



Title	咬筋筋紡錘感覚の脳内伝達様態の解明
Author(s)	藤尾, 隆史
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52339
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (藤 尾 隆 史)	
論文題名	咬筋筋紡錘感覚の脳内伝達様態の解明
論文内容の要旨	
背景 頭部および体幹四肢の皮膚感覚の中樞投射の様態は精力的に研究されてきた。しかし、筋紡錘感覚を含む深部感覚の中樞投射、特に視床への投射の部位とその様態はよくわかっていない。頭部の深部感覚である閉口筋筋紡錘感覚と歯根膜感覚は顎運動の制御に重要な感覚であり、ネコ等では、三叉神経中脳路核 (Vmes) ニューロンによって脳内の三叉神経上核 (Vsup) 等に伝達されることが知られている。しかし、この感覚がVsupから視床に投射されるかどうか、投射される視床部位は良くわかっていない。そこで本研究では、全身の深部感覚のモデルとして、ラットのVmesニューロンが伝達する深部感覚のVsupへの投射の様態と、Vsupから視床への投射の様態の解明をめざした。また、報告されているラットのVsupの同定は不十分であるため、Vsupの同定法の確立もめざした。これらを形態学的ならびに電気生理学的に解明するため、神経回路追跡法および細胞外電位記録法をラットに施した。	
方法 Wstar系雄ラットを用い、ペントバルビタールの腹腔内注入または塩酸ケタミンと塩酸キシラジンの大腿筋への注入による全身麻酔下で行った。組織侵襲部へはlidocaineの局所投与も行った。 実験1: 咬筋神経または下歯槽神経、眼窩下神経、舌神経を剖出後に切断し、その中枢端から神経トレーサーである cholera toxin B subunit (Cib) を溶解した生理食塩水、またはbiotinylated dextran amine (BDA) を溶解したphosphate buffer (PB) を取り込ませた。その3日後に動物を深麻酔下で灌流固定した。組織標本を作成し、脳内に存在する標識細胞と標識軸索終末を観察した。 実験2: 咬筋神経と舌神経を剖出後、双極性フック電極を神経に装着した。動物を脳定位固定装置に固定し、horseradish peroxidase (HRP) を溶解したPBを封入したガラス管微小電極を、実験1で明らかになるVsupの位置情報を参考にしてVsupに刺入した。刺入電極から、両神経の電気刺激と動物の下顎の下制に対する神経応答をVsupとその周辺部から記録した。Vsupと考えられる記録部位に、HRPを電気泳動にて微量注入した。深麻酔下で動物を灌流固定後、組織標本を作成し、HRPの注入部位を観察した。 実験3: BDAを溶かしたPBを封入したガラス管微小電極を、実験1と2で明らかになるVsupの位置情報と電気生理学的同定法を参考にしてVsupに刺入し、BDAを微量注入した。その5～8日後に動物を深麻酔下で灌流固定し、組織標本を作成し、視床における標識軸索終末を観察した。 実験4: HRPを溶かしたPBを封入したガラス管微小電極を、実験3で明らかになる標識軸索終末部位（後述の視床後内側腹側核[VMl]の尾腹内側部[VMvnl]）に刺入した。咬筋神経の電気刺激と動物の下顎の下制に対する神経応答を記録した。記録部位に、HRPを微量注入した。深麻酔下で動物を灌流固定後、組織標本を作成し、HRPの注入部位を観察した。 実験5: Fluorogold (FG) を溶解した生理食塩水を封入したガラス管微小電極、または、wheat-germagglutinin conjugated horseradish peroxidase (WGA-HRP) を溶解したphosphate buffered saline (PBS) を封入したガラス	

管微小電極を、実験3、4で明らかになる視床投射部位（**VPMvm**）の位置情報と電気生理学的同定法を参考にして刺入し、**FG**または**WGA-HP**を微量注入した。その5〜8日後に動物を深麻酔下で灌流固定し、組織標本を作成し、**Vsup**およびその周辺部の標識細胞を観察した。

切片の作成と観察：上記実験1から5において、動物の灌流固定には**paraformaldehyde**を溶かした**PB**を用いた。その後、脳幹の凍結連続切片を作成した。**Cib**と**FG**の呈色には、抗**Cib**抗体または抗**FG**抗体と**ABC**法を用いた。**HDA**の呈色には**ABC**法を、**HRP**の呈色には**DAB**法を、**WGA-HP**の呈色には**TMB**法を用いた。**Neutral red**または**thionine**で染色した切片で、脳幹の細胞構築を観察した。電位記録の解析には**PowerLab**を用いた。

結果

Vsupの位置と細胞構築：ラットの**Vsup**は、三叉神経中脳路、結合腕傍核内側部、三叉神経主感覚核（**Vp**）の背側部、三叉神経運動核（**Vno**）および**Vno**の背側に接した網様体の間に位置した。細胞構築は、主に多極性および紡錘形の中型細胞よりなるが、多極性の大型細胞および紡錘形の小型細胞も含んだ。**Vsup**の細胞は、その長軸が内外方向または背内-腹外方向のものが多かった。

実験1：咬筋神経に**Cib**と**HDA**を取り込ませた結果はいずれも、標識細胞体が**Vnes**、**Vno**外側部に認められた。標識終末は、**Vsup**のほぼ全域と**Vno**外側部、**Vsup**と**Vno**との間の網様体、**Vp**の背内側端に認められた。下歯槽神経または眼窩下神経、舌神経に**Cib**または**HDA**を取り込ませた結果、標識細胞は**Vnes**、**Vno**には認められず、標識終末は**Vp**に認められたが、**Vsup**や**Vno**には認められなかった。

実験2：実験1で明らかになった**Vsup**の位置を参考にしてガラス管微小電極を刺入した。咬筋神経の弱い電気刺激で、最大振幅の潜時が少し長い陰性電位が記録されたが、刺激を強くしても、それよりも短潜時の電位は記録されなかった。同部で、下顎の下制時にはスパイクの斉射も記録された。この記録部位への**HRP**注入の注入部位は**Vsup**内であった。記録されたこれらの電位の特徴は、**Vnes**内、結合腕傍核内側部内、**Vno**内、**Vp**内からの記録とは明らかに異なっていた。またこの部位からは、舌神経の刺激で短潜時の電位は記録されなかった。

実験3：実験2で明らかになった電気生理学的同定法にて**Vsup**を同定した後に注入された**HDA**は、**Vsup**内に限局していた。標識された軸索終末は、注入部位と反対側の視床後内側腹側核（**VPM**の尾腹内側部（**VPMvm**）に認められた。視床後腹側核小細胞部にも認められた。

実験4：実験3で明らかになった**VPMvm**の位置を参考にしてガラス管微小電極を刺入した。咬筋神経の電気刺激で、潜時が長い陰性電位が記録された。また、下顎の下制時にスパイクの斉射が記録された。この記録部位に注入された**HRP**は**VPMvm**内に位置した。

実験5：実験4で明らかになった電気生理学的同定法にて、**VPMvm**を同定した後に注入された**FG**または**WGA-HP**は、**VPMvm**内に限局していた。標識細胞は、注入部位と反対側の**Vsup**内に多く認められた。また、**Vp**の背内側縁と**AM**（area ventral to the **Vno** and medial to the **Vp**）にも認められた。

考察と結論

以上より、（1）咬筋筋紡錘感覚が入力する**Vsup**が形態学的ならびに電気生理学的に同定された。（2）**Vsup**から反対側視床の**VPMvm**への投射が明らかになり、この経路によって咬筋筋紡錘感覚が**VPMvm**に伝達されることが示された。（3）咬筋筋紡錘感覚が伝達される**VPMvm**は、報告されている口腔顔面の皮膚感覚が伝達される**VPM**の部位とは異なっていた。

本研究結果は、咀嚼筋紡錘感覚が、皮膚感覚などの他の体性感覚とは異なった回路によって上位脳に伝達されていることを示唆すると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (藤尾 隆史)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	前田 芳信
	副 査	大阪大学教授	吉田 篤
	副 査	大阪大学准教授	前田 隆史
	副 査	大阪大学講師	田中 晋
論文審査の結果の要旨 深部感覚、特に筋紡錘感覚の脳内伝達機構は良くわかっていない。本研究は、ラットの筋紡錘感覚の視床に至る伝達機構を、神経回路追跡法および細胞外電位記録法を用いて検討したものである。 本研究によって、(1) 咬筋筋紡錘感覚が入力する三叉神経上核が形態学的ならびに電気生理学的に同定された。(2) 三叉神経上核から反対側の視床後内側腹側核の尾腹内側部への投射が明らかになり、この経路によって咬筋筋紡錘感覚が視床に伝達されることが示された。(3) この咬筋筋紡錘感覚が伝達される視床部位は、報告されている口腔顔面の皮膚感覚が伝達される視床部位とは異なることが明らかになった。 以上より本研究は、深部感覚の脳内伝達機構を研究する上で重要な知見を与えるものであり、博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認める。			