

平成21年 5月19日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2005～2008

課題番号：17390535

研究課題名（和文） 培養脳幹を用いた咀嚼・嚥下運動連関に関する研究

研究課題名（英文） Function and relationship of masticatory and swallowing centers

研究代表者

古郷 幹彦（KOGO MIKIHICO）

大阪大学 大学院歯学研究科・教授

研究者番号：20205371

研究成果の概要：本研究は咀嚼系、嚥下系、呼吸系の3系とそれぞれの運動連関について検討した。ことに運動連関の実験において、咀嚼系嚥下系いずれも呼吸にはネットワーク内で抑制的に働いていることが示された。咀嚼運動を起こしている間に嚥下運動を誘発すると咀嚼運動が抑制されることが認められた。逆に嚥下運動に対する咀嚼運動の影響については嚥下運動の咀嚼運動に対する効果よりも弱い嚥下運動も咀嚼運動により抑制される傾向が認められた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	8,000,000	0	8,000,000
2006年度	2,300,000	0	2,300,000
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
総計	14,900,000	1,380,000	16,280,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：咀嚼・嚥下・口・顎・口腔外科

### 1. 研究開始当初の背景

咀嚼における培養脳幹の手法の研究応用は国内でも我々を含めてごく一部の機関で可能だけであった。この手法で咀嚼のセントラルパタンジェネレータの研究を我々はい世界に認定されていた。

そこで培養脳幹の手法を用いて咀嚼・嚥下・呼吸という口の重要な機能についてさらに詳細に検討しようとした。

### 2. 研究の目的

脳幹内における咀嚼の生理機構と嚥下の生理機構と呼吸の生理機構について神経生理学的に検討を行い、それぞれの特性とセントラルパタンジェネレータの関係について明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 培養脳幹標本の作製

妊娠ラットを飼育し、出生後1から7日の新生児ラットを用いる。新生児ラットから嚥下・咀嚼研究用培養脳幹標本を作製する。咀嚼・嚥下の神経ネットワークが保存されていることが重要である。

(2) 咀嚼運動の誘発：咀嚼のパタンジェネレータ近くにNMDAをはじめとする薬剤刺激をおこない培養脳幹標本に安定して咀嚼運動が起こることを確認する。記録は三叉神経で確認するだけでなく、一部は顎をつけた標本作製し、肉眼で咀嚼運動を確認し、咀嚼筋からの筋電図でも安定した咀嚼運動が起こることを確認する。

(3) 嚥下運動の誘発：孤束核近くにNMDAをはじめとする薬剤刺激をするほか、上喉頭神経への電気刺激により安定した嚥下運動を得る。これは食道・舌をつけた標本でも嚥下運動が起こることを確認する。

#### (4) 咀嚼運動に対する嚥下運動の影響の検討

嚥下運動をある一定期間誘発し、それに

対して嚥下運動を誘発したときの影響について三叉神経の神経活動で分析する。

(5) 嚥下運動に対する咀嚼運動の影響の検討：嚥下運動を一定のリズムで発現するようにした条件下で咀嚼運動を誘発し、そのときの嚥下運動に起こる変化を分析する。活動は舌下神経から採取する。

(6) “顎運動における機能的順応” について検討を行う。生後2-4日目のSD系ラットから脳幹スライスを作製し、人工脳脊髄液のもとで実験用チャンバーに固定する。三叉神経運動ニューロン群について神経根からの細胞外記録法及び神経細胞体からのパッチクランプ法を用いて神経活動を解析する。

(7) ヒトにおいて嚥下計測ができるか圧センサーを用いて検討する。

薬剤刺激：リコーディングチャンバーを専用に作製し、現有のピコスプリッターにて局所薬剤刺激をガラスファイバーで行うか、バスアプリケーションにてニューロトランスミッターのアゴニストやアンタゴニストを投与する。

電気刺激：現有の電気刺激装置から現有のプレーを用いて作製したガラス電極を通して中枢または末梢神経に対して行う。

活動の記録：実体顕微鏡をとおしてモニターで肉眼的に確認しDVDに記録する。

さらに神経活動の記録は Patch clamp amplifier EPC 10 をとおして patch clamp にて確認し記録する。

### 4. 研究成果

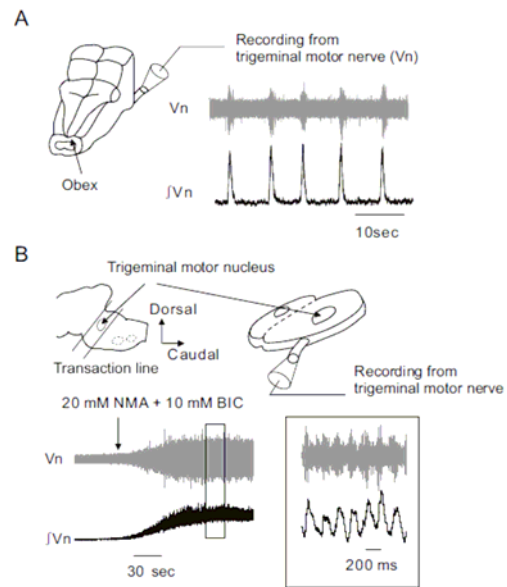
(1) “顎運動における機能的順応” について三叉神経系の神経生理学的な視点から検討を行った。三叉神経運動ニューロン群につい

て神経根からの細胞外記録法及び神経細胞体からのパッチクランプ法を用いて神経活動を解析した。

実験は、不要な活動を停止させるため、薬理的に神経間の伝達を遮断した状態のもとで行った。三叉神経運動ニューロン群に Induction となる刺激を加え、その結果生じる神経活動の変化を三叉神経運動根から細胞外神経記録にて検討した。三叉神経運動核に電気的あるいは化学的刺激を与えることで、三叉神経運動ニューロン群の神経活動の増強を認めた。さらに、パッチクランプ法を用いて単一の三叉神経運動ニューロンに同様に Induction を加え、単一ニューロンの神経活動の変化を検討した。単一の三叉神経運動ニューロンにおいても同様に、Induction 刺激にて、興奮性が増強し、これが長期に継続した。

単一細胞体として、三叉神経運動ニューロンは、直接 Induction 刺激をニューロンに入力することにより、活動電位の明らかな数の増加、それに伴う Spike frequency の長期増加が認められた。この長期増強において Resting potential や input resistance は変化がなく、さらに、神経特性の変化を検討した F-I curve では、induction 後は Induction 前と比較してグラフの左方移動を認め、神経の活動性の興奮性が増強し、長期に継続することが認められた。Induction 群の閾値の変化を検討したところ、閾値の低下傾向は認められたが、有意差は認めなかった。各パターンの神経活動を示す神経群ごとに spike frequency と活動電位の数の変化に違いは認めなかった。以上より、三叉神経運動ニューロンが内因性の神経可塑性（長期増強：LTP）をもつということが確認された。

(2) 嚥下運動の誘発：孤束核近くに NMDA をはじめとする薬剤刺激をしたほか、上喉頭神経への電気刺激により安定した嚥下運動を得た。これは食道・舌をつけた標本でも嚥下運動が起こることを確認した。これは食道・舌をつけた標本でも嚥下運動が起こることを確認した。記録は三叉神経で確認するだけでなく、一部は顎をつけた標本作製し、肉眼で咀嚼運動を確認し、咀嚼筋からの筋電図でも安定した咀嚼運動が起こることを確認した。

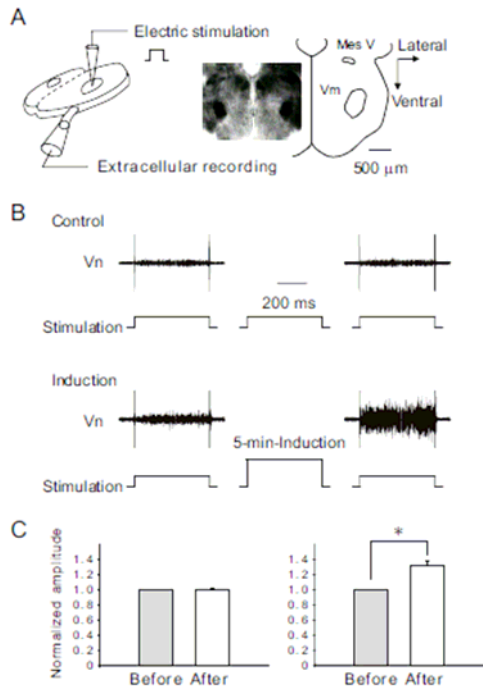


A 培養脳幹からの咀嚼運動  
B 脳幹スライスからの咀嚼運動



図2 咀嚼の中枢パターンジェネレータ（三叉神経中脳核内神経細胞体）

咀嚼のセントラルパターンジェネレータと考えられる細胞活動



### Induction による活動の増加

#### (3) パタンジェネレータの相互作用

- ① 嚥下系の実験においてはラット培養のなかで上喉頭神経を電気刺激し、嚥下活動を誘発し、嚥下活動時に呼吸周期が延長することを確認したが Norepinephrine を投与することでこの効果は抑えられた。すなわち alpha-2 adrenergic receptor が関与することが示された。
- ② 三叉神経に咀嚼様活動を誘発すると、三叉神経運動ニューロンの呼吸性活動は咀嚼様活動とは同期しない tonic な活動となり、三叉神経運動ニューロン呼吸性活動は、咀嚼リズム活動発現により抑制を受けることが示された。咀嚼系嚥下系いずれも呼吸にはネットワーク内で抑制的に働いていることが示された。一方、三叉神経呼吸性活動は同側の Pre-Bötzinger complex からのコントロールを優位に受けており三叉神経運動核間の相互作用は少ないことが明らかとなった。
- ③ 咀嚼運動に対する嚥下運動の影響の検討咀嚼運動をある一定期間誘発し、それに対して嚥下運動を誘発したときの影響について三叉神経の神経活動で分析した。その結果、咀嚼運動を起こしている間に

嚥下運動を誘発すると咀嚼運動が抑制されることが認められた。逆に嚥下運動に対する咀嚼運動の影響についてパタンジェネレータを刺激することにより検討を行った。嚥下運動の咀嚼運動に対する効果よりも弱いが嚥下運動も咀嚼運動により抑制される傾向が認められた。

- ④ ヒトでの研究で圧力センサーを用いれば嚥下開始時期と嚥下スピードを示せることが明らかとなった。

#### 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)

[学会発表] (計 3 件)

小泉英彦、呼吸ペースメーカーニューロンによる顎・舌運動の脳幹内制御機構、第62回日本口腔科学会学術集会、平成20年4月18日、福岡国際会議場

岡本怜子、三叉神経運動ニューロンにおける神経活動の可塑性について、平成20年4月17日、福岡国際会議場

岡本怜子、Activity-dependent plasticity of intrinsic excitability in trigeminal motoneurons, Neuroscience 2007, 平成19年11月2日、サンディエゴコンベンションセンター

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

古郷 幹彦 (KOGO MIKIHICO)  
大阪大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号:20205371

##### (2) 研究分担者

飯田 征二 (IIDA SEIJI)  
大阪大学・歯学部附属病院・講師  
研究者番号:40283791  
小泉 英彦 (KOIZUMI HIDEHIKO)  
大阪大学・歯学部附属病院・講師  
研究者番号:10324790  
山西 整 (YAMANISHI TADASHI)  
大阪大学・歯学部附属病院・医員  
研究者番号:20397780

##### (3) 連携研究者

なし