

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：32622
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23792131
 研究課題名（和文） 咀嚼における下顎と表情筋の協調運動に関与する神経回路の解析
 研究課題名（英文） Properties of the neural circuit involved in coordination of mastication movements
 研究代表者
 西村 晶子（NISHIMURA AKIKO）
 昭和大学・歯学部・助教
 研究者番号：00551227

研究成果の概要（和文）：咀嚼時の下顎・頬・口唇の協調運動を制御する神経機構が未だ明らかでないことから、本研究では三叉神経運動核および顔面神経核に出力を送るプレモーターニューロンの存在領域について検証した。光学的膜電位測定法およびパッチクランプ法を用いた電気生理学的検証により、顔面神経核背側の網様体に閉口筋・開口筋運動ニューロンおよび表情筋運動ニューロンへ出力を送る神経細胞が存在し、咀嚼の協調運動制御に関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Properties of the neural circuit involved in coordination of mastication movements is not clear. The aim of present study was to investigate synaptic transmission from the reticular formation dorsal to the facial nucleus to trigeminal and facial motoneurons using voltage-sensitive dye, laser photostimulation and patch-clamp recordings. Our results suggest that inputs from the reticular formation dorsal to the facial nucleus to trigeminal and facial motoneurons influence the coordination of mastication movements.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 咀嚼運動は脳幹に存在する咀嚼のパターンジェネレーターと呼ばれる神経回路が、下顎運動とそれに協調した舌・頬・口唇の運動指令を形成することで行われると考えられているが、その詳細はほとんど明らかにされていない。

(2) 研究代表者の西村は、これまでに開口筋・閉口筋運動ニューロンに inputs するプレモーターニューロンが存在する顔面神経核背側の網様体の領域から、三叉神経運動核以外にも出力が送られることを発見した。

2. 研究の目的

本研究では、顔面神経核背側の網様体領域からの出力が、咀嚼筋を支配する三叉神経運動核や表情筋を支配する顔面神経核など複数の領域に送られることから、顔面神経核背側網様体に咀嚼筋運動ニューロンおよび表情筋運動ニューロンにシナプス結合するプレモーターニューロンが存在することを明らかにし、咀嚼運動における協調運動制御機構を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 新生仔ラットから三叉神経運動核および顔面神経核を含む矢状断脳幹スライス標本を作製し、顔面神経核背側で三叉神経運動核尾側の領域から両運動核に出力が送られることを、光学的膜電位測定法を用いて確認する。

(2) (1)で確認された顔面神経核背側網様体領域の電気刺激が、三叉神経運動核の開口筋・閉口筋運動ニューロンおよび顔面神経核の表情筋運動ニューロンに電位・電流応答を誘発することを、パッチクランプ法を用いて確認する。また、各運動ニューロンへの入力がある同一の顔面神経核背側網様体ニューロンからの入力であることを確認するため、シナプス入力の同期性を複数の運動ニューロンからの同時パッチクランプ法で検証する。

(3) 咀嚼筋運動ニューロンおよび表情筋運動ニューロンに出力を送るニューロンの細胞体が顔面神経核背側網様体に存在することを確認するため、Caged グルタミン酸を用いたレーザーによる光刺激で明らかにする。

4. 研究成果

(1) 新生仔ラットから作製した三叉神経運動核 (MoV) および顔面神経核 (MoVII) を含む矢状断脳幹スライス標本において光学的膜電位測定を行うと、三叉神経運動核の尾側で顔面神経核の背側にあたる顔面神経核背側網様体 (RdVII) の電気刺激により、約 6ms 後に両運動核で光学的応答が誘発されることが確認された。つまり RdVII には MoV および MoVII にシナプス入力を送り両運動核からの運動指令を協調させる神経機構が存在する可能性がある。

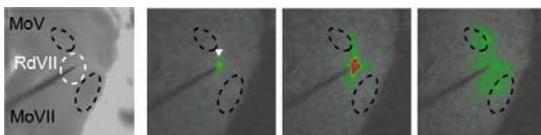


図 1 顔面神経核背側網様体 (RdVII) から三叉神経運動核 (MoV) および顔面神経核 (MoVII) への入力

RdVII の電気刺激により約 6ms 後に、MoV および MoVII に光学的応答が誘発された。

(2) (1) で確認された光学的応答が RdVII から両運動核の運動ニューロンへのシナプス入力であることを確認するため、三叉神経運動核の閉口筋・開口筋運動ニューロンおよび顔面神経核の表情筋運動ニューロンより

パッチクランプ測定を行い、RdVII の電気刺激によって誘発される電位・電流応答を測定した。また複数の運動ニューロンから同時にパッチクランプ記録を行い、RdVII 刺激で誘発される応答の同期性についても検証した。

各運動核の支配筋に蛍光色素を注入し、逆行性に運動ニューロンを同定してパッチクランプ測定を行った。刺激電極の位置は (1) での結果を参考に設置した。同時記録した全ての組み合わせで応答誘発閾値が異なり、単一の電気刺激に対する同期性が認められなかったことから、両運動ニューロンにシナプス入力を送る領域は RdVII のなかで近接して存在するものの、同一の領域からの入力ではないことが示唆された。

つまり MoV および MoVII に出力を送るプレモーターニューロンは RdVII 内にそんざいするものの、同一のニューロンから複数の運動ニューロンに入力するわけではないと考えられる。また電気刺激では刺激部位に存在する細胞体だけでなく軸索や神経繊維なども同時に刺激するため、運動ニューロンに入力するニューロンの細胞体が RdVII 領域に存在することを確認する必要がある。

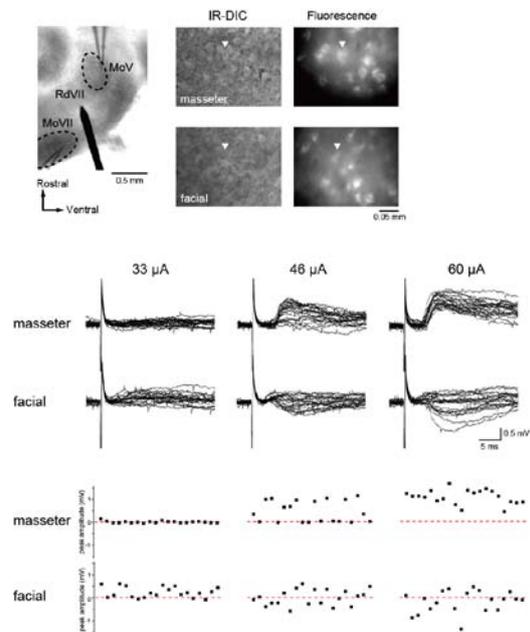


図 2 閉口筋運動ニューロン (MMN) および表情筋運動ニューロン (FMN) からの同時パッチクランプ記録

咬筋および表情筋から逆行性に同定された閉口筋運動ニューロン (MMN) および表情筋運動ニューロン (FMN) (上図▽で示す) からの同時パッチクランプ記録。下図は 33 μ A・46 μ A・60 μ A の電気刺激を各 20 回施行した際の電位波形と各施行での最大振幅。FMN のシナプス後電位を誘発する RdVII 電気刺激の閾値が 33 μ A であるのに対し、MMN の応答誘発閾値は 46 μ A であった。

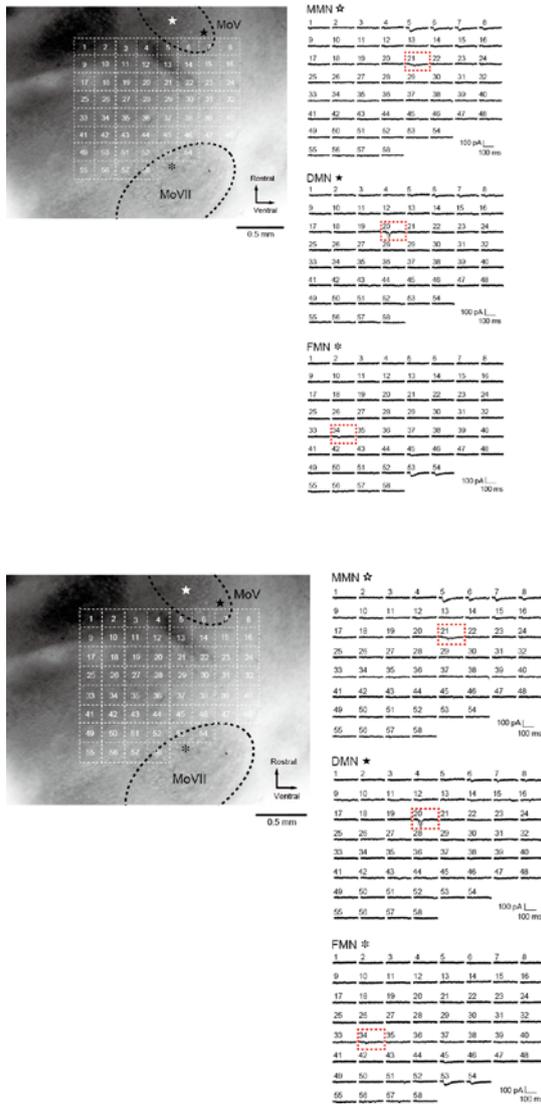


図3 顔面神経核背側網様体(RdVII)のCagedグルタミン酸刺激で誘発された閉口筋運動ニューロン(MMN)・開口筋運動ニューロン(DMN)・表情筋運動ニューロン(FMN)のシナプス後電位

あらかじめCagedグルタミン酸を還流投与した脳幹スライス標本に、MoV および MoVII を一部含めた RdVII 領域を $50\mu\text{m}$ 四方の 58 領域に分割して各領域の中央にレーザー照射を行い、グルタミン酸を乖離することで局所的な刺激を行った(左図)。各領域をレーザー照射した際の MMN・DMN・FMN に誘発されたシナプス後電位(右図)。

(4) (3) で測定された結果をもとに、MMN・DMN・FMN に入力するそれぞれの RdVII プレモーターニューロンの存在領域を検討したところ、対応する運動ニューロンごとに近接して存在し、分布領域にはある程度の局在性が認められた。つまり、RdVII ニューロンは上位中枢からの入力を受けて運動ニューロン活動を制御している可能性が高く、各運動ニューロン活動の同期や協調は RdVII より上位

で制御されている可能性が示唆された。

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 2 件)

(1) Nakazawa H, Nshimura A, Suga K, Mishima T, Yorozu T, Iijima T. FRET-based evaluation of Bid cleavage in a single primary cultured neuron. *Neurosci Lett*. 2012 Dec 20. (査読有)

(2) Nonaka M, Nishimura A, Nakamura S, Nakayama K, Mochizuki A, Iijima T Inoue T. Convergent Pre-motoneuronal Inputs to Single Trigeminal Motoneurons. *J Dent Res* 91(9) 2012 (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

①下顎・頬・口唇の協調運動に関与する神経回路の解析

西村晶子、中村史朗、野中睦美、飯島毅彦、井上富雄

Journal of Oral Biosciences; 53:142(2011)

②三叉神経運動ニューロンには三叉神経運動核周囲の様々な部位からの入力収束する

野中睦美、西村晶子、中山希世美、中村史朗、望月文子、飯島毅彦、井上富雄

第 47 回日本顎口腔機能学会学術集会プログラム抄録集, 18-19(2011)

③Electrophysiological and morphological properties of premotor neurons targeting jaw-closing and jaw-opening motoneurons Inoue T, Nakamura S, Gemba-Nishimura A, Nonaka M, Yoshida A, Mochizuki A and Nakayama K

Society for Neuroscience's 40th annual meeting(2011)

[図書] (計 0 件)

[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 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西村 晶子 (NISHIMURA AKIKO)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：00551227

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし