

第49回 歯科基礎医学会
サテライトシンポジウム SS8

口腔機能の中樞制御

-電気生理学的アプローチ-

日時：平成19年8月29日（水曜日）

16：00～17：45

場所：E会場（北海道大学百年記念会館）

懇親会（SS7&8合同）18：00～19：30

於 きゃら亭（北大キャンパス内）

世話人

北海道大学大学院歯学研究科

口腔生理細胞情報学教室

船橋 誠

プログラム

- SS8-1 16:00～16:25
下顎運動の神経制御メカニズム
中村 史朗¹, 中山 希世美¹, 望月 文子¹, 玄番 晶子², 吉田 篤³, 森谷 正之³, 井上 富雄¹ (昭和大・歯・¹口腔生理, ²歯科麻酔, ³大阪大・院歯・口腔解剖第二)
- SS8-2 16:25～16:55
最後野における P2X 受容体の局在とその機能
兒玉 直紀^{1,2}, 船橋 誠³, 美藤 純弘², 皆木 省吾¹, 松尾 龍二²
岡山大・院医歯薬総合・¹咬合口腔機能再建, ²口腔生理, ³北海道大・院歯・口腔生理細胞情報
- SS8-3 16:55～17:20
Functional MRI を用いたラット嗅球匂い地図
黄田 育宏, 船橋 誠
北海道大・院歯・口腔生理細胞情報
- SS8-4 17:20～17:45
多方位から測定した口唇閉鎖力の左右バランスの検討
増田 裕次, 中塚 久美子
松本歯科大・院歯学独立・顎口腔機能制御
- 合同懇親会 (SS7&8) 18:00～19:30
場所：きゃら亭 百年記念会館店 会場隣接
会費：3,500 円 (当日お支払い下さい。)
懇親会参加申込：参加される方は下記までお知らせ下さい。
申込先および問い合わせ先：
〒061-0293
北海道石狩郡当別町金沢 1757
北海道医療大学看護福祉学部
看護学科生命基礎科学講座
倉橋昌司
TEL: 0133-23-1499, FAX: 0133-23-1499
E-mail: kurahasi@hoku-iryo-u.ac.jp

下顎運動の神経制御メカニズム

—三叉神経上核に存在する premotor neuron の生理学的小および形態学的特性—

中村 史朗¹、中山 希世美¹、望月 文子¹、玄番 晶子²、
吉田 篤³、森谷 正之³、井上 富雄¹

¹昭和大 歯 口腔生理、²昭和大 歯 歯科麻酔、³阪大院 歯 口腔解剖学第二

【目的】三叉神経運動核の背側に位置する三叉神経上核 (SupV) には、顎口腔領域からの感覚入力や大脳皮質からの下行性入力を受けて三叉神経運動核 (MoV) に出力を送る premotor neuron が存在し、顎運動の制御に重要な役割を果たしていると考えられている。我々はこの SupV ニューロンを含む局所神経回路に着目し、三叉神経上核には閉口筋運動ニューロンに対して抑制性のみならず興奮性出力を送る premotor neuron が存在することを前回、前々回の歯科基礎医学会にて報告した。しかし閉口筋運動ニューロンに出力を送る三叉神経上核ニューロン自体の性質および他の咀嚼に関連する領域との結合関係については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、幼若ラットを用いて MoV に軸索を伸ばす SupV ニューロンをカルシウム濃度測定装置で同定し、パッチクランプ法および免疫組織化学的手法を用いて SupV ニューロンの電気生理学的小および形態学的特性について検索した。【材料と方法】生後 1～5 日齢の Wistar 系ラットを用い、前頭断脳幹スライス標本 (400 μm) を作製した。カルシウム指示薬 (Fura 2-AM) で染色後、MoV の電気刺激 (25 μA) に対して細胞内カルシウム濃度の上昇を示す SupV ニューロンからホールセル記録を行った。記録終了後、あらかじめパッチピペット内に充填した biocytin を細胞内に注入し、樹状突起および軸索の走行を免疫組織化学的に検索した。【結果と考察】SupV 外側部の 1071 個のニューロンのうち、MoV の電気刺激によって細胞内カルシウム濃度の上昇を示すニューロンが 1071 例中 156 個認められた。156 個中 34 ニューロンからパッチクランプを行ったところ、25 個のニューロンで MoV の 3 連発 100 Hz の電気刺激 (10-25 μA) に逆行性応答を示した。1 秒間の脱分極パルス通電により、順応の少ない持続的なスパイク発射が誘発されるニューロン (tonic ニューロン) と、通電量を増すと順応を示すニューロン (adapting ニューロン) が観察された。0.3 秒の過分極パルス通電に対しては、両タイプとも比較的リニアな応答を示した。tonic ニューロンの 25%、adapting ニューロンの 25% で sag が認められ、rebound spike は tonic ニューロンで 31%、adapting ニューロンで 13% 観察された。DC 通電により膜電位を上昇させると、両タイプのニューロンともバースト発火が誘発されたが、リズムカルなバースト発火は認められなかった。逆行性応答を示す SupV ニューロンを biocytin で標識し、軸索の走行を組織学的に検索すると、軸索が内側を通過して MoV に伸長するものと外側を通過して MoV に伸長するものが認められた。これらのニューロンは運動核内で分枝した後、シナプス小頭を形成していた。以上の結果から、SupV にはいくつかのタイプの premotor neuron が存在し、MoV に投射することによって顎運動の調節に重要な役割を果たしていることが示唆された。

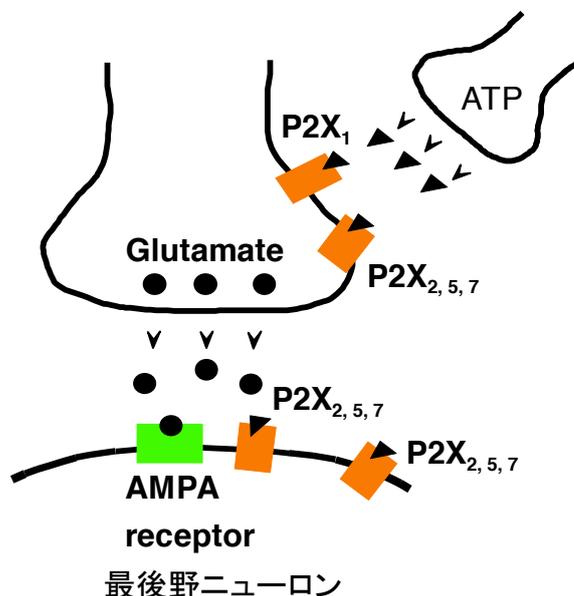
最後野におけるP2X受容体の局在とその機能

兒玉直紀^{1, 3}、船橋誠²、美藤純弘³、皆木省吾¹、松尾龍二³

¹岡山大 院医歯薬 咬合・口腔機能再建学

²北海道大 院歯 口腔生理細胞情報学、³岡山大 院医歯薬 口腔生理学

ATP (アデノシン 3 リン酸) は速いシナプス伝達に関わる神経伝達物質として中枢神経系および末梢神経系において重要な役割を担っている。近年、ATP が摂食・呼吸・循環・体温調節などの自律機能の制御に関与することが報告されている。また、延髄最後野は脳室周囲器官の一つで、種々の化学物質に対して感受性をもち、摂食行動、体液恒常性、循環調節などの自律機能に関与しているとされている。過去の報告によると、最後野において ATP 受容体(P2X)の存在が組織化学的に明らかにされているものの、ATP が最後野の神経活動に与える役割はいまだ不明な点が多い。そこで、今回我々は ATP の最後野単一ニューロン活動に対する影響を検討した。SD 系幼若ラット (7-21 日齢) を用いて、最後野を含む前額断脳スライス (150-200 μ m) を作製し、ホールセルパッチクランプ法を用いて最後野ニューロンの膜特性および神経活動を調べた。最後野ニューロンは過分極作動性カチオン電流(I_h)の活性を示すかどうかにより大別されるため、本研究でも、 I_h の活性の有無と ATP 投与に対する興奮性の応答様式に着目した。voltage-clamp 法を用いて、ATP の反応を調べた結果、最後野ニューロンは 1) 著明な内向き電流誘発 (n=26)、 2) 著明な外向き電流誘発 (n=1) 3) 持続的な膜電流変化は少なく、微小シナプス後電流 (mEPSC) の頻度の増加 (n=24)、を示した。ATP に誘発される膜電位の脱分極は 11.5 ± 3.2 mV (n=13) および過分極 6.7 ± 0.2 mV (n=2) であった。グルタミン酸 AMPA 受容体阻害薬 CNQX の存在下では内向き電流に影響せず、mEPSC の増加は誘発されなかった。さらに我々は、P2X 受容体のサブタイプの同定を行うため ATP、 $\alpha\beta$ me-ATP、 $\beta\gamma$ me-ATP、PPADS に対する最後野ニューロンの影響を検討した。その結果、シナプス後膜およびシナプス外受容体には P2X₂、P2X₅、P2X₇ が存在し、シナプス前終末には P2X₂、P2X₅、P2X₇ の他に P2X₁ が存在することが明らかとなった。以上より、最後野ニューロンにはサブタイプの異なる P2X 受容体が存在し、最後野の自律機能において重要な役割を担っていることが示唆された。



Functional MRI を用いたラット嗅球匂い地図

黄田 育宏, 船橋 誠

北海道大学大学院歯学研究科 口腔機能学講座 口腔生理細胞情報学教室

嗅覚は数万種類もの揮発性匂い分子によって媒介される感覚である。匂い分子は、鼻腔内の嗅上皮にある嗅細胞の受容体で検知され、匂い情報は嗅球内のモジュールである糸球体に送られる。個々の嗅細胞は1種類の受容体しか発現しないが、それぞれの受容体は複数の匂い分子を検知し、同種類の受容体を持つ嗅細胞の軸索は、嗅球内における同じ糸球体に収束する。従って、ある匂い分子により複数の嗅細胞受容体が匂い分子を検知し、複数の嗅球内糸球体が活性化される。結果として、嗅球において活性化された糸球体の「匂い地図」が形成される。嗅球匂い地図は、匂いの識別に深く関わると考えられているが、様々な匂いに対してどの様に形成されるのかは詳しく分かっていない。本研究では、匂い地図を調べるために、神経活動に伴う血行動態反応から賦活領域を測定する機能的磁気共鳴画像法 (functional MRI) を用いた。Functional MRI は、1対象に対して繰り返し同じ匂いや複数の匂いで刺激することができ、また、刺激に対する嗅球全体の反応を測定できる利点がある。しかし、ヒトを対象としては、MRI の空間分解能の制限により嗅球の反応を測定することができない。本研究では、麻酔ラットを対象として、高磁場7テスラ MRI (臨床用は1.5テスラ) を用いて、匂い刺激を行ったときに嗅球で形成される匂い地図を測定した。図1に、バナナ臭の iso-amyl acetate を2分間嗅がせたときの functional MRI により得られる嗅球匂い地図を示した。ここでは、嗅球匂い地図の1個体や個体間での再現性、匂い濃度や刺激時間の匂い地図への影響、異なる匂い分子での匂い地図についての詳細な解析を示したい。

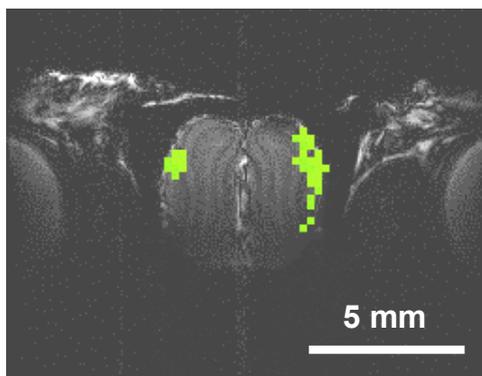


図1 Iso-amyl acetate の匂い地図 (嗅球冠状断画像)

多方位から測定した口唇閉鎖力の左右バランスの検討

増田裕次、中塚久美子

松本歯科大学大学院歯学独立研究科 顎口腔機能制御学講座

口唇運動は咀嚼や発音時に重要な役割を担っている。さらに近年、口唇運動が正常に営まれることは顎顔面頭蓋、歯列および舌などの口腔器官の成長発達と深い関係があると考えられている。しかし、口唇運動の科学的に裏付けされた評価法が確立されていない。口唇運動を引き起こす各筋の構造特性を考慮すると、多方位からの力あるいはそれらの分布を調べる必要がある。そこで、(株)プロシード、塩尻市および松本歯科大学の産学公連携事業として、多方位口唇閉鎖力を直接測定できる装置を開発した。本装置を用いて口唇閉鎖力の左右バランスについて検討した。

多方位からの口唇閉鎖力測定のために、8本のシリコンチューブ（外径6mm、内径4mm）を円周上に並べたものを測定部位とした。各チューブの内圧の変化を、ジョイントを介して接続した圧力トランスデューサ（PA-100、COPAL ELECTRONICS 社製）で感知し、電気信号に変換、AD変換ののち、パーソナルコンピュータで観察・記録を行った。口唇閉鎖力測定部はスタンドにて被験者の口唇前方部に固定した。被験者には座位にて、測定部に口唇を添えて準備した状態から、最大の力で口唇をすぼめるように指示を与えた。口唇の感覚を表面麻酔により片側性に鈍くさせたときに、口唇閉鎖力の左右バランスの変化を調べた。なお、表面麻酔による感覚の変化は、上下赤唇部の正中ならびに左右1/4に相当する点の6点におけるSW知覚テスターを用いた触閾値の変化にて調べた。

健常成人では、最大口唇閉鎖力は上下左右とそれぞれの中間の8方向から測定することができ、上下方向の力は大きく、左右方向の力は小さい測定値となった。左右のアンバランスは認められなかった。右側下唇部への表面麻酔により右下部の触閾値は有意に大きくなったが、その他の部位の触閾値に変化は認められなかった。8方向いずれの口唇閉鎖力も表面麻酔後、有意に減少した。しかし、その減少の割合には、有意差は認められず、口唇閉鎖力の左右バランスには影響を及ぼさなかった。つまり、最大口唇閉鎖力は感覚の影響を受けるものの、感覚の有無に関わらず左右バランスは保たれていることが明らかとなった。

以上の結果から、口唇をすぼめる運動の感覚性制御に左右アンバランスを生じない機構の存在が示唆された。