

平成 29 年 4 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293391

研究課題名(和文)新発見された前頭前皮質-中脳路核路と口腔顔面感覚、顎運動、ストレスとの関連の解明

研究課題名(英文) Study on relation of projection from the prefrontal cortex to the trigeminal mesencephalic nucleus, to processing of orofacial sensations, jaw-movements, or responses to stressful stimuli

研究代表者

吉田 篤 (Yoshida, Atsushi)

大阪大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：90201855

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：ラットを用いて、咀嚼筋紡錘の自己受容感覚が、三叉神経中脳路核(Vmes)ニューロンによって三叉神経上核(Su5)に伝達された後、反対側の視床後内側腹側核の尾腹内側縁(VPMcvm)に伝達される事が明らかになった。更に、島皮質に伝達される可能性が示された。上行して島皮質に伝達された咀嚼筋紡錘感覚が、我々が既に報告している前頭前皮質からVmesへの下行路によってfeedbackコントロールを受け得ることを示している。このfeedbackコントロールは拘束ストレスや痛みストレスの負荷時に働くことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Our present study has revealed in the rat that the proprioceptive information from muscle spindles of masticatory muscles is conveyed to the supratrigeminal nucleus by the trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) neurons, and, then, contralaterally to the caudo-ventromedial margin of the ventral posteromedial thalamic nucleus, and has suggested the possibility that it finally reaches to the insular cortex. These findings suggest that the proprioceptive information from the masticatory muscle spindles ascending to the insular cortex can receive the feedback control by the descending direct projection from the prefrontal cortex (including the insular cortex) to the Vmes, which has been demonstrated in our previous study. The present study has also indicated the possibility that this feedback control works when the animals receive immobilization stress or pain stress.

研究分野：脳神経解剖学

キーワード：脳 神経 解剖 歯学 咀嚼 大脳皮質 神経トレーサー ラット

1. 研究開始当初の背景

口腔顔面感覚と運動の発現およびその制御と、ストレスや情動、自律神経活動、認知、学習などの機能を担っている前頭前皮質との関連は、その脳内神経機構の研究が始まったばかりである。痛みがストレスや情動、血圧などの自律神経機能に影響していることは臨床的にも有名である。前頭前皮質の帯状回や無顆粒性島皮質が痛みに関与することも明らかになっている。我々も、前頭前皮質の顆粒性島皮質および不全顆粒性島皮質、背側脚皮質が口腔顔面痛が入力する三叉神経感覚核に直接投射して関与することを報告した (Haque et al. 2012, Neuroscience; Tomita et al., 2012, Neuroscience)。

三叉神経中脳路核ニューロンは、歯根膜と閉口筋の深部感覚を伝達する感覚ニューロンである。野球選手が試合中にガムを噛んでいるが、咬むことで歯根膜感覚と咀嚼筋感覚が意識的または無意識的に賦活され、ストレスに関与する前頭前皮質を含む上位脳に影響を与える可能性が指摘されている。持続的な咬合よりなるブラキシズムが、ストレスの発散として行われているとの考えもある。しかし、ブラキシズムの発現に、ストレスに関わる前頭前皮質を含む上位脳がどのように関わるのかは良くわかっていない。また、歯科臨床で重要な咬合違和感 (phantom bite syndrome, occlusal dysesthesia) も前頭前皮質を含む上位脳が影響していると言われている。咬合違和感の治療に抗うつ薬が有効であることはその可能性を支持している。しかし、三叉神経中脳路核ニューロンが伝達する歯根膜感覚と咀嚼筋感覚が、視床や前頭前皮質のどこに伝達されるのかさえ不明なままであり、ストレスと関連する脳内神経機構もよくわかっていない。

2. 研究の目的

三叉神経中脳路核ニューロンは、一次求心性神経でありながら細胞体が脳内に位置するので、その細胞体上で脳内の他のニューロンからの入力を受容し得る点で、極めて特異である (Yoshida et al., 1999, J Comp Neurol)。縫線核、扁桃体な

どからの入力は知られていたが、大脳皮質からの入力は否定されていた。しかし我々は、「大脳皮質に伝達される体性感覚は、その皮質部位からの下行路によって直接的にフィードバックコントロールされる」という一般原則 (Haque et al.: Tomita et al., 2012) を信じて調べ直した所、前頭前皮質-三叉神経中脳路核路の存在を見つけた (Iida et al., 2010)。驚くべきことに、三叉神経中脳路核ニューロンは歯根膜感覚と咀嚼筋感覚 (体性感覚の一種) を伝達し、閉口反射 (体性反射の一種) を起こすにもかかわらず、大脳皮質の体性感覚運動領野からではなく、前頭前皮質からの直接投射を受けていた。これらの結果から我々は、三叉神経中脳路核ニューロンが担う歯根膜と閉口筋の深部感覚の上位脳への伝達と下顎運動の発現は、ストレスや情動、自律神経活動、認知、学習などにより高次の脳機能を司る前頭前皮質によって直接制御されている可能性が高いことに気づき、これを証明する本研究を企画した。

新しい神経回路 (前頭前皮質-三叉神経中脳路核路, Iida et al., 2010) の特性とその機能、特にストレスとの関連を解明するため、具体的に次の項目を明らかにすることを目的とした。(1)咀嚼筋感覚と歯根膜感覚を伝達する一次求心性神経の脳幹投射部位の解明 (2)咀嚼筋感覚を伝達する三叉神経-視床路の形態学的ならびに電気生理学的解明。(3) (2) の三叉神経-視床路と他の口腔顔面感覚を伝達する三叉神経-視床路との比較。(4)咀嚼筋感覚が伝達される大脳皮質部位の同定。(5)前頭前皮質-三叉神経中脳路核路がストレス時に働くことの解明、である。

3. 研究の方法

ラットを用いる。大阪大学歯学研究科動物実験委員会の承認を得て行う。実験はin vivo で、塩酸ケタミン (+塩酸キシラジン) 投与下で行う。ホルマリン灌流固定前の麻酔はペントバルビタールの大量投与を行う。

実験 : 咬筋神経または下歯槽神経、舌神経の電気刺激、閉口筋の圧迫と開口、歯冠の圧迫と軽打に対する応答を、橋に刺入したガラス管微小電

極から細胞外記録し、三叉神経中脳路核ニューロンの橋延髄内の投射部位をマッピングする。記録後に動物を灌流固定した後、凍結連続切片を作成する。切片をNissl染色して記録部位を細胞構築学的に同定する。得られた生理学的データを統合し、三叉神経中脳路核ニューロンの中核投射部位である三叉神経上核の同定法を確立する。

実験：形態学的：同定された三叉神経上核に、順行性神経トレーサーであるBDA (biotinylated dextranamine) を充填したガラス管微小電極を刺入し、電気泳動にてBDA を注入する。注入の5日後に深麻酔下でホルマリンにて灌流固定し、脳を摘出し切片を作成する。BDA 標識された神経を免疫組織反応にて可視化後、顕微鏡下で観察し、視床内の標識終末を検索する。

電気生理学的：形態学的に明らかになった三叉神経上核から視床への投射部位が、咬筋筋紡錘の感覚が入力する部位であることを明らかにするため、ガラス管微小電極を視床に刺入し、咬筋神経の電気刺激および閉口筋の圧迫と開口時の視床ニューロンの応答を細胞外記録する。強く応答する部位を捜す。記録部位にガラス電極から HRP を注入する。灌流固定し、脳を摘出し、脳切片を作成する。DAB 反応を行って注入された HRP を DAB 反応にて可視化した後、Nissl 染色を施す。HRP 注入部位と電極痕から、上記の強い応答が記録された部位を同定する。

実験：逆行性神経性トレーサー (FG) の注入：実験 で明らかになった視床部位に投射するニューロンの分布を明らかにするため、ガラス電極を視床に刺入し、実験 に記載した電気生理学的方法にてこの視床部位を同定した後、その部にFGを注入する。その5日後に灌流固定し、脳を摘出し、脳切片を作成する。FG抗体を用いた免疫反応とABC法にて標識細胞を可視化し、その三叉神経上核と三叉神経感覚核およびその周囲での分布を検索する。

順行性神経性トレーサー (BDA) の注入：他の口腔顔面感覚を伝達する三叉神経-視床路との比較のため、ガラス電極を三叉神経主感覚核に刺入し、

舌神経の電気刺激に最も良く反応する部位にBDA を注入する。その5日後に灌流固定し、脳を摘出し、脳切片を作成する。ABC法にて標識軸索を可視化し、その視床内での分布を検索する。

実験：実験 で用いられたのと同様の方法で、BDA を充填したガラス管微小電極を刺入し、咀嚼筋筋感覚が伝達される視床部位を同定した後、その部にBDA を注入する。実験 と同様の手順で、BDA標識神経軸索を可視化し、前頭前皮質内の分布を調べる。

実験：橋の吻外側部に逆行性神経トレーサーであるFGを封入したガラス管微小電極を刺入し、咬筋神経の電気刺激で誘発される誘発電位を細胞外記録して、三叉神経中脳路核を同定する。その核内にFG を注入する。

その6日後に、ラットを拘束ケージに4 時間入れる。その後、深麻酔下で灌流固定後、脳を摘出し切片を作成する。逆行性にFG 標識されたニューロンを実験 の方法で可視化する。活性化された細胞のマーカーになるのであるc-Fos を発現しているニューロンの核をc-Fos 抗体を用いた免疫組織反応とBDA反応にて可視化する。前頭前皮質において、FGとc-Fosで二重標識されたニューロン、FGのみに標識されたニューロン、c-Fosのみに標識されたニューロンの数と分布を検索する。これらをシャムオペ群と比較する。

4 . 研究成果

実験：咬筋神経の電気刺激ならびに閉口筋の圧迫と開口運動に強く応答する部位が三叉神経上領域に認められた。この記録部位を組織学的に検討した所、我々が再定義した三叉神経上核内であった。三叉神経上核内からは下歯槽神経と舌神経の電気刺激に対する応答はほとんど記録出来なかった。以上より、ラット三叉神経上核の電気生理学的同定法が確立された。

実験：形態学的：実験 で確立された方法を用いて三叉神経上核を捜し出した後、その中にBDA を注入した。その結果、標識軸索終末が、注入と反対側優位に視床の後内側腹側核 (VPM) の尾腹内

側縁 (VPMcvm) に密に認められた。標識終末はVPMの中心部 (coreVPM) やVPMcvmの内側に接した後腹側核小細胞部 (VPPC) には認められなかった。

電気生理学的：咬筋神経の電気刺激ならびに閉口筋の圧迫と開口運動に対する応答が VPMcvm 部から記録出来たが、その周囲からは記録出来なかった。よって実験 から、VPMcvm が咬筋筋紡錘の感覚が入力する部位であることが明らかになった。この VPMcvm への咬筋筋紡錘の感覚入力、三叉神経上核からの直接投射を介したものである可能性が高いと考えられる。

実験：逆行性神経性トレーサー (FG) の注入：電気生理学的に同定された VPMcvm に FG を注入した結果、逆行性に FG 標識された細胞体は、注入と反対側の三叉神経上核に多数認められた。しかし、三叉神経主感覚核を含む三叉神経感覚核群や結合腕傍核には認められなかった。

順行性神経性トレーサー (BDA) の注入：三叉神経主感覚内で舌神経の電気刺激に应答する部位に BDA を注入した結果、注入と反対側の coreVPM 内に密な BDA 標識終末が認められたが、VPMcvm には認められなかった。VPPC にも認められなかった。

よって実験 から、咬筋筋紡錘の感覚が伝達される三叉神経上核-VPMcvm 路と、他の口腔顔面感覚が伝達されると考えられる三叉神経感覚核-coreVPM 路とは別個の経路であることが明らかになった。

実験：BDA を VPMcvm に注入した結果、BDA 標識された軸索終末が島皮質に認められた。

実験：拘束ストレスを与えたラット、拘束ストレスを与えなかったシャムオペラットのいずれにでも、島皮質に、FG と c-Fos で二重標識されたニューロン、FG のみに標識されたニューロン、c-Fos のみに標識されたニューロンが認められた。FG 標識されたニューロンに対する FG と c-Fos で二重標識されたニューロンの比率は、拘束ストレスを与えたラットがシャムオペラットに比べ高かった。

以上の結果は、前頭前皮質-三叉神経中脳路核路が拘束ストレス時に活性化されることを示唆している。上行し、情動や自律神経機構に関わる前頭

前皮質に伝達される咀嚼筋紡錘感覚は、下行する前頭前皮質-三叉神経中脳路核路によって feedback コントロールを受けている可能性が示された。

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下線)

(雑誌論文)(計 12 件)

1. Nakamura S, Nakayama K, Mochizuki A, Sato F, Haque T, Yoshida A, Inoue T. 2014. Electrophysiological and morphological properties of rat supratrigeminal premotor neurons targeting the trigeminal motor nucleus. *J Neurophysiol*, 111:1770-1782.
2. Uchino K, Higashiyama K, Kato T, Haque T, Sato F, Tomita A, Tsutsumi K, Moritani M, Yamamura K, Yoshida A. 2015. Jaw movement-related primary somatosensory cortical area in the rat. *Neuroscience* 284: 55-64.
3. Akisaka T, Yoshida A. 2015. Visualization of structural organization of ventral membranes of sheared-open resorbing osteoclasts attached to apatite pellets. *Cell Tissue Res* 360: 347-362.
4. Maegawa H, Morimoto Y, Kudo C, Hanamoto H, Boku A, Sugimura M, Kato T, Yoshida A, Niwa H. 2015. Neural mechanism underlying hyperalgesic response to orofacial pain in Parkinson's disease model rats. *Neurosci Res* 96: 59-68.
5. Kato T, Masuda Y, Miyano K, Higashiyama M, Haque T, Sato F, Yoshida A. 2015. Distinct association between the antagonistic jaw muscle activity levels and caudal activity during chewing and NREM sleep in the freely moving guinea pigs. *Neurosci Lett* 592: 59-63.
6. Kato T, Seki S, Higashiyama M, Masuda Y, Yoshida A, Kitamura S. 2015. Anatomical organization of descending cortical projections orchestrating the patterns of cortically induced rhythmical jaw muscle activity in guinea pigs. *Neurosci Res* 99: 34-45.

7. Ohara H, Tachibana Y, Fujio T, Takeda-Ikeda R, Sato F, Oka A, Kato T, Ikenoue E, Yamashiro T, Yoshida A. 2016. Direct projection from the lateral habenula to the trigeminal mesencephalic nucleus in rats. *Brain Res* 1630:183-197.
8. Fujio T, Sato F, Tachibana Y, Kato T, Tomita A, Higashiyama K, Ono T, Maeda Y, Yoshida A. 2016. Revisiting the supratrigeminal nucleus in the rat. *Neuroscience* 324: 307-320.
9. Akisaka T, Yoshida A. 2016. Ultrastructural analysis of apatite-degrading capability of extended invasive podosomes in resorbing osteoclasts. *Micron* 88:37-47.
10. S Nonoue, M Nakauchi, S Haraki, A Mikami, H Adachi, H Yatani, A Yoshida, M Taniike, T Kato 2017 Inter-scoring reliability of sleep stage scoring and sleep assessment using EEG and EOG recording system in comparison to polysomnography. *Sleep and Biological Rhythms* 15: 39-48.
11. A Yoshida, M Moritani, Y Nagase, YC Bae. Projection and synaptic connectivity of trigeminal mesencephalic nucleus neurons controlling jaw reflexes. Mini-review of the *Journal of Oral Science*, In press
12. Yoshida A, Fujio T, Sato F, Ali SMS, Haque T, Ohara H, Moritani M, Kato T, Dostrovsky JO, Tachibana Y. Orofacial proprioceptive thalamus of the rat. *Brain Struct Function*. In press.

〔学会発表〕(計 24 件)

1. Yoshida A. Cerebral cortical descending pathways modulating the orofacial sensory processing. Kyungpook-Osaka University International Symposium, 2014. Kyungpook Univ, Daegu, Korea, 2014年5月16日.
2. 佐藤文彦、加藤隆史、吉田篤 等、前頭前皮質から口腔顔面感覚が入力する三叉神経感覚核への投射、第36回日本疼痛学会 KKR ホテル大阪、大阪市 平成26年6月21日
3. 佐藤文彦、藤尾隆史、加藤隆史、吉田篤、口腔顔面感覚の三叉神経感覚核への入力を制御する前頭前皮質からの下行投射、第56回歯科基礎医学会学術大会、福岡国際会議場平成26年9月25-27日、
4. 内野勝郎、東山景一郎、加藤隆文、佐藤文彦、山村健介、吉田篤、顎運動に関与する三叉神経運動前ニューロンへの大脳皮質一次体性感覚野からの投射とその機能との関連、第56回歯科基礎医学会学術大会、平成26年9月25-27日、福岡国際会議場
5. A Yoshida, K Tsutsumi, F Sato, H Ohara, T Kato, Cerebral Cortical Projections to Trigeminal Premotoneurons Controlling Jaw-Movements, SfN Washington DC, 2014年11月15-19日
6. K. Uchino, F Sato, A Yoshida et al., Primary somatosensory cortical area inducing jaw-opening in the rat. 2014 SfN Washington DC, 2014年11月15-19日
7. K. Fujio, F. Sato, A. Tomita, M. Moritani, A Yoshida, Cerebral processing of masticatory muscle sensation. 2014 SfN Washington DC, 2014年11月15-19日
8. 内野勝郎、加藤隆史、佐藤文彦、吉田篤 等、ラット大脳皮質一次体性感覚野から三叉神経運動前ニューロンへの直接投射と顎運動との関連 第90回解剖学会近畿支部学術集会、大阪大学医学部保健学科、吹田市、平成26年11月29日
9. 吉田篤、三叉神経中脳路核ニューロンの機能(三叉神経上核との関連を含む)を形態学的に探る 昭和大学セミナー 2015年3月
10. Atsushi Yoshida, Neuronal Mechanisms Controlling Jaw-Movements in Comparison with Limb-Movements, Workshop on orofacial motor control for swallow and vocalization 大阪大学工学部、大阪府吹田市 2015 3月
11. 吉田篤、佐藤文彦、大原春香、藤尾隆史、堤香奈子、加藤隆史、Cerebral Cortical Projections to Trigeminal Premotoneurons Controlling Jaw-Movements in Rats ラット大脳皮質から顎運動に関わる運動前ニューロン解剖生理合同大会 2015年3月21-23日、神戸国際会議場、神戸市、兵庫
12. 大原春香、橘吉寿、佐藤文彦、武田理恵子、岡綾香、加藤隆史、吉田篤、外側手綱核から三叉神経中脳路核への投射とその機能、解剖生理合同大会、2015年3月21-23日、神戸国際会議場、神戸市、兵庫
13. 藤尾隆史、佐藤文彦、富田章子、池之上悦子、

- Tahsinul Haque, 吉田篤、咬筋筋紡錘感覚の脳内伝達様態の解明、解剖生理合同大会 2015年3月21-23日、神戸国際会議場、神戸市、兵庫
14. A Yoshida, F Sato, T Kato, Cerebral cortical descending pathways modulating the orofacial sensory processing in the rat trigeminal sensory nuclear complex 大阪大学歯学研究科中之島シンポジウム 2015年5月10-11日
15. 大原春香、佐藤文彦、加藤隆史、山城隆、吉田篤、外側手綱核から三叉神経中脳路核ニューロンへの直接投射、第57回歯科基礎医学会 新潟 2015年9月12-13日
16. 大原春香、佐藤文彦、加藤隆史、吉田篤、情動はどのような神経機構によって咀嚼に影響を及ぼすのか、第55回日本顎口腔機能学会 大阪大学、吹田 2015年10月31日-11月1日
17. 佐藤文彦、藤尾隆史、加藤隆史、吉田篤、ラット三叉神経上核の同定 三叉神経研究会、福岡 2015年11月28日-29日
18. 佐藤文彦、藤尾隆史、加藤隆史、吉田篤、ラット三叉神経上核の同定、第121回日本解剖学会 福島県郡山市 2016年3月27-30日
19. 吉田篤、佐藤文彦、加藤隆史、咀嚼はどのような神経回路によって情動の影響を受けるのか、第58回歯科基礎医学会学術大会 札幌市、札幌コンベンションセンター 2016年8月24-26日
20. 佐藤文彦、加藤隆史、吉田篤、ラット顎筋紡錘からの感覚入力を受ける三叉神経上核の同定、第58回歯科基礎医学会学術大会 札幌市、札幌コンベンションセンター 2016年8月24-26日
21. 佐藤文彦、堤友美、上村夢、久保田千晴、加藤隆史、吉田篤、咬筋筋紡錘からの感覚の視床投射、第10回三叉神経領域の感覚 - 運動統合機能研究会、長野県佐久市、佐久平プラザ21、2016年11月26-27日
22. 原木真吾、吉田篤、加藤隆史 等、若年の睡眠時ブラキシズムにおける睡眠の生理学的特性、第10回三叉神経領域の感覚 - 運動統合機能研究会、佐久平プラザ21、長野県佐久市、2016年11月26-27日
23. 吉田篤、口腔顎顔面感覚の中核投射の形態学、Symposium: Research Network on Cell Transplantation for Functional Recovery of Oral Sensory Disorders シンポジ

- スト、日本大学歯学部、東京、2017年3月25日
24. 佐藤文彦、大原春香、上村夢、久保田千晴、堤友美、森谷正之、加藤隆史、吉田篤、咬筋筋紡錘からの感覚の視床投射、第122回日本解剖学会、長崎大学医学部、長崎市、2017年3月28-30日

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田篤 (YOSHIDA, Atsushi)
大阪大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：90201855

(2) 研究分担者

加藤 隆史 (KATO, Takafumi)
大阪大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：50367520

井上 富雄 (INOUE, Tomio)
昭和大学・歯学部・教授
研究者番号：70184760

小野 高裕 (ONO, Takahiro)
新潟大学・大学院医歯学総合研究科・教授
研究者番号：30204241

森谷 正之 (MORITANI, Masayuki)
森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授
研究者番号：80303981

永瀬 佳孝 (NAGASE, Yoshitaka)
宝塚医療大学・保健医療学部・教授
研究者番号：50252698

(3) 連携研究者

佐藤 文彦 (SATO, Fumihiko)
大阪大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：70184760