューロンによって三叉神経上核に運ばれた後、視床後腹側内側核の尾腹内側部に伝達され、さらに顆粒性島皮質の小領域に伝達された。異常な咬合がこの経路によって、情動や自律神経機能に悪影響を与え得ると考えられる。(2)他のほとんど全ての口腔顔面感覚は、三叉神経節ニューロンによって三叉神経感覚核群に送られた後、視床後腹側内側核の中央部に伝達され、さらに感覚の弁別に関わる一次と二次体性感覚野に伝達された。(3)上記の2経路は交通せず別個であった。歯科領域での新発見が将来のコネクトーム研究に大きく貢献した。

研究成果の概要(英文)：We had the following results in rats. (1) The proprioception from masticatory muscle spindles (MMS-proprioception) was conveyed to the supratrigeminal nucleus (Su5), then to the caudo-ventromedial edge of ventral posteromedial thalamic nucleus (VPMcvm), and finally to the dorsal part of granular insular cortex (dGlrvs2), but not to the primary and secondary somatosensory cortices (S1 and S2). The MMS-proprioception may make effects on emotion and homeostasis through this pathway, but not on the sensory discrimination. (2) The other orofacial sensations were conveyed to the trigeminal sensory nuclear complex, and then to the core VPM, and finally to the S1 and S2. (3) These two corticopetal pathways did not overlap each other. This study has for the first time revealed functional significances of muscle proprioception, and, thus, will contribute very much to the study of connectome in brain science.

研究分野：脳神経解剖学 口腔解剖学

キーワード：筋感覚 深部感覚 神経回路 コネクトーム 三叉神経 島皮質

1. 研究開始当初の背景

2013年に米国では、オバマ大統領が次世代の経済戦略として脳活動のマッピング研究の重要性を取りあげ、“BRAIN Initiative”が提唱された (*Insel et al., Science 2013, 340:687-8*)。これは1000億の脳神経細胞が造る複雑な神経回路網 (コネクトーム、connectome) の解読に必要な新技術の開発で雇用を創出し、同時に脳機能の解明と脳疾患の治療法の開発を目的としている。NIHの関連予算は飛躍的に増加した。日本でも2014年に「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」が開始された。EUでもヒューマン・ブレイン・プロジェクトとして、脳の実験データのデータベース化が始まった。このコネクトーム研究の急展開に遅れることなく口腔顔面機能の重要性を反映させることは、歯学に属する脳研究者の責務と考えた。我々は既に、コネクトームを構成する神経回路を多数発見し (*Yoshida et al. 1999 J Comp Neurol* など15論文)、データベース (neuroVIISAS, <http://neuroviisas.med.uni-rostock.de/connectome/index.php>) に提供したが、未だ不十分と考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、世界のコネクトーム研究に値する口腔顔面機能に関わる脳内神経回路の解明し、その成果を上記のラットのデータベースに提供し、歯学の研究者としてコネクトーム研究に参加することであった。

3. 研究の方法

ラットを用い、大阪大学歯学研究科動物実験委員会の承認下で実験を行う。in vivo で、イソフルラン吸入麻酔下または塩酸ケタミン (+ 塩酸キシラジン) 投与下で行った。灌流固定前の麻酔は大量のペントバルビタールを投与した。

先行研究 (*Yoshida et al. 1999 J Comp*

Neurol; Fujio, Yoshida et al. Neuroscience 2016) で、ラットでは、三叉神経中脳路核ニューロンは歯根膜感覚はほとんど伝達せず、特異的に咬合感覚のみを三叉神経上核に伝達することがわかった。つまり、三叉神経上核ニューロン経由の脳内回路は、咬合感覚のみを伝達する脳内回路と断定してよいことを意味している。本研究は、脊髄系には認められない、この三叉神経系特有の“研究の利点”を活かして行った。

実験(a) 咬合感覚が入力する三叉神経上核から視床への投射部位の形態学的解明

順行性神経トレーサーであるbiotinylated dextranamine (BDA) を充填したガラス管微小電極を橋に刺入した後、咬筋神経の電気刺激に対する応答から三叉神経上核を同定し、BDA を注入した。1週間後に深麻酔下でラットを灌流固定し、脳を摘出して切片を作成した。BDA を組織反応にて可視化後、標識神経終末を観察し、咬合感覚の視床投射部位を同定した。

実験(b) 咬合感覚が入力する視床部位の生理学的解明

(a)で形態学的に明らかになった視床投射部位を狙ってガラス管微小電極を刺入した。咬筋神経の電気刺激および受動的開口に対する応答を記録して、咬合感覚が入力する視床入力部位を同定した。(a)と同様に脳切片を作成し、(a)の結果と比較して視床入力部位を確認した。

実験(c) 咬合感覚が入力する視床部位に投射する三叉神経上核ニューロンの分布と、視床から前頭前皮質への投射部位を解明

(a)と(b)で明確になった視床部位を、(b)の方法で電気生理学的に再度探し出し、神経トレーサーであるWGA-HRPを充填したガラス管微小電極を刺入し、WGA-HRPを注入した。同様に脳切片を作成し、TMB反応にてWGA-HRP標識神経細胞と標識神経終末を可視化した。

視床に投射する三叉神経上核ニューロンの分布と、視床ニューロンが投射する前頭前皮質の部位を調べた。

実験(d) 舌感覚が入力する視床部位に投射する三叉神経二次ニューロンの分布と、その視床部位から大脳皮質への投射部位を解明

舌神経を電気刺激して、視床入力部位を電気生理学的に捜し出し、神経トレーサーである WGA-HRP を充填したガラス管微小電極を刺入し、WGA-HRP を注入した。(c) と同様に WGA-HRP 標識神経細胞と標識神経終末を可視化した。視床に投射する三叉神経二次ニューロンの分布と、視床から大脳皮質への投射部位を調べた。

実験(e) 舌感覚が入力する大脳皮質部位の生理学的解明

(c) の形態学的実験で明らかになった前頭前皮質に刺入したガラス管微小電極から、咬筋神経の電気刺激および開口に対する応答を記録して、前頭前皮質内の入力部位を同定した。同様に脳切片を作成し、記録部位を確認した。

実験(f) 咬合感覚が入力する前頭前皮質に投射する視床ニューロンの分布の解明

逆行性神経トレーサーFG を充填したガラス管微小電極を、(d) と同様に前頭前皮質に刺入し、咬筋感覚の入力部位を電気生理学的に同定し FG を注入した。FG 標識された視床ニューロンの視床での分布を調べた。

研究を総括(g)し、得られた結果をラットコネクトームのデータベースに情報提供し、世界的なコネクトーム研究に参加し、貢献した。

4. 研究成果

実験(a) によって、咬筋筋紡錘感覚が入力する三叉神経上核から、主に反対側の視床後内側腹側核 (VPM) の尾腹内側端 (VPMcvm) に伝達されることがわかった。

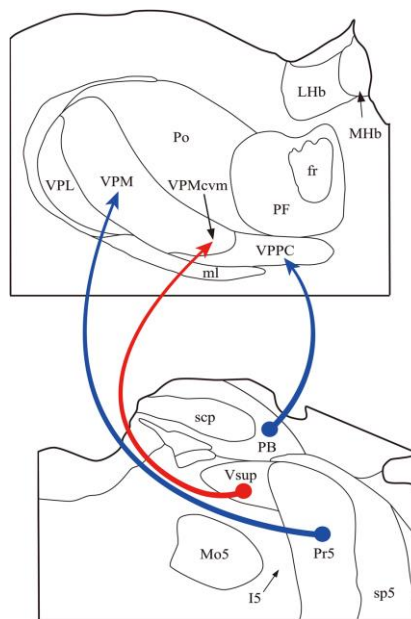
実験(b) で、実験 (a) で明らかになった VPMcvm から咬筋筋紡錘感覚入力入が記録さ

れた。

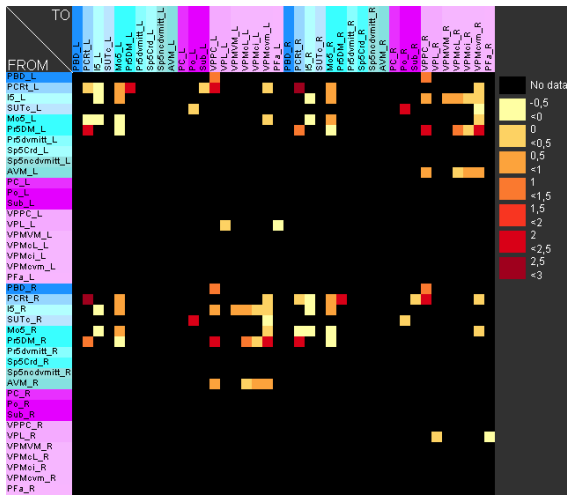
実験(c) では、VPMcvm に投射するニューロンは、反対側の三叉神経上核に認められたが、三叉神経主感覚や脊髄路核には認められなかった。

実験(d) では、舌神経を通った舌感覚が入力する core VPM に投射するニューロンは、反対側の三叉神経主感覚や脊髄路核に認められたが、三叉神経上核には認められなかった。

この結果と実験(c)の結果より、咬筋筋紡錘感覚が伝達される三叉神経上核-VPMcvm 路と、舌感覚が伝達される三叉神経主感覚や脊髄路核-core VPM 路とは、全く別の経路であり、両経路間には交通はないことが明らかになった。



以上の結果を、総括(g)し、データベース (neuroVIISAS, <http://neuroviisas.med.uni-rostock.de/connectome/index.php>) に登録した。

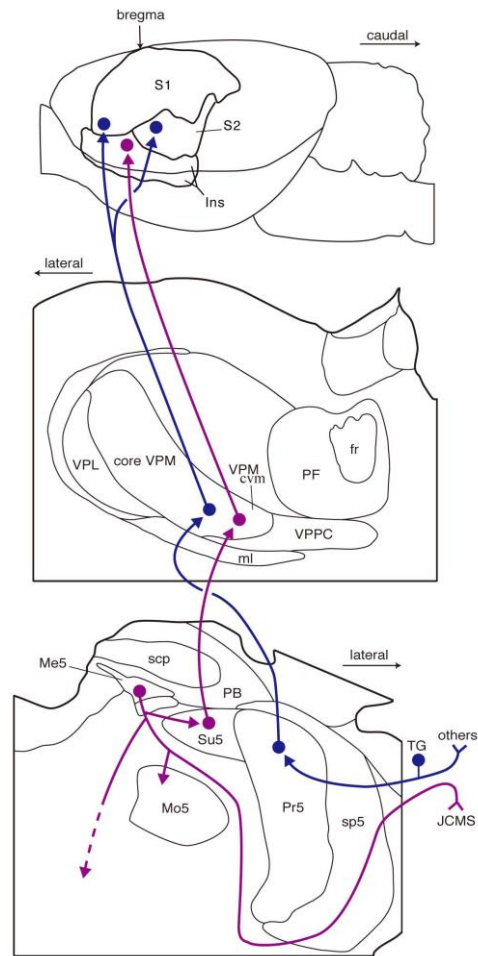


実験(c) では、咬合感覚が入力する視床 VPMcvm から、大脳皮質二次体性感覚野 (S2) に接してその吻腹側部に位置する顆粒性島皮質 (dGIRvs2) への投射が認められた。

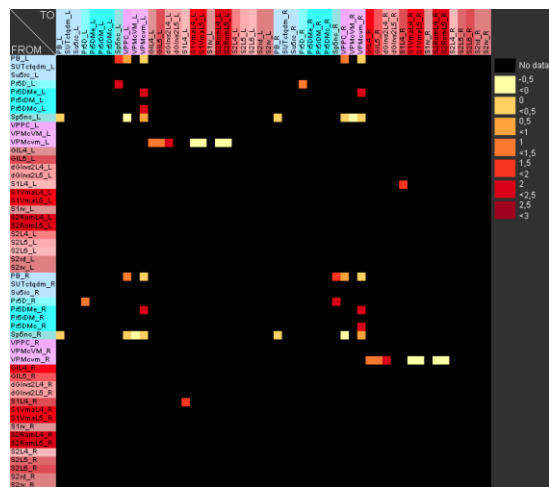
実験(e) によって、実験(C)で明らかになった dGIRvs2 に咬筋筋紡錘感覚が入力することが明らかになった。

実験(f) では、dGIRvs2 に投射する視床ニューロンは、VPM 小細胞部 (VPPC) にも認められたが、VPMcvm に最も多く認められた。core VPM にはほとんど認められなかった。

実験(d) によって、舌神経を通った舌感覚が入力する core VPM は、大脳皮質一次体性感覚野 (S1) と二次体性感覚野 (S2) には投射したが、dGIRvs2 には投射しなかった。以上の結果より、咬筋筋紡錘感覚が伝達される VPMcvm-dGIRvs2 路と、舌感覚が伝達される core VPM-S1 または S2 路とは、全く別の経路であり、両経路間には交通はないことが明らかになった。



以上の結果を、**総括(g)**し、データベース (neuroVIISAS, <http://neuroviisas.med.uni-rostock.de/connectome/index.php>) に登録した。



本研究によって、咬筋筋紡錘感覚が、口腔顔面の他の一般感覚とは異なる経路で大脳

皮質まで伝達され、情動やホメオスタシスの維持に関与していることが明らかになった。意識に上らない深部感覚の脳内伝達経路とその機能の一端が初めて明らかになった。以上の結果は、世界のコネクトーム研究に値する口腔顔面機能に関わる研究であるので、上記の様に、ラットのデータベースに情報提供し、歯学の研究者として世界のコネクトーム研究に参加した。

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 Ikenoue E, Sato F, Ohara H, Tachibana Y, Yoshida A et al. (2018) Transcortical descending pathways through granular insular cortex conveying orofacial proprioception. *Brain Res*, 査読有, 1687: 11-19. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.02.033
- ② Tsujisaka A, Yoshida A, Kato T et al. (2018) The occurrence of respiratory events in young subjects with a frequent rhythmic masticatory muscle activity: a pilot study. *Journal of Prosthodontic Research*, 査読有, DOI: 10.1016/j.jpor.2017.12.004
- ③ Sato F, Kato T, Tachibana Y, Yoshida A et al. (2017) Thalamo-insular pathway conveying orofacial muscle proprioception in the rat. *Neuroscience*, 査読有, 365:158-178. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.09.050
- ④ Kato T, Sato F, Yoshida A et al. (2017) Comparison of rhythmic masticatory muscle activity during non-rapid-eye movement sleep in guinea pigs and humans. *J Sleep Res*, 査読有, Sep 27. DOI: 10.1111/jsr.12608

- ⑤ Nagoya K, Yoshida A, Sato F, Inoue T et al. (2017) Distinctive features of Phox2b-expressing neurons in the rat reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus. *Neuroscience*, 査読有, 358:211-226. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.06.035
- ⑥ Yoshida A, Fujio T, Sato F, Kato T, Tachibana Y et al. (2017) Orofacial proprioceptive thalamus of the rat. *Brain Struct Function*, 査読有, 222:2655-2669. DOI: 10.1007/s00429-016-1363-1

- ⑦ Yoshida A, Moritani M, Nagase Y, Bae YC (2017) Projection and synaptic connectivity of trigeminal mesencephalic nucleus neurons controlling jaw reflexes. *J Oral Sci*, 査読有, 59:177-182. DOI: 10.2334/josnusd.16-0845

[学会発表] (計 8 件)

- ① 佐藤文彦、上村夢、冠野千晴、堤友美、加藤隆史、古田貴寛、吉田篤 咀嚼筋筋紡錘の感覚を伝達する視床-島皮質路 第123回日本解剖学会 2018年
- ② 吉田篤、佐藤文彦、村上旬平、藤川順司、秋山茂久 咬筋筋紡錘感覚の中樞経路:Tourette's syndromeへの関与の可能性 第24回トゥレット研究会 2017年
- ③ 佐藤文彦、上村夢、冠野千晴、堤友美、加藤隆史、吉田篤 咀嚼筋筋紡錘の感覚を伝達する視床-島皮質路:Tourette's syndromeとの関与 第59回歯科基礎医学会 2017年
- ④ 佐藤文彦、大原春香、上村夢、久保田千晴、堤友美、森谷正之、加藤隆史、吉田篤 咬筋筋紡錘からの感覚の視床投射 第11回三叉神経研究会 2017年

⑤東山亮、佐藤文彦、矢谷博文、吉田篤、加藤隆史 睡眠中の錐体路電気刺激に対するリズムカルな顎運動の応答特性 第10回三叉神経研究会 2016年

研究者番号：50373197

佐藤 文彦 (SATO, Fumihiko)
大阪大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：60632130

⑥佐藤文彦、堤友美、上村夢、久保田千晴、加藤隆史、吉田篤 咬筋筋紡錘からの感覚の視床投射 第10回三叉神経研究会 2016年

(3)連携研究者 なし

(4)研究協力者 なし

⑦佐藤文彦、加藤隆史、吉田篤 ラット顎筋筋紡錘からの感覚入力を受ける三叉神経上核の同定 第58回歯科基礎医学会 2016年

⑧吉田篤、佐藤文彦、加藤隆史 咀嚼はどのような神経回路によって情動の影響を受けるのか 第58回歯科基礎医学会 2016年

[図書] (計 1件)

吉田篤、口腔解剖学 第2版、医歯薬出版、2018、pp. 145-154

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

ホームページ等

https://www.dent.osaka-u.ac.jp/admission/admission_000278.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

富田 章子 (TOMITA, Akiko)
大阪大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：10585342

加藤 隆史 (KATO, Takafumi)
大阪大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：50367520

橘 吉寿 (TACHIBANA, Yoshihisa)
神戸大学・大学院医学研究科・講師