

機関番号：14401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21791804

研究課題名 (和文) 精密な咬合力発揮に関与する運動単位動員機構

研究課題名 (英文) Recruitment of masseter motoneurons by the presumed spindle Ia inputs.

研究代表者

佐藤 元 (SATO HAJIME)

大阪大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：10432452

研究成果の概要 (和文)：

本研究では、まず、ラット中脳路及び咬筋運動核を含むスライス標本を作成し、その中脳路を電気刺激することにより、咬筋運動ニューロンの序列動員が起こることを光学的膜電位測定法を用いて明らかにした。次に、ヒトにおいて、下顎に単調増加する負荷を与え、サイズの原理に従った運動単位の動員を実現し、咬筋の等尺性収縮時に歯根膜及び筋紡錘一次感覚入力が運動単位の序列動員機構を修飾しうることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：

Voltage-sensitive dye imaging revealed the recruitment of many MNs in the whole nucleus of masseter in response to repetitive stimulation at 100 Hz of the presumed spindle Ia inputs, which is visible in the slices that were obtained by cutting the brainstem at 15° tilted rostrally from the coronal plane. Illusion caused by vibration of primary sensory endings in human revealed a critical involvement of Ia inputs in regulating the orderly recruitment of masseter muscles.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：口腔生理学、電気生理学

1. 研究開始当初の背景

咬合力の調節には、咬筋の筋紡錘や歯根膜からの感覚情報が関与する (Morimoto et al. 1989; Hidaka et al. 1997)。しかし、歯根膜の無い無歯顎者においても、義歯やインプラントを装着することにより咬合力調節が行われていることから、筋紡錘からの感覚情報がより重要な役割を果たすと考えられて

いる。身体の中で特に精密なコントロールが要求される指や首の筋肉でも、筋紡錘1個に含まれる錘内筋線維が10本前後であるのに対し、咬筋筋紡錘では最大36本であるとの報告がある (Eriksson et al., 1994)。したがって、咬筋筋紡錘からの感覚情報が、極めて精密な筋収縮力の調節に関与している可能性が示唆される。

筋収縮力の調節機構には、単一運動ニューロンとそれが支配する筋線維集団から構成される運動単位をサイズの原理に従って動員する機構 (Henneman 1957; Henneman et al. 1965) と、筋収縮活動に参加する運動ニューロンの発火頻度を調節する機構 (Henning et al. 1985; Bakels et al. 1993; Binder et al. 1993) の二つがあげられる。筋収縮力の増減において、これら二つの機構の相対的役割が個々の筋群によって大きく異なることが知られている (DeLuca et al. 1982) が、咬筋において、その詳細は明らかにされていない。

随意運動中のサイズの原理に従った運動単位の動員機構は、伸張反射経路を活性化することにより生じると考えられている。咬筋では、筋紡錘由来の Ia 感覚線維から α 運動ニューロンへ入力するシナプスの伝達効率が四肢筋に比べて極めて低く設定されている (Bae et al. 1996; Dessem et al. 1997)。そのため、咬筋筋紡錘 1 個に含まれる多数の「錘内筋線維—らせんセンサー」複合体から発生したインパルス群によるシナプス入力の時間的加重により、 α 運動ニューロンを個別に活性化する伸張反射回路になっていると考えられる。逆に、四肢筋では、「錘内筋線維—らせんセンサー」複合体から発生したインパルスを筋紡錘由来の Ia 感覚線維— α 運動ニューロン間の多数のシナプスの空間的加重により、 α 運動ニューロンを活性化する伸張反射回路になっていると考えられる。したがって、咬筋では四肢筋に比べ、 α 運動ニューロンの序列に従った動員をより微細に行うことができ、極めて精密な筋収縮力の調節が可能となっている可能性が示唆される。

四肢や体幹の運動は、例えば野球バットやテニスラケットを振る等といった運動に代表される様に、動作距離が大きい等張性収縮運動の要素が強い。それに対し、咀嚼運動時の顎の可動範囲は四肢の運動に比べて極めて小さく、実際に咀嚼力が発揮される「噛みしめ」時には、顎はほとんど動いておらず、準等尺性収縮運動と見なすことができる。等尺性収縮時の伸張反射回路の活性化には、 γ 運動ニューロンの活動が必須である。通常、小脳は筋の固有感覚情報を受け取り、 γ 運動ニューロンへの出力を計算すると考えられている。「噛みしめ」時の咬合力の調節には、歯根膜機械受容器と咬筋筋紡錘の両方の活動が小脳に送られていると考えられるが、両者の間にある相関関係が小脳の内部モデルとして存在しており、それをもとに、 γ 運動ニューロンへの出力が計算され、伸張反射回路の活性化が行われている可能性が示唆される。

2. 研究の目的

本研究では「噛みしめ」時の咬合力の調節に関与する運動単位動員機構を明らかにするため、(1) 咬筋運動ニューロンプールにおける運動ニューロン動員の有無、(2) 「噛みしめ」時の運動単位の序列動員における歯根膜及び筋紡錘求心性神経の役割、の二点を明らかにすることを目的とする。伸張反射経路の活性化によるヒト咬筋運動ニューロンの動員を直接観察することは不可能である。そこで、本研究では、まず、ラット中脳路及び咬筋運動核を含むスライス標本を作成し、その中脳路を電気刺激することにより、咬筋運動ニューロンの序列動員が起こるかどうかを光学的膜電位測定法を用いて明らかにする。次に、ヒトにおいて、下顎に単調増加する負荷を与え、サイズの原理に従った運動単位の動員を実現し、咬筋の等尺性収縮時に歯根膜及び筋紡錘一次感覚入力が運動単位の序列動員機構を修飾しうるか否かを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 光学的膜電位測定法による序列動員の解析

ラット中脳路及び咬筋運動核を含むスライス標本 (冠状面を吻側方向に 15 度傾斜させた切片) を作成し、その中脳路を電気刺激 (タングステン刺激電極) することにより、運動ニューロンの序列動員が起こるかどうかをテストした。運動ニューロンの動員をモニターする方法として、本研究では、光学的膜電位測定法を用いた。

(2) 筋振動刺激による運動単位の動員への影響

筋に 80~120Hz の振動刺激を与えると、筋紡錘由来の Ia 感覚線維を活性化することにより、咬筋筋紡錘の活動を選択的に変調させることができる (Goodwin 1978; Kito et al. 2006)。そこで、咬筋腱部に 80Hz の振動刺激を与え、運動単位の動員および頻度にどのような影響を与えるか検討した。

① 負荷装置

咬合力発揮時に、サイズの原理に従った運動単位の動員を実現させるために、負荷が単調増加する増張力性負荷装置を使用した。カスタムメイドの等増張力性負荷装置では、無段階変速モーターがワイヤーで上板と下板に接続され、下板上面におもりが付与されている。おもりは下顎プレートに固定されているバネ ($k=0.1$) に接続されており、バネを介して下顎プレートに連結されている。そのため、下板の降下に従いバネが伸張し、咬筋に一定速度で単調増加する Ramp 負荷がかかることになる。

② 負荷条件、測定装置

本実験ではおもりを 0.5kg~10.0kg、降下

速度 2.5mm/s~7mm/s の範囲内で用いた。表面記録電極は、咬筋浅部の筋腹中央に筋の走行に沿って貼付し、双極誘導にて筋電図の導出を行った。また、下顎の位置を CCD レーザー変異計にて、また、おもりの降下位置はポテンシオメーターにて、さらに負荷および咬合力をロードセルにて測定した。

4. 研究成果

(1) 三叉神経中脳路核 (MTN) および三叉神経運動核 (TMN) を同時に含むラット脳幹スライス標本を作成し、膜電位感受性色素 RH414 を負荷した上で、TMN の背内側部に置いた刺激電極で 100Hz、10 発の連続微小刺激を与え、TMN ニューロンプールの興奮を光学的に測定した。連続する刺激列の後ろへ行く程、TMN 背外側部閉口筋運動ニューロンプールに観察される応答 (光学信号) の領域は大きくなり、最終的には TMN 背外側部全体にわたった。このことから、MTN からの興奮性入力 は閉口筋運動ニューロンプール全体を支配し、閉口筋運動ニューロンの動員は Ia 入力の時間的加重によって引き起こされる可能性が示唆された。

(2) TASK 型漏洩 K⁺ チャンネルを制御する 8-Br-cGMP に対する TMN ニューロンプールの興奮を光学的に測定した。8-Br-cGMP を灌流投与すると、TMN の背内側部の連続刺激によって引き起こされた閉口筋運動ニューロンプールの興奮強度は増大し、興奮が TMN 背外側部全体に広がるまでの時間は短縮した。このことから、NO-cGMP-PKG 系の活性化によって TASK チャンネルが制御されることで細胞の入力抵抗が変化し、運動ニューロンの動員様式が修飾される可能性が示唆された。

(3) 一定速度で増減するランプ負荷に対抗することにより生じる咬筋の等尺性収縮運動中に、咬筋に振動刺激を与えて Ia 線維の活動を変調した時の咬筋筋活動を測定した。咬筋に振動刺激を与えると、負荷の増加に伴い咬筋筋活動が不規則に増加し、単位負荷あたりの筋電図 RMS の増加量が有意に高い値を示した。また、負荷の減少に伴い咬筋筋活動量の解除が遅延し、負荷をゼロにしても咬筋筋活動が持続した。こうした所見は、振動刺激が咬筋の等尺性収縮の調節機構に影響を与えていることを示しており、H-反射回路が咬筋の等尺性収縮に関与する可能性を強く示唆している。また、負荷-RMS 関係の近似直線の傾きは、被験者間で大きく異なり、振動刺激の影響も、被験者によりばらつきが認められた。統計解析の結果、噛みしめ運動が効率よくおこなえない被験者の方が、振動刺激の影響が少なく、噛みしめ運動学習をよく習得している被験者ほど、振動刺激の影響が大

きいことが明らかとなった。このことは、幼少期における「噛みしめ」運動学習の過程で、筋紡錘感覚と歯根膜感覚を初めとする他の感覚との関連付けが小脳で行なわれ運動学習が成立した可能性を示唆している。従って、こうした個人差は被験者間の食習慣の差異に起因する可能性が高い。

そこで、チューインガムによる噛みしめ運動への影響を調べた。チューインガム咀嚼を 3~5 分間おこなった直後に負荷実験を行なうと、期待に反して、噛みしめ運動学習をよく習得している被験者に対しては、振動刺激と同様の効果をもつことが明らかとなった。しかしながら、これは、実験装置により引き起こされた受動的等尺性収縮運動の調節と、チューインガム咀嚼のような能動的等尺性収縮運動の調節の切り替えに伴う錯覚現象によるものと理解され、極めて重要な所見であると考えられる。

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 3 件)

- ① Toyoda, H., Saito, M., Okazawa, M., Hirao, K., Sato H., Abe H., Takada K., Funabiki K., Takada M., Kaneko T. & Kang, Y. PKG dynamically modulates TASK1-mediated leak K⁺ currents in cholinergic neurons of the basal forebrain. *The Journal of Neuroscience*. 30(16), 5677-5689 (2010). 査読有
- ② Kang, Y., Saito, M., Toyoda, H. & Sato, H. Rank-ordered recruitment of masseter motoneurons. *Journal of Oral Biosciences*. 52(4) 330-335 (2010). 査読有
- ③ Saito, M., Toyoda, H., Sato, H., Ishii, H. & Kang, Y. A rapid use-dependent downregulation of GABA(A) receptors in rat mesencephalic trigeminal neurons. *Journal of Neuroscience Research*. 87(14), 3120-3133 (2009). 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① Sato H., Kawakami S, Toyoda H, Saito M, Bae YC, Kang Y: Electrophysiological properties of capsaicin-induced currents in layer II/III and layer V pyramidal cells of the insular cortex, Neuroscience 2010, 2010 年 11 月 15 日, San Diego USA.
- ② 佐藤元, 豊田博紀, 齋藤充, 姜英男: カプサイシン投与により島皮質において誘発される network oscillation, 第 103 回 近畿生理学談話会, 2010 年 10 月 2 日, 大阪.
- ③ Sato H., Saito M, Toyoda H, Kang Y. PKG

modulates the recruitment of masseter motoneurons caused by the presumed spindle Ia inputs. NEUROSCIENCE 2009, 2009年10月21日, Chicago, USA.

- ④ Sato H, Saito M, Toyoda H, Kang Y. Recruitment of masseter motoneurons by the presumed spindle Ia inputs. IUPS 2009, 2009年7月30日, Kyoto, Japan.

[図書] (計2件)

- ① Kang Y, Saito M, Toyoda H, Sato H: Recruitment of masseter motoneurons by the presumed spindle Ia inputs, *In: Breathe, Walk and Chew - The Neural Challenge: Part I (Progress in Brain Research, Vol. 187)* (Gossard JP, Dubuc R, Kolta A, Eds.), Elsevier, Amsterdam, pp. 163-172, 2010. (IF = 2.491)
- ② Kang Y, Toyoda H, Saito M, Sato H: Recruitment of masseter motoneurons by spindle Ia inputs and its modulation by leak K^+ channels, *In: Interface Oral Health Science 2009* (Sasano T, Suzuki O, Eds.), Springer, Tokyo, pp. 60-68, 2010.

[その他]

ホームページ等

<http://www.dent.osaka-u.ac.jp/graduate/course/phys.html>

<http://web.dent.osaka-u.ac.jp/~phys/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 元 (SATO HAJIME)

大阪大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：10432452