

平成 22 年 5 月 13 日現在

研究種目：若手研究（B）	
研究期間：2008 ～ 2009	
課題番号：20791359	
研究課題名（和文）	咀嚼筋の副交感神経性血流増加反応における性差と咀嚼筋血流障害との関連性
研究課題名（英文）	Involvement of sex-associated differences in the parasympathetic vasodilatation of the jaw muscles in the etiology of jaw muscle disorders
研究代表者	
	石井 久淑（ISHII HISAYOSHI）
	北海道医療大学・歯学部・講師
	研究者番号：00275489

研究成果の概要（和文）：本研究は、咀嚼筋の自律神経性血流調節における性差の有無について検討した。その結果、雌ラットの咬筋の副交感神経を介する血流増加反応は雄ラットよりもムスカリン受容体の遮断薬であるアトロピン（ムスカリン受容体の遮断薬）の投与によって顕著に抑制されることが明らかになり、アセチルコリンを伝達物質とするコリン作動性血管拡張線維は男性よりも女性の咀嚼筋の血流調節に密接に関わっていることが示唆される。

研究成果の概要（英文）：The present study was designed to examine whether there are sex-associated differences in the blood flow regulation mediated by autonomic nervous system in the jaw muscles. Our results indicate that the magnitude of parasympathetically mediated blood flow increase in the masseter muscle was much more reduced by intravenous administration of the antimuscarinic agent atropine in female than in male rats, suggesting that cholinergic parasympathetic vasodilator fibers are more involved in the regulation of blood flow to the jaw muscles in females than in males.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：口腔生理学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：咀嚼筋、副交感神経性血管拡張線維、副交感神経性血流増加反応、総頸動脈、レーザードップラー血流計、超音波レーザー血流計、性差、アトロピン

## 1. 研究開始当初の背景

咀嚼筋の機能障害は顎・顔面・頭部領域の慢性疾患（顎関節症、ブラキシズム及び頭痛など）に最も多く認められる症候であり、それらは圧倒的に女性に多く発症することが

知られている（Delcanho, Aust Prosthodont J 9: 49-59, 1995; Delcanho et al., Arch Oral Biol 41: 585-596, 1996; Maekawa et al., J Pain 3: 251-260, 2002; Hidaka et al., J Dent Res 83: 227-231, 2004）。にもかかわ

らず、咀嚼筋の機能障害の病因及び発症率における性差に関連するメカニズムは明らかにされていない。

これまでの我々の研究から (Ishii et al., J Physiol 569: 617-629, 2005; Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 293: R729- R733, 2007; J Oral Biosci 49: 163-172, 2007)、副交感神経性血管拡張線維を介する血流増加反応は咀嚼筋の血流維持に極めて重要であり (Ishii et al., J Physiol 569: 617-629, 2005)、この血流増加反応の抑制によって生じる咀嚼筋の血流障害は咀嚼筋の機能障害の誘因の一つである可能性が示唆されている (Ishii et al., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 293: R729- R733, 2007)。したがって、咀嚼筋の機能障害の病因及び発症率における性差には、副交感神経性血流増加反応に関する性別によって異なるメカニズムが密接に関連していることが予想された。

## 2. 研究の目的

本研究は、咀嚼筋の副交感神経性血流増加反応に関わる末梢性神経機序において、副交感神経性血管拡張線維の 1) 応答特性と 2) 神経伝達物質及びそれらの受容体における性差の有無について生理学・薬理的、生化学的及び組織学的手法を用いて検討し、それらと咀嚼筋の血流障害、さらには咀嚼機能障害の発症機序及び病態との関連性を明らかにすることを目的としている。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験動物及び実験手順

実験には、Wistar 系雄及び雌ラット (15-25 週齢) を用いた。ラットはウレタン及び筋弛緩剤 (パンクロニウム) を用いて麻酔・非動化した後、人工呼吸下にて管理した。動脈圧の測定及び薬剤注入のために、大腿動脈及び大腿静脈にカテーテルを挿入・留置した。副交感神経線維の興奮は三叉神経の求心性刺激によって活性化する方法を用いた (Ishii et al., J Physiol 569: 617-629, 2005)。三叉神経 (図 1-V) の第 3 枝の側枝である舌神経 (LN, 図 1) の電気刺激 (図 1-a) は、中枢性に諸種の刺激強度 (1-30 V) 及び刺激頻度 (1-30 Hz) で行った。左側 (刺激側と同側) の咬筋 (図 1-b) 及び下唇 (図 1-c) の血流量はレーザードップラー血流計 (LDF, 図 1) を用いて、総頸動脈 (CCA, 図 1) の血流量は超音波レーザードップラー血流計 (UBF, 図 1) を用いて測定した (図 1-d)。腹部内臓諸臓器を支配する迷走神経や口腔・顔面領域の交感神経線維の作用を除外するために、すべての実験に先立って両側の頸部交感神経幹と迷走神経を頸部で切断した。実験終了後、すべての動物はペントバルビタールの過量投与 (100 mg) によって安楽死さ

せた。

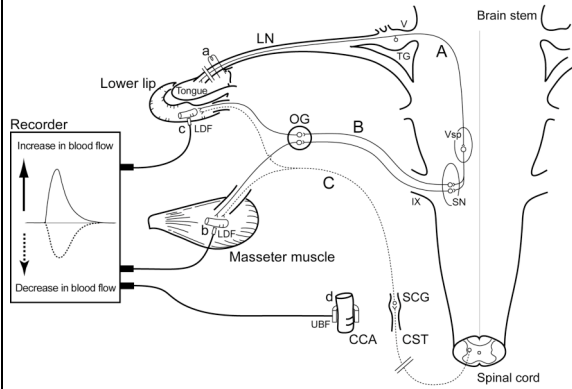


図 1. 顎・顔面領域の血流調節に関与する自律神経線維とそれらの中枢の模式図

(A) 三叉神経 (LN, 舌神経) の電気刺激 (a) で活性化される求心路, (B) 咬筋 (b) と下唇 (c) の血管を支配する副交感神経性血管拡張線維, (C) 咬筋及び下唇を支配する交感神経性血管収縮線維. OG, 耳神経節; SCG, 上頸神経節; TG, 三叉神経節; Vsp, 三叉神経脊髄路核; SN, 唾液核; V, 三叉神経根; IX, 舌咽神経根; CST, 頸部交感神経幹; CCA, 総頸動脈; LDF, レーザードップラー血流計; UBF, 超音波レーザードップラー血流計.

### (2) 咀嚼筋の副交感神経性血管拡張線維の応答特性における性差

三叉神経 (LN, 舌神経; 図 1) の求心性刺激で生じる反射性の副交感神経性血流増加反応に関して、刺激強度及び刺激頻度の影響を明らかにし、咀嚼筋に血流増加を誘発する副交感神経性血管拡張線維の応答特性における性差の有無を検討する。

### (3) 副交感神経性血流増加反応に関わる神経伝達物質とそれらの受容体における性差

副交感神経性血流増加反応に対する諸種の自律神経遮断薬 (自律神経節遮断薬, Hexamethonium; ムスカリン受容体遮断薬, Atropine; アドレナリンβ受容体遮断薬, Propranolol; アドレナリンα受容体遮断薬, Phentolamine) の影響について検討し、血管拡張線維から分泌される神経伝達物質とそれらの受容体における性差の有無を明らかにする。

## 4. 研究成果

(1) 舌神経の求心性刺激は雄及び雌ラットの咬筋 (MBF)、下唇 (LBF) 及び総頸動脈 (CCABF) の血流量を刺激強度 (V) 及び刺激頻度 (Hz) に依存して有意に増加させた (図 2, 3)。これらの血流増加は 20 V 及び 20 Hz で最大値に達した (図 3)。以降の頸部迷走神経の求心性刺激は、この閾上刺激 (20 V,

20 Hz, 20 s, 2 ms) を用いて行った。舌神経刺激で生じる MBF、LBF 及び CCABF の増加は Hexamethonium の静脈内投与で顕著に抑制されることから (図 4, 5)、これらの血流増加は副交感神経性血管拡張線維の活性化によって生じていることが示唆された。

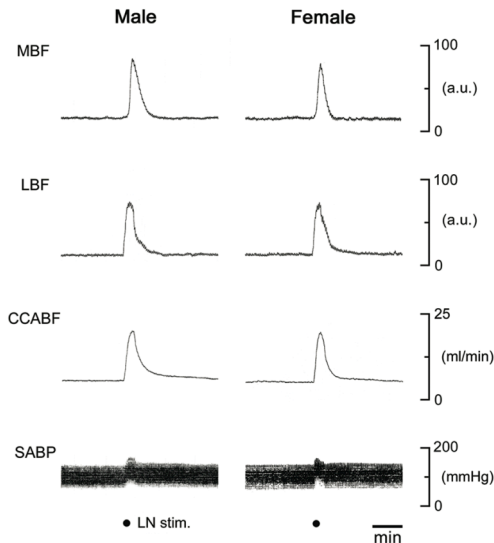


図 2. 舌神経刺激 (左側, LN stim.) が雄 (male) 及び雌 (female) ラットの左側の咬筋 (MBF), 下唇 (LBF) 及び総頸動脈 (CCABF) の血流に与える影響。舌神経は 20 V, 20 Hz, 20 s, 2 ms で刺激された。a. u., arbitrary units.

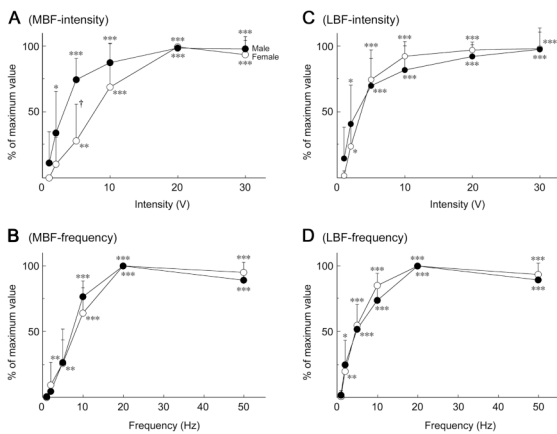


図 3. 舌神経 (左側) の刺激強度 (A & C, 1-30 V) 及び刺激頻度 (B & D, 1-30 Hz) と咬筋 (MBF, A & B) 及び下唇 (LBF, C & D) の血流変化 (male, ●; female, ○) との関係。舌神経の求心性刺激で生じるそれぞれの血流増加量の最大値を 100% とした。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. 基準値 (1 Hz 及び 1 V の舌神経の求心性刺激に対する MBF 及び LBF の変化量)。† $p < 0.05$ , 雄ラット vs. 雌ラット。

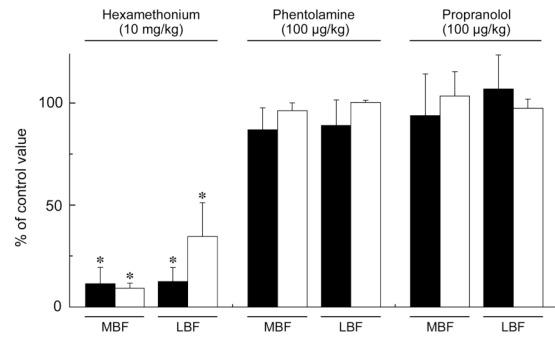


図 4. 雄 (■) 及び雌 (□) ラットの舌神経刺激 (左側) で生じる左側の咬筋 (MBF) と下唇 (LBF) の血流増加に与える諸種の薬物の影響。各遮断薬の投与前に舌神経刺激で生じる咬筋及び下唇の血流増加量を 100% とした (control)。\* $p < 0.001$  vs. control.

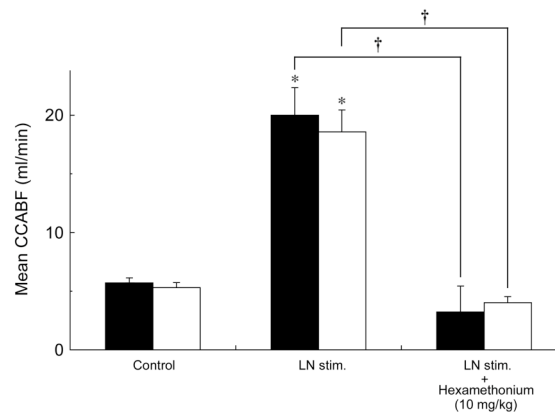


図 5. 雄 (■) 及び雌 (□) ラットの左側の総頸動脈 (CCABF) の安静時血流量 (control) と舌神経刺激 (左側, LN stim.) で生じる CCABF の増加に与える Hexamethonium の影響 (LN stim. + Hexamethonium)。\* $p < 0.001$  vs. control。† $p < 0.001$ 。

(2) Phentolamine 及び Propranolol の静脈内投与は舌神経刺激で生じる MBF 及び LBF の増加に対して影響を及ぼさなかった (図 4)。一方, Atropine の投与は雄ラットの MBF の増加を 40-50% 減少させるのに対して、雌ラットではいずれの部位の血流増加 (特に MBF で顕著) を有意に抑制した (図 6)。したがって、顎・顔面領域のコリン作動性血流増加反応は、雄ラットよりも雌ラットにおいて顕著であることが明らかになった。これらの結果から、コリン作動性血管拡張線維は男性よりも女性の顎・顔面領域の諸器官、特に咀嚼筋の血流調節に密接に関わっていることが示唆される。

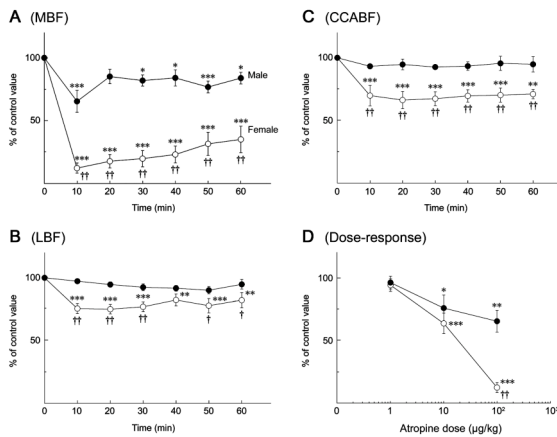


図 6. 雄 (●) 及び雌 (○) ラットの舌神経刺激 (左側) で生じる左側の咬筋 (MBF ; A), 下唇 (LBF ; B) 及び総頸動脈 (CCABF ; C) の血流増加に与える Atropine の影響と Atropine の用量反応曲線 (D). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control (A-C) 或いは基準値 (1 µg/kg の Atropine の投与時に生じる MBF の変化量 ; D). † $p < 0.05$ , †† $p < 0.001$ , 雄ラット vs. 雌ラット.

### (3) 今後の展望

本研究は咀嚼筋の血流維持に極めて重要な副交感神経性血流増加反応の末梢性神経機序において、Atropine に対する感受性の性差 (雌ラットの副交感神経性血流増加反応は雄ラットよりも Atropine で顕著に抑制される) を世界に先駆けて初めて明らかにした。これは、コリン作動性副交感神経性血管拡張線維が男性よりも女性の顎・顔面領域の血流調節に密接に関わっていることを示唆している。

コリン作動性線維の活性は性周期或いは加齢に伴う女性ホルモン (エストロゲン) の血中濃度の変化に影響されることが多数報告されていることから (McEwen & Parsons, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 22: 555-598, 1982; Miller, *Psychoneuroendocrinology* 8: 225-236, 1983; Luine, *Exp Neurol* 89: 484-490, 1985; Loy & Sheldon, *Brain Res* 431: 156-160, 1987; Rhodes & Rubin, *Brain Res Brain Res Rev* 30: 135-152, 1999; Richeri et al., *J Histochem Cytochem* 50: 839-850, 2002; Smith & Bradshaw, *Histology & Histopathology* 19: 1109-1116, 2004; Ting et al., *Biol Reprod* 71: 1397-1404, 2004)、エストロゲンとコリン作動性副交感神経性血管拡張線維のはたらきは密接に関連しており、これらが咀嚼障害の発症率に認められる著しい性差を生じさせる要因の一つである可能性が示唆され

る。

中枢神経系のコリン作動性線維に関しては、雌ラットのコリンアセチルトランスフェラーゼの活性 (Brown & Brooksbank, *Neurochem Res* 4: 127-136, 1979; Loy & Sheldon, *Brain Res* 431: 156-160, 1987; Rhodes & Rubin, *Brain Res Brain Res Rev* 30: 135-152, 1999) やアセチルコリンの濃度 (Hortnagl et al., *Brain Res Bull* 31: 129-134, 1993; Rhodes & Rubin, *Brain Res Brain Res Rev* 30: 135-152, 1999) が雄ラットよりも高いことが報告されており、これらの要因がコリン作動性線維の性差に関連するメカニズムとして重要であると考えられている。一方、末梢神経系におけるこれらの性差は十分な検討が成されていないが、Duら (*Clin Exp Pharmacol Physiol* 21: 485-493, 1994) は心臓を支配する迷走神経 (コリン作動性副交感神経を含む) の電気刺激で生じる心拍数及び血圧低下作用は雌ラットの方が雄ラットよりも顕著であることを示している。顎・顔面領域においては、雌マウスの顎下腺中に含まれるアセチルコリンの濃度は雄マウスよりも高いことが報告されている (Murai et al., *Arch Oral Biol* 43: 9-14, 1998)。したがって、コリン作動性副交感神経性血流増加反応における性差は副交感神経性血管拡張線維の終末部から放出されるアセチルコリンの濃度の違いに起因していると推測されるが、これらの性差に関連するメカニズムを明確にするためには性ホルモンの影響を考慮したさらに詳細な検討が必要である。

### 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 8 件)

- ① Sudo E, Ishii H, Niioka T, Hirai T and Izumi H (2009) Parasympathetic vasodilator fibers in rat digastric muscle. *Brain Res* 1302: 125-131. 査読有り
- ② Koeda S, Ishii H, Kuchiwa S and Izumi H (2009) Role of the spinal trigeminal nucleus in the rat autonomic reflex. *Arch Oral Biol* 54: 1136-1142. 査読有り
- ③ Niioka T, Ishii H and Izumi H (2009) Regional differences in blood flow variation in rat masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 1022-1028. 査読有り

- ④ Niioka T, Ishii H and Izumi H (2009) Involvement of vasoactive intestinal polypeptide in the parasympathetic vasodilatation of the rat masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 909-916. 査読有り
- ⑤ Saito M, Toyoda H, Sato H, Ishii H and Kang Y (2009) Rapid use-dependent down-regulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptors in rat mesencephalic trigeminal neurons. *J Neurosci Res* 87: 3076-3089. 査読有り
- ⑥ Ishii H, Niioka T and Izumi H (2009) Difference between male and female rats in cholinergic activity of parasympathetic vasodilatation in the masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 533-542. 査読有り
- ⑦ Ishii H, Niioka T and Izumi H (2009) Circulating adrenaline released by sympathoadrenal activation elicits acute vasodilatation in the rat masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 486-494. 査読有り
- ⑧ Watanabe H, Ishii H, Niioka T, Yamamuro M and Izumi H (2008) Occurrence of parasympathetic vasodilator fibers in the lower lip of the guinea-pig. *J Comp Physiol [B]* 178: 297-305. 査読有り

[学会発表] (計 9 件)

- ① 石井久淑 (2009 年 11 月 5 日) 咀嚼筋の自律神経性血流調節に関する末梢性及び中枢性神経機構. シンポジウム『口腔に対する自律神経支配と反射』-第 62 回日本自律神経学会総会 (和歌山, ダイワロイネットホテル和歌山), 抄録集, 102-103P.
- ② Ishii H, Niioka T and Izumi H (2009 年 9 月 14 日) Neural mechanisms underlying acute vasodilatation in masseter muscle evoked by vagal afferent stimulation. 13th Congress of the European Federation of Neurological Societies (EFNS) (Italy, Florence). Program Book, 177P.
- ③ 新岡丈治, 石井久淑, 和泉博之 (2009 年 9 月 11 日) ラット咬筋における自律神経刺激による血流変化の部位差. 第 51 回歯科基礎医学会学術大会 (新潟, 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター), *J. Oral Biosci.* 51 (Suppl.), 155P.

- ④ 新岡丈治, 石井久淑, 和泉博之 (2009 年 2 月 28 日) レーザースペックルイメージング血流計を用いた, ラット咬筋および周辺組織の血流動態イメージング解析. 第 27 回北海道医療大学歯学会学術大会 (北海道, 北海道医療大学札幌サテライトキャンパス), 抄録集, 6P.
- ⑤ 新岡丈治, 石井久淑, 和泉博之 (2008 年 9 月 25 日) レーザースペックルイメージング血流計を用いた, ラット咬筋および周辺組織の血流動態イメージング解析. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京, TOC 有明コンベンションホール), *J. Oral Biosci.* 50 (Suppl.), 187P.
- ⑥ 石井久淑, 新岡丈治, 和泉博之 (2008 年 9 月 25 日) 交感神経-副腎系により活性化される咀嚼筋のアドレナリン  $\beta_2$  受容体を介する血管拡張反応. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京, TOC 有明コンベンションホール), *J. Oral Biosci.* 50 (Suppl.), 189P.
- ⑦ 石井久淑, 新岡丈治, 和泉博之 (2008 年 9 月 6 日) 頸部迷走神経の求心性刺激によって誘発されるラット咀嚼筋の副交感神経性血管拡張反応. 第 88 回北海道医学大会生理系分科会 (北海道, 北海道大学), 抄録集, P12.
- ⑧ Niioka T, Ishii H and Izumi H (2008 年 7 月 5 日) Regulatory mechanism of parasympathetic vasodilatation of masseter muscle in rat. 86th General session & Exhibition of the International Association for Dental Research (Canada, Toronto). Program Book, 177P.
- ⑨ Ishii H, Niioka T and Izumi H (2008 年 7 月 5 日) Parasympathetic vasodilatation in masseter muscle evoked by vagal afferent stimulation. 86th General session & Exhibition of the International Association for Dental Research (Canada, Toronto). Program Book, 177P.
- [その他]  
ホームページ等  
<http://www.hoku-iryo-u.ac.jp/~physiol/>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

石井 久淑 (ISHII HISAYOSHI)  
北海道医療大学・歯学部・講師  
研究者番号：00275489