



Title	ラット三叉神経リズム性活動に関わる神経回路の胎生期の発達
Author(s)	石濱, 孝二
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3169304
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	石 濱 孝 二
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 15340 号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	ラット三叉神経リズム性活動に関わる神経回路の胎生期の発達
論文審査委員	(主査) 教授 松矢 篤三 (副査) 教授 重永 凱男 助教授 岩田 幸一 講師 館村 卓

論文内容の要旨

【緒言】

三叉神経系におけるリズムカルな活動は咀嚼や吸啜などに認められるが、この神経活動は呼吸や歩行などと同様にリズムジェネレータとバーストジェネレータが大きく関わっていると考えられる。これまでの培養脳幹を用いた研究から新生仔ラット培養脳幹で起こる三叉神経リズム性活動の発現に関わるリズムジェネレータは三叉神経運動核近傍に存在することが明らかとなっている。リズムカル顎運動の際の三叉神経運動ニューロンの活動に関し、リズムジェネレータとのつながりについて明確に示した報告は数少なく未だ想像の域を出ない。また、リズムカル顎運動に関わる神経回路の形成は胎生期より始まると考えられ、胎生期の発達経緯をとらえることは神経回路を理解する上で非常に重要である。

そこで本研究ではリズムジェネレータを含む培養脳幹を用いて胎生期における三叉神経リズム性活動の様相を検討することにより神経回路の発達機構を分析した。さらに、パッチクランプ (current [I] -clamp whole cell recording) 法を用いることにより、新生仔と胎仔における三叉神経運動ニューロンとリズムジェネレータの関係を検討した。

【方法及び結果】

実験には胎齢16日～生後3日 (E-16～P-3) の Splague-Dawley ラットを用い、脳幹標本を作製し、人工脳脊髄灌流液で満たされた recording chamber 内に固定した。脳幹標本の範囲は吻側は上丘と下丘の間、尾側は脳幹背側の菱形窩正中溝上の Y 字交点 (顔面神経核吻側レベル) とした。脳幹への薬物の投与については recording chamber 内に目的濃度となるよう直接滴下して行うか、パッチクランプ法については各種薬物を人工脳脊髄灌流液に混入し一定の速度で灌流して投与した。記録した活動は解析ソフト (Mac Lab/8s) を介したコンピュータ (Power Mac G3) で解析した。人工脳脊髄灌流液は常に95%O₂ - 5%CO₂ で飽和し27°Cの温度に保った。

実験 I : 胎生期ラット (E-16～21) の三叉神経リズム性活動について

胎生期ラットの脳幹標本を用いて各種薬物刺激により三叉神経運動根から三叉神経リズム性活動を記録し、その活動様相を各胎齢日に分けて解析し比較した。脳幹標本に対して GABA_A receptor の antagonist である Bicuculline methiodide (BIC) 10 μM と NMDA-receptor の agonist である N-methyl-D, L-aspartate (NMA) 20 μM を投与すると三叉神経運動根から E-16～17ではリズム性活動は発現しなかったが E-18～19では約0.25Hzのゆっくりと

した周期の活動が記録された。また約6 Hzのリズム性神経活動によってその活動が構成されていることも明らかとなった。E-20~21では新生仔ラットの三叉神経活動と同じ様相の神経活動が得られた。リズムカルな神経活動はE-18~21のラットでもNMAの濃度を上げることで濃度依存性に活動周期が短縮した。

実験Ⅱ：新生仔ラットでの三叉神経リズム性活動における三叉神経運動ニューロンの膜電位変化について

新生仔ラット(P-0~3)の脳幹標本を用いて薬物刺激により三叉神経リズム性活動を誘発し、その活動中の三叉神経運動ニューロンの膜電位を記録した。三叉神経運動根から約6 Hzのリズムカルな神経活動と同期して三叉神経運動ニューロンのリズムカルな活動電位が記録された。また、活動電位が発現する前に約5 mVの小さな脱分極がリズムカルに認められた。また、NMAのみ投与した場合は明瞭なリズム性活動電位は認められなかったが、約5 mVの小さなリズムカルな脱分極は観察された。

実験Ⅲ：胎仔ラット(E-18~19)での三叉神経リズム性活動における三叉神経運動ニューロンの膜電位変化について

実験Ⅱと同じ手法を用いて三叉神経運動根からの神経活動と三叉神経運動ニューロンの膜電位を同時に記録したところ、ゆっくりとした周期の神経活動と同期して三叉神経運動ニューロンの膜電位は4~10 mVの幅で上下動し、膜電位が上昇している時にリズムカルな活動電位が発現した。また、膜電位が下降している時でも小さなリズムカルな脱分極が認められた。

【結論】

出生間近の胎齢20~21日ではNMA-BICの薬物刺激により三叉神経運動根に約6 Hzのリズム性神経活動が誘発され、この時すでに本研究で目的とするリズム性活動に関わる神経回路は完成されていると考えられる。一方、胎齢18~19日ではリズム性活動は持続して認められなかったが周期的に発現した。これに対し、胎齢16~17日ではリズム性活動はまったく発現しなかったことから三叉神経リズム性活動に関わる神経回路は胎齢17日以前では未完成の状態であると推察された。また三叉神経運動ニューロンの膜電位に認められた小さな脱分極はリズムジェネレータからのEPSPと考えられたが、胎齢18~19日でリズム性神経活動が発現していない時でも常に三叉神経運動ニューロンの膜電位には小さな脱分極がリズムカルに認められていたことからこの時にはすでにリズムジェネレータは機能していることが考えられた。

論文審査の結果の要旨

本論文は、培養脳幹標本を用いてラットの三叉神経リズム性活動に関わる神経回路の胎生期の発達機構について検討を行ったものである。その結果、胎齢16~17日でリズム性活動は得られず、この時期に三叉神経リズム性活動に関わる神経回路は完成していないことが示唆された。また、胎齢18~19日では三叉神経運動ニューロンへのパッチクランプ法を用いた結果からリズム性の神経伝達は認められるものの、三叉神経運動ニューロンの安定した膜電位の上昇が得られず、結果として持続したリズム性活動が発現できないことが示唆された。以上の結果はリズムカル顎運動のリズム形成機構、並びに、胎生期の発達機構について重要な知見を与えるものであり、咀嚼運動や吸啜運動の中枢メカニズムを解明していく上で非常に価値のある業績と認められる。

従って、本研究者は博士(歯学)の学位を得る資格があるものと認める。