



Title	閉口筋筋紡錘感覚の視床髄板内核群への伝達路の解明
Author(s)	加戸, 聖也
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76277
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 （ 加 戸 聖 也 ）	
論文題名	閉口筋筋紡錘感覚の視床髄板内核群への伝達路の解明
論文内容の要旨 【背景と目的】 重症のTourette syndrome (TS) 患者には視床髄板内核群内のcentromedian-parafascicular (CeM-PF) complexへの脳深部刺激を用いた脳外科手術が行われる。脳深部刺激がCeM-PF complexのニューロンの異常興奮をリセットさせることで効果が発現していると考えられている。一方、TS患者の症状はオーラルスプリントの咬合で抑制されることが報告された (Murakami et al., 2019)。スプリントの咬合で無意識下に賦活される閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚がCeM-PF complexに伝達され、TS患者の症状が抑制された可能性が推測されている。しかし、閉口筋を含む全身の筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が視床の髄板内核群に伝達されるという報告は、ヒトばかりでなく全動物でされていない。そこで本研究では、ラットの閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が視床髄板内核群に伝達されるのかどうかの解明を目指した。 【方法】 Wistar系雄性ラットを用い深麻酔下で実験した。咬筋神経に刺激電極を装着した。頭部を定位固定装置に固定し、頭頂骨の一部を削去して開窓し、そこからガラス管微小電極を脳内に刺入した。 実験1：順行性トレーサーを用いた、三叉神経上核から視床髄板内核群への投射様態の解明 三叉神経上核を狙って、2.0 M クエン酸カリウム溶液を充填したガラス管微小電極を刺入した。咬筋神経の電気刺激に対する応答と下顎の下制に対する応答を記録して、三叉神経上核の位置を同定した。電極を、順行性トレーサーであるbiotinylated dextranamine (BDA) 10%を含むリン酸緩衝液(PB)を封入したガラス管微小電極に交換し、同定した三叉神経上核に再度刺入し、BDAを電気泳動にて同核内に微量注入した。その結果、標識された軸索終末は、視床髄板内核群内のoval paracentral nucleus (OPC)が存在すると考えられる部位付近に認められたが、OPCの位置は未だ確定されてはいなかったため、ニッスル染色した切片を顕微鏡下で観察して、OPCの位置を細胞構築学的に検討した。その後、同定されたOPCを含む髄板内核群に標識された軸索終末があるかどうかを、顕微鏡下で観察した。 実験2：閉口筋筋紡錘に生ずる固有感覚がOPCに伝達されることの解明 OPCを狙って、2.0 M クエン酸カリウム溶液を充填したガラス管微小電極を刺入した。咬筋神経の電気刺激に対する応答と下顎の下制に対する応答を記録してOPCの位置を同定した。3% horseradish peroxidase (HRP) を溶解した0.01 M PBを封入したガラス管微小電極を再度記録部位に刺入し、HRPを電気泳動にて微量注入し、記録部位をマーキングした。 実験3：逆行性トレーサーを用いた、OPCに投射するニューロンの分布の解明 実験2と同様の方法で、OPCの位置を電気生理学的に同定し、そこに1%cholera toxin B subunit (CTb)を溶解したリン酸緩衝液またはFluorogold (FG) を1%に溶解した生理食塩水を封入したガラス管微小電極を刺入し、CTbまたはFGを電気泳動にて微量注入した。 <u>切片の作成</u> 必要な生存期間を経た後に、深麻酔下で、固定液を心臓から注入して動物を灌流固定した。全脳を摘出し、連続冠	

状断切片を作成した。BDAの呈色はABC法とDAB法で、HRPの呈色はDAB法で行った。CTbとFGの呈色は、それぞれ抗CTbウサギ抗体と抗FGウサギ抗体を用いて免疫組織反応を行った後、ABC法とDAB法で行った。その後、全切片をゼラチンで被覆したスライドガラスに貼り付け、一部の切片を対比染色した。全切片を乾燥、脱水、透徹、封入した。顕微鏡下で観察した。

【結果】

実験1：順行性トレーサーを用いた、三叉神経上核から視床髄板内核群への投射様態の解明

注入部位：記録部位と同側の咬筋神経の電気刺激で、潜時約1.6 msecの応答が記録され、且つ、下顎の下制時にバーストスパイクが記録された部位を三叉神経上核と判断し、BDAを注入した。

OPCの部位の細胞構築学的検討：三叉神経上核に局限してBDAが注入された結果、標識された軸索終末が、視床の髄板内核群の尾側レベルの腹外側のコーナーでoval paracentral nucleus (OPC) が存在すると考えられる部位付近に認められた。しかし、ラットのOPCの位置は未だに確定されていなかったので、本研究でOPCの位置を細胞構築学的に検討した。OPCは、内髄板内の腹外側に存在する尾側レベルの視床中心傍核 (PC) の中で卵形の領域として認められた。OPCの細胞構築は、その周囲のPCおよび尾側の束傍核 (PF) の細胞構築と区別可能であった。本研究で同定されたOPCの位置は、Paxinos and Watson (1986) で初めて同定されたOPCの位置に極めて類似していた。

三叉神経上核からの投射様態：三叉神経上核に局限してBDAが注入された結果、中程度の数の標識された軸索終末が両側性にOPC内の全体に広く分布していた。OPCに隣接するPCにも少数の標識された軸索終末が認められたが、他の髄板内核群には認められなかった。

実験2：閉口筋筋紡錘に生ずる固有感覚がOPCに伝達されることの解明

OPCから両側の咬筋神経の電気刺激によって潜時約3.3 msの応答が記録された。また、下顎の下制時にバーストスパイクが記録された。

実験3：逆行性トレーサーを用いた、OPCに投射するニューロンの分布の解明

実験2に従って電気生理学的に同定されたOPCに、逆行性トレーサーであるCTbまたはFGを注入した結果、中程度の数のニューロンの細胞体が、両側の三叉神経上核の吻側および吻尾的中間レベルの、特にその背側部に標識された。より多くの結合腕傍核ニューロンの細胞体が両側性に標識された。

【考察と結語】

ラットの閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が、三叉神経上核経由で、両側の視床髄板内核群の中ではほぼOPCのみに特異的に伝達されることが明らかになった。この結果は、ラットのOPCがヒトのCeMに相当している可能性を示唆していると考えられる。また、TS患者の治療でオーラルスプリントの咬合や脳深部刺激で効果が発揮される中枢神経メカニズムを考察する際、重要な情報になると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (加 戸 聖 也)			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査 副 査 副 査 副 査	教 授 教 授 准教授 講 師	吉 田 篤 加 藤 隆 史 工 藤 千穂 田 中 晋
論文審査の結果の要旨 本研究は、閉口筋筋紡錘に生ずる固有感覚が視床髄板内核群に伝達されるかどうかを調べたものである。 ラットの視床髄板内核群の中では、閉口筋筋紡錘に生ずる固有感覚は、三叉神経上核を経由して両側の Oval paracentral nucleus にほぼ限局して伝達されることが、神経回路学的ならびに電気生理学的に明らかになった。 以上より本研究は、口腔顎顔面領域に生ずる固有感覚情報の脳内伝達機構とその役割の解明に大きく貢献するものであり、博士（歯学）の学位に値するものと認める。			