

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20H03887

研究課題名(和文) 感覚入力を含む包括的ネットワークにおける口腔機能の出力統合メカニズムの解明

研究課題名(英文) Analysis of neural network regarding oral function

研究代表者

古郷 幹彦 (Kogo, Mikihiko)

大阪大学・大学院歯学研究科・名誉教授

研究者番号：20205371

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：嗅覚では、軽度の鎮静作用があることが知られているOSM臭気が、咀嚼運動の鈍化を伴い、食欲、食物摂取量、体重を低下させることを示した。咀嚼運動系ではスライス標本の吻側のレベルに位置する不確縫線核は呼吸活動を、標本の尾側レベルにおける不確縫線核は嚥下活動の発現を制御している可能性が示唆された。さらに、不確縫線核はスライス標本内の5-HT_{1A}受容体を介して嚥下活動を制御している可能性がある。咀嚼崩壊系としてALSマウスでは三叉神経運動根からのリズムカル活動(咀嚼様運動)は記録されなかった。三叉神経運動核に伝達されるはずの咀嚼運動様リズムがその前の段階premotoneuronの段階で崩壊していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔に関連する吸気や咀嚼・嚥下運動系の連携を実際に証明することができそのネットワークの一部を示せた意義は大きい。不確縫線核の口腔機能の役割の一部を示すことができた。Isolated BrainstemやALS系など新しい研究方法にアクセスしそれらが有用な方法であることを示せた。

研究成果の概要(英文)：On the olfactory side, OSM odors, which are known to have a mild sedative effect, were accompanied by a slowdown in chewing movements, which was shown to reduce appetite, food intake, and body weight.

In the masticatory motor system, it was suggested that the nucleus raphe obscurus located at the rostral level of the sliced specimen may control respiratory activity, and the nucleus raphe obscurus at the caudal level of the specimen may control the expression of swallowing activity. In addition, nucleus raphe obscurus may regulate swallowing activity via 5-HT_{1A} receptors in sliced specimens.

As a masticatory disintegration system, no rhythmic activity (chewing-like movements) from the trigeminal motor root was recorded in ALS mice. The chewing movement-like rhythm that was supposed to be transmitted to the trigeminal motor nucleus had been disrupted in the previous stage, the premotoneuron stage.

研究分野：口腔外科

キーワード：咀嚼 口腔 嚥下

1. 研究開始当初の背景

味覚、嗅覚として入力された求心性シグナルが、視床下部外側野でのOrexinおよびNeuropeptide Yの産生、さらに縫線核におけるSerotoninおよびSubstance Pの産生という形で統合され、口腔機能の出力を制御する。有病者、高齢者の摂食・嚥下障害の病態を明らかにするために、口腔機能相互の協調メカニズムを明らかにする必要がある。今回の研究では、咀嚼、嚥下に呼吸を加えた口腔機能出力の協調に焦点を当て、口腔機能制御ネットワークが、感覚入力から始まる包括的な神経回路の中で、口腔機能の出力統合に対してどのような役割を担うか、その脳内メカニズムを多角的なアプローチによって解明する。

2. 研究の目的

嚥下・咀嚼・呼吸という重要な口腔機能の出力統合のメカニズムに焦点を当て、これが感覚入力によってどのように制御されるかについて明らかにするとともに、この制御様式をてがかりにして口腔機能の出力統合メカニズムの機能的・解剖学的構造を明らかにすることを目的とする。このために、これまでに明らかとなった視床下部外側野および縫線核ネットワークという口腔機能の制御メカニズムが口腔機能の出力統合に果たす役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 感覚障害が口腔機能の出力統合に及ぼす影響

ラット(体重約300g)を用い鼻腔感覚を低下させたものとコントロールを用い15分間キンモクセイ匂い刺激を行い45分後より投与4時間後までの摂食量を測定した。また咀嚼時の咬筋筋活動を計測した。

(2) 延髄縫線核が嚥下様活動に及ぼす影響

生後1-3日令の新生仔ラットより剖出した脳幹から現れる左右の迷走神経の吻側端を結ぶ位置から吻側へ100 μ mの位置を吻側切断面とし、そこから尾側へ厚さが800-1000 μ mとなるように作成した延髄スライス標本は、自発的な呼吸活動と迷走神経への電気刺激による嚥下様活動が発現する最小標本であることが明らかとなっている。この標本には、嚥下中枢を含む延髄孤束核、舌下神経核、呼吸中枢であるpre-Bötzing complex、延髄縫線核を含む。今回はこのスライス標本において、延髄縫線核が嚥下様活動と呼吸活動に及ぼす影響を明らかにすることを目的として研究を行った。生後1-3日令のSprague-Dawley系ラットを用いた。深麻酔後に酸素化した人工脳脊髄液中にて脳幹を剖出し、延髄を同定した後、マイクロスライサーを用いて目的のスライス標本作製した。神経活動の記録は片側の舌下神経から吸引電極を用いて行い、同側の迷走神経を電気刺激することによって嚥下様活動を誘発した。誘発された嚥下様活動に自発呼吸インターバルの延長が伴うことを確認し、呼吸活動、嚥下様活動が安定した条件下で実験を行った。専用ソフトウェアによって記録・解析し、投与前後において嚥下様活動、呼吸活動それぞれの活動時間(Duration)、活動最大振幅(Amplitude)を検討した。また呼吸活動に関しては呼吸インターバルや嚥下活動時の呼吸インターバルの延長、嚥下様活動に関しては潜時(Latency)や連続電気刺激に対する嚥下様活動の発現頻度も併せて検討を行った。

(3) 咀嚼・嚥下メカニズム崩壊についての検討

咀嚼・嚥下メカニズムは高齢化とともに崩れていく。動物とくにラット・マウスでは崩れにくく

実験していく過程で違和感があった。筋委縮性 側索硬化症 (ALS) という病気がある。筋肉がだんだん痩せて力がなくなっていく難病である。しかし筋ではなく神経系の異常で動かなくなっていることが明らかとなっている。ALS は咀嚼・嚥下も障害される。加齢に伴って崩れていくことを確認できた。そこで実験には正常ラットではなく ALS マウスを用いて研究した。ALS マウスは生下直後では顎運動系に異常は見られず、生存と共に正常な咀嚼 嚥下が崩れていく。この正常から咀嚼・嚥下が崩れていくメカニズムを分析することに変更した。

4. 研究成果

(1) 感覚障害が口腔機能の出力統合に及ぼす影響

二条件下のラットを比較すると摂食開始までの時間は鼻腔感覚を低下させると有意に短縮し (鼻腔感覚低下群 16 min, Control 群 100 min) 摂食率も上昇した (鼻腔感覚低下群 9 mg/s, Control 群 7 mg/s) 。

また 2 gr ペレットの咀嚼回数は鼻腔感覚低下により減少した。鼻腔感覚低下群 1,020 回、Control 群 1,350 回) 咬筋からの筋活動記録ではキンモクセイ感覚時の咀嚼準備期と粉碎期の交替性の規則の乱れが感覚低下により消失し。さらに感覚低下群では咀嚼準備期では筋活動振幅の増大、パーストインターバルの短縮、パースト発生頻度の減少がみられた。粉碎機でも筋活動振幅の増大、パースト持続時間の延長、パースト発生頻度の増大がみられた。鼻腔感覚を低下させるとキンモクセイを嗅がせても摂食量の減少や摂食率の減少、摂食開始時間の延長は見られなくなった。

(2) 延髄縫線核が嚥下様活動に及ぼす影響

スライス標本の不確縫線核の尾側または吻側への異なるカリウム濃度の人工脳脊髄液の投与

スライス標本上の延髄縫線核に、カリウム濃度を 5mM、11mM に調整した人工脳脊髄液を尾側または吻側より局所投与し、投与前後での嚥下様活動、呼吸活動を比較、検討した。スライス標本の尾側から不確縫線核にカリウム濃度の高い人工脳脊髄液を局所投与することで、標本内の舌下神経から記録される呼吸活動と嚥下様活動の発現閾値は低下し、また活動最大振幅、活動時間は増加した。同様に不確縫線核へカリウム濃度の低い人工脳脊髄液を局所投与した場合は、標本内の舌下神経から記録される呼吸活動及び嚥下様活動の発現閾値は増加し、また活動最大振幅、活動時間は低下した。不確縫線核へ吻側からカリウム濃度を調整した人工脳脊髄液を局所投与した場合は、尾側から局所投与した際と同じように呼吸活動は活動性が変化したが、嚥下様活動については活動性の変化は認めなかった

上記実験前に 5-HT_{1A} 受容体拮抗薬 (WAY-100635) をチャンパー内投与

事前に 5-HT_{1A} 受容体拮抗薬 (WAY-100635) (10 μM) をチャンパー内投与した後に、異なるカリウム濃度の人工脳脊髄液によって不確縫線核の活動性を変化させると、嚥下活動の活動振幅、活動時間および活動頻度いずれも、で認めた変化が統計学的有意に抑制された。不確縫線核にカリウム濃度を調整した人工脳脊髄液を局所投与することで呼吸活動の活動性が変化したことに対して、尾側から局所投与を行ったときのみ嚥下様活動の活動性に変化が認められたことから、スライス標本の吻側のレベルに位置する不確縫線核は呼吸活動を、標本の尾側レベルにおける不確縫線核は嚥下活動の発現を制御している可能性が示唆された。不確縫線核はスライス標本内の 5-HT_{1A} 受容体を介して嚥下活動を制御している可能性が示唆された。

(3) 咀嚼・嚥下系の崩壊

咀嚼嚥下が崩れる原因分析として ALS マウスを用い脳幹標本作製し、三叉神経運動ニューロンおよび三叉神経中脳路核のどのような異常が起こるかを分析した。その結果、ALS においては体重の減少は咀嚼障害の期間と同期し、体重減少が咀嚼障害によるものであることが認められた。また摂食の総量減少はしておらず、咀嚼時間の延長をもたらす結果として、体重の減少を招くという予想外の結果となった。これは咀嚼機能障害のため摂食物が完全に咀嚼しきれない状態で嚥下に移行していることが推察された。また isolated brainstem preparation ではチャンパーへの bath application で BIC + NMDA にて通常誘発される三叉神経運動根からのリズムカル活動（咀嚼様運動）は ALS マウスでは記録されなかった。三叉神経運動核に伝達されるはずの咀嚼運動様リズムがその前の段階 premotoneuron の段階で崩壊していることがうかがわれた。以上の結果はカナダ・バンクーバーで開催された the 25th International Congress of Oral and Maxillofacial Surgery において発表し評価を得た。結論として中枢における咀嚼リズム形成は Motoneuron の直前で形成され、嚥下ネットワークの包括的にコントロールされていると思われた。今後さらに深化した解析が可能となった。ALS マウスは咀嚼研究に有用な対象動物であることも併せて明らかとなった。なお ALS マウスでの嚥下の研究は嚥下様運動誘発条件が難しく、嚥下の起点自体に工夫を要するか、そこに病的状態が起こると考えられた、さらなる研究を続ける予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kitaoka Y, Seki S, Kawata S, Nishiura A, Kawamura K, Hiraoka SI, Kogo M, Tanaka S.	4. 巻 15
2. 論文標題 Analysis of Feeding Behavior Characteristics in the Cu/Zn Superoxide Dismutase 1 (SOD1) SOD1G93A Mice Model for Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1651
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu15071651	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Seki Soju, Kitaoka Yoshihiro, Kawata Sou, Nishiura Akira, Uchihashi Toshihiro, Hiraoka Shin-ichiro, Yokota Yusuke, Isomura Emiko Tanaka, Kogo Mikihiro, Tanaka Susumu	4. 巻 11
2. 論文標題 Characteristics of Sensory Neuron Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): Potential for ALS Therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 2967 ~ 2967
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines11112967	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 北岡 好大, 関 壮樹, 川田 創, 西浦 輝, 平岡 慎一郎, 田中 晋, 古郷幹彦
2. 発表標題 AIを用いたALSモデルマウスの咀嚼運動解析と体重減少との関係
3. 学会等名 第67回日本口腔外科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshihiro Kitaoka, Soju Seki, Mikihiro Kogo
2. 発表標題 ANALYSIS OF FEEDING BEHAVIOR CHARACTERISTICS OF ALS MICE MODEL
3. 学会等名 25th ICOMS 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田中 晋 (Tanaka Susumu) (00367541)	大阪大学・大学院歯学研究科・教授 (14401)	
研究分担者	山西 整 (Yamanishi Tadashi) (20397780)	大阪大学・大学院歯学研究科・招へい教員 (14401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	関 壮樹 (Sekii Soju)		
研究協力者	北岡 好大 (Kitaoka Yoshihiro)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------