Osaka University Knowledge Archive

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	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

学 位 論 文

閉口筋筋紡錘感覚の視床髄板内核群への伝達路の解明

大阪大学大学院歯学研究科　口腔科学専攻
顎口腔病因病態制御学講座　口腔外科学第二教室

加戸　聖也

［要旨］

トゥレット症候群の患者のチック症状が、視床髄板内核群への脳深部刺激によって緩和できると報告されている。また、最近オーラルスプリントの咬合によっても症状が緩和できると報告された。これらの臨床所見から、オーラルスプリントの咬合によって賦活化される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、チック症状の緩和に関わっていると推測した。

そこで、本研究では、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かどうかをラットを用いて明らかにすることを目指した。閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が入力する三叉神経上核に順行性神経トレーサーを注入したところ、標識された軸索終末が、視床髄板内核群では、主に、両側のoval paracentral nucleus（OPC）に認められた。OPCから、両側の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が記録された。さらに、OPCに逆行性神経トレーサーを注入したところ、両側の三叉神経上核の吻背側部の神経細胞体が標識された。本研究結果によって、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OPCに伝達されることが明らかになった。本結果が、トゥレット症候群の患者のオーラルスプリント療法や脳深部脳刺激療法の治療メカニズムの解明につながることが期待される。

［略語一覧］

BDA	biotinylated dextranamine、ビオチン化デキストランアミン
CeM	centromedian thalamic nucleus、視床正中中心核
CeM-PF complex	centromedian-parafascicular complex、正中中心核-束傍核複合体
CL	centrolateral thalamic nucleus、視床外側中心核
CM	central medial thalamic nucleus、視床内側中心核
CTb	cholera toxin B subunit、コレラ毒素Bサブユニット
DAB	diaminobenzidine、ジアミノベンジジン
FG	Fluorogold、フルオロゴールド
fr	fasciculus retroflexus、反屈束
HRP	horseradish peroxidase、西洋わさび由来過酸化酵素
JCMS	jaw-closing muscle spindle、閉口筋筋紡錘
KF	Kölliker-Fuse nucleus、ケリカー布施核
LC	locus coeruleus、青斑核
MD	mediodorsal thalamic nucleus、視床背内側核
me5	trigeminal mesencephalic tract、三叉神経中脳路
Me5	trigeminal mesencephalic nucleus、三叉神経中脳路核
ml	medial lemniscus、内側毛帯
Mo5	trigeminal motor nucleus、三叉神経運動核
mt	mammillothalamic tract、乳頭体視床路
OPC	oval paracentral thalamic nucleus
Pb	parabrachial nucleus、結合腕傍核
PB	phosphate buffer、リン酸緩衝液
PBS	phosphate-buffered saline、リン酸緩衝食塩水
PC	paracentral thalamic nucleus、視床中心傍核

PF	parafascicular thalamic nucleus、視床束傍核
Po	posterior thalamic nuclei、視床後核群
Pr5	trigeminal principal nucleus、三叉神経主感覚核
Rt	reticular thalamic nucleus、視床網様核
s5	trigeminal spinal tract、三叉神経脊髄路
scp	superior cerebellar peduncle、上小脳脚
Sm	submedial thalamic nucleus、視床内側下核
Su5	supratrigeminal nucleus、三叉神経上核
TS	Tourette syndrome、トゥレット症候群
VL	ventrolateral thalamic nucleus、視床外側腹側核
VM	ventromedial thalamic nucleus、視床内側腹側核
VPL	ventral posterolateral thalamic nucleus、視床後外側腹側核
VPM	ventral posteromedial thalamic nucleus、視床後内側腹側核核
VPMcvm	caudo-ventromedial edge of the VPM、視床後内側腹側核尾腹内側縁
VPPC	parvicellular part of the ventral posterior thalamic nucleus、視床後腹側核小細胞部

［緒言］

トゥレット症候群（TS）は、複数部位に生ずる運動チックと音声チックが慢性に発症することを特徴とする神経発達障害および精神神経障害である。多くのTS患者は、チックに先行する前駆衝動を訴えている（Leckman et al., 1993; Kwak et al., 2003; Ganos et al., 2015; Tinaz et al., 2015; Novotny et al., 2018)。重症のTS患者はしばしば、視床髄板内核群の正中中心核-束傍核複合体（CeM-PF complex)(特に正中中心核［CeM]）への脳深部刺激を用いた脳神経外科手術を受けている（Porta et al., 2009; Kefalopoulou et al., 2015; Schrock et al., 2015)。脳深部刺激療法の治療効果のメカニズムは、被刺激部位の異常な神経興奮がリセットされるため、と考えられている（Chiken and Nambu, 2013, 2016)。よって、TS患者のCeM-PF complexへの脳深部刺激療法は、CeM-PF complexニューロンの異常な神経活動を正常化させている可能性が高い。

最近になって、上下顎の歯列弓の間に挿入したオーラルスプリントの咬合によって、TS治療を受けた患者のうちの2/3の患者のチック症状が改善したと報告された（Murakami et al., 2019)。オーラルスプリントは開口を生じさせるので、閉口筋の筋紡錘の錘内筋線維が伸張され、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が増強し（Taylor, 1990)、オーラルスプリントを積極的に咬合すれば、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚はさらに増強される（Morimoto et al., 1989; Hidaka et al., 1999）と考えられる。これらの所見は、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が、TS患者の治療のための有望なターゲットであるCeM-PF complexに伝達される可能性を示唆している。しかし、ヒトや他の全ての動物で、全身の筋の筋紡錘（閉口筋の筋紡錘を含む）に生ずる固有感覚を含む如何なる固有感覚であっても、それが視床髄板内核群に伝達されることを明らかにした研究は見当たらない。そこで本研究では、ラットの閉口筋の筋紡錘に生

ずる固有感覚が三叉神経上核から視床髄板内核群に伝達されるかどうかを、神経トレーサーの注入法および電気生理学的記録法を用いて調べることを目的とした。

[方法]

動物と電位記録、トレーサー注入

体重220～320 gのWistar系雄性ラットを26匹用いた。実験は、大阪大学大学院歯学研究科実験動物取り扱い指針とアメリカ合衆国のNIHのガイドラインに則り、使用する動物は最小限になるように努めた。全動物の麻酔のため、ペントバルビタール（55mg/kg）と塩酸キシラジン（5mg/kg）、または塩酸ケタミン（60mg/kg）と塩酸キシラジン（5mg/kg）を腹腔内に投与した。実験中は、角膜反射や眼球の自発運動が起きない程度の麻酔深度を維持するため、必要に応じて麻酔薬を追加投与した。皮膚切開部には局所麻酔薬である塩酸リドカインを注射した。保温パッドを用いて直腸温を37℃から38℃に維持し、心電図を継続的にモニターした。下記の神経トレーサーの脳内注入と脳部位の細胞構築学的同定には、Paxinos and Watsonのラットの脳図譜（1986, 1998, 2014）を参照した。

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

左側の眼窩下部の皮膚に局所麻酔薬を注射した後、皮膚を切開して咬筋を露出し、咬筋内で咬筋神経を剖出した。電気刺激を行うため、銀の双極性フック電極を咬筋神経に装着した。その後、ラットを脳定位固定装置に装着した。頭頂部の皮膚に局所麻酔薬を注射した後、皮膚を切開して頭頂骨の一部を露出させ、歯科用ドリルで除去し、脳硬膜を露出した。脳硬膜を小さく切開して、開窓部から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。刺入角度は、大脳と小脳の間の太い血管を避けるため、矢状面内で垂直方向から前方に18度傾斜させた。三叉神経上核の同定は、以前の研究（Fujio et al., 2016; Yoshida et al., 2017）で確立された電

気生理学的な判断基準に基づき、左側（記録部位と同側）の咬筋神経の電気刺激（持続時間200 μsecの矩形波，1 Hz）に対する応答および口腔内に挿入したプラスチック棒を使って下顎を下制した時の応答を記録した。順行性トレーサーであるbiotinylated dextranamine（BDA，10,000 MW）10% を溶解した0.01 M リン酸緩衝液（PB，pH 7.4）を封入したガラス管微小電極に交換し、同様の方法で再刺入した。その後、同定した三叉神経上核にBDAを電気泳動（+2.0 μA，持続時間300 msec，2 Hz，5-7分間）にて微量注入した。トレーサーの注入後、ガラス管微小電極を撤去し、刺激電極を咬筋神経から取り外し、全ての皮膚切開部を縫合した。その後、鎮痛薬（flurbiprofen axetil，3.3 mg/kg）と抗生物質（cefotiam hydrochloride，66 mg/kg）を腹腔内に投与し、ケージ内で麻酔から回復させた。注入後の生存期間中、ラットの体重、一般的な行動および術後の合併症（出血や炎症など）をチェックした。

三叉神経上核にBDAを注入した結果、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部で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、OPCの位置は未だに確定されていなかったので、OPCの位置を細胞構築学的に検討した。クレシルバイオレットとニュートラルレッドで染色した視床の連続冠状断切片（それぞれ2匹）を明視野照明顕微鏡下で観察し、OPCの位置を細胞構築学的に検討した。

実験2：<u>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</u>

実験1と同様の方法で両側の咬筋神経を剖出し、電気刺激のため、銀の双極性フック電極を装着した。人工呼吸のため、前頸部の皮膚に局所麻酔薬を注射した後、皮膚を切開し、胸骨甲状筋を外方に移動させ、気管を露出させた。気管を切開し、カニューレを挿入し固定した。鎖骨下静脈を剖出し、筋弛緩薬投与に使う細径のカニューレを挿入し固定した。その後、ラットを脳定位固定装置に装着した。頭頂部の皮膚に局所

麻酔薬を注射した後、皮膚を切開して頭頂骨の一部を歯科用ドリルで除去し、脳硬膜を露出した。脳硬膜を小さく切開して、開窓部から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、実験1で明らかにされたOPCを狙って、垂直に刺入した。筋弛緩薬（vecuronium bromide 0.02 mg/kg）を静脈内投与し、筋弛緩されている状態で次の記録を行った。両側の咬筋神経の電気刺激（持続時間200 μsecの矩形波，1 Hz）に対する応答と口腔内に挿入したプラスチック棒を使って下顎を下制した時の応答を記録した。その後、この記録部位をマーキングするために3%の西洋わさび由来過酸化酵素（HRP）を溶解した0.01 M PB（pH 7.4）で封入したガラス管微小電極に交換し、同様の方法でOPCを狙って再刺入し、記録部位にHRPを電気泳動（+2.0 μA，持続時間300 msec，2 Hz，20秒間）にて微量注入した。HRPの注入後、ガラス管微小電極を撤去し、咬筋神経から刺激電極を取り外し、全ての皮膚切開部を縫合した。

実験3：<u>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</u>

実験2と同様の方法で両側の咬筋神経に銀の双極性フック電極を装着後、頭頂部の脳硬膜の小部を開窓し、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OPCを狙って刺入し、OPCを電気生理学的に同定した。その後、逆行性トレーサーであるcholera toxin B subunit（CTb）1%を溶解した0.01 M PB（pH 7.4）またはFluorogold（FG）1%を溶解した生理食塩水（pH 7.4）を充填したガラス管微小電極に交換し、同様の方法でOPCに再刺入した。同定したOPCにCTbまたはFGを電気泳動（+2.0 μA，持続時間300 msec，2 Hz，5-10分間）にて微量注入した。トレーサー注入後の処置は、実験1と同様に行った。

切片の作成

実験1のBDAを注入したラットは注入後6〜7日後に、実験2のHRPを注入したラットは注入直後に、実験3のCTbまたはFGを注入したラットは注入後4〜5日後に、ペントバルビタール（100 mg/kg）の過剰投与下で、上行大動脈から0.02 M リン酸緩衝生理食塩水（PBS, pH 7.4）100 ml、4% パラホルムアルデヒドを含む0.1 M PB（pH 7.4）100 ml、10% スクロースを含む0.02 M PBS（pH 7.4）100 ml、20% スクロースを含む0.02 M PBS（pH 7.4）100 mlを順次灌流した。脳を摘出し、20% スクロースを含む0.02 M PB（pH 7.4, 4℃）に2〜3日間浸漬した。脳を凍結させ、ミクロトームを用いて厚さ60 μmの連続冠状断切片を作成した。切片は連続性を保って3セットに分けた。

実験3でFGを注入したラットの切片の3セットのうちの1セットは、反応や染色を行わなかった。このラットの残り2セットと、実験1でBDAを、実験2でHRPを、実験3でCTbを注入したラットの切片の3セットは、以下に示す反応を行った。実験1でBDAを注入したラットの切片は、連続切片の全セットを0.02 M PBS（pH 7.4）で洗浄し、ABC反応（100倍希釈のavidin-biotin-peroxidase complex [ABC, Vector, CA]）を含む0.02 M PBS（pH 7.4）に浸漬後、0.04% diaminobenzidine [DAB]、0.06% 過酸化水素と0.08% 硫酸ニッケルアンモニウムを含む0.1 M PB（pH 7.4）で反応した。実験2でHRPを注入したラットの切片は、AdamsのDAB法にて反応した。実験3でCTbまたはFGを注入したラットの切片は、3% ヤギ血清（NGS）を含む0.02 M PBS（pH 7.4）に浸漬後、3% NGSと0.2% Triton X、一次抗体を含む0.02 M PBS（pH7.4）に浸漬した。一次抗体として、それぞれ40,000倍希釈の抗CTbウサギ抗体（List Biological Laboratories, USA）、10,000倍希釈の抗FGウサギ抗体（Chemicon, CA）を用いた。その後、400倍希釈のビオチン化抗ウサギIgGヤギ抗体（Vector, CA）を含む0.02 M PBS（pH7.4）に浸漬後、上記のABC反応を行った。

上記の反応が終了した全切片を、ゼラチンで被覆したスライドガラスに貼り付け、乾燥させた。この後、FG を注入したラットの反応を行っていない 1 セットは、レモゾールで透徹した後、カバーガラスをかけた。FG を注入したラットの残りの 2 セットのうち 1 セットと、CTb または BDA を注入したラットの 3 セットのうち 2 セットはニュートラルレッドまたはクレシルバイオレットで対比染色した。残りの 1 セットは対比染色しなかった。これら全ての切片は、アルコールにて脱水後、レモゾールにて透徹し、カバーガラスをかけた。

データ分析

実験 1 で三叉神経上核から、実験 2、3 で OPC から記録された領域電位をコンピューターに保存し、PowerLab 8/30（ADInstruments, Sydney, Australia）を用いて、オフラインで解析した。咬筋神経に与えた連続した 5〜10 回の電気刺激に対する応答を、記録部位毎に平均した。

FG の注入部位は、無反応、無染色の切片で、蛍光顕微鏡（Nikon Eclipse 80i, Japan）を用いて UV 励起光下で観察した。他の切片は明視野照明顕微鏡（Olympus BX 50, Japan）で観察した。脳構造、トレーサーの注入部位、トレーサーで標識された軸索およびその終末とニューロンの細胞体を、明視野照明顕微鏡に接続したカメラルシダ（描画装置）を使用して描出した。切片の顕微鏡写真は、明視野照明顕微鏡に接続されたデジタルカメラ（Olympus DP74, Japan）を用いて撮影した。FG の注入部位の蛍光顕微鏡写真は、別のデジタルカメラ（Olympus Camedia C-7070, Japan）を用いて UV 励起光下で撮影した。全ての顕微鏡写真は、Photoshop CS6（Adobe Systems, CA）を用いて処理した。

［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：9匹のラットを用い、電気生理学的に同定された三叉神経上核に順行性トレーサーであるBDAの注入を試みた。Fujio et al.（2016）とYoshida et al.（2017）で発表された三叉神経上核の電気生理学的同定の仕方に従った。case R116では、左側（記録部位と同側）の咬筋神経の電気刺激で1.6 msecの潜時を持つ応答が記録され（図1A)、且つ、持続的な受動的開口時にバーストスパイクが記録された（図1B）部位を三叉神経上核と判断した。この記録部位にBDAを注入した後、切片を作成してBDAの注入部位を顕微鏡下で確認したところ三叉神経上核に限局していた。同様の方法でBDAを注入したところ、9匹のうちの4匹でBDAの注入部位が三叉神経上核に限局していた。これらのBDAの注入部位の中心は、2匹（R221, R123）が三叉神経上核の吻側レベルで、他の2匹（R810, R116）は三叉神経上核の吻尾的中央レベルであった（図1C-E)。

OPCの部位の細胞構築学的検討：BDAが三叉神経上核に限局して注入されていた4匹のいずれにおいても、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（隅）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、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。クレシルバイオレットで染色した切片を観察した2例とニュートラルレッドで染色した切片を観察した他の2例で類似した結果を得たので、クレシルバイオレットで染色した切片を観察した1例の結果を挙げる（図2)。

ラットでは、細胞構築から、視床中心傍核（PC）は内髄板内の腹外側に存在する（例えば、Swanson, 1992）が、OPCは、尾側レベルのPCの腹外側のコーナー（隅）の中で卵形の領域として認められた（図2B, B’, C, C’; 図3B-D, G)。OPCの吻側と背側、内側はPCの尾側部分に囲まれていた。OPCの細胞構築は、これら周囲に位置するPCの細胞構築と明確な区別が可能であった。OPCは、PCと比較すると、より扁平で、より密集し、Nissl染色でより濃く染色されるニューロンの細胞体で構成されていた。多くのOPCニューロンの長軸は、内髄板の層方向に平行（背外側-腹内側方向）であった。また、OPCは、束傍核（PF）とも区別可能であった。PFには、OPCよりも、卵型（扁平ではない）のニューロンの細胞体がより多く含まれ、PFニューロンの細胞体の密度はOPCニューロンの細胞体の密度よりも低かった。OPCの大部分はPFの吻側に位置していたが、OPCの尾側端はPFの吻側端と内外的に重なっていた（図2C, C’; 図3D)。本研究で同定されたOPCの位置（図2）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るように見えた。

三叉神経上核からの投射様態：BDAの注入部位の中心が三叉神経上核の吻尾的中央レベルに認められたcase R116（図1D, E）では、中程度の数の標識された軸索終末が両側性にOPCに認められ、その終末はOPC内の全体に広く分布していた（図3B-D, F-H)。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（図3B)、他の髄板内核群（外側中心核や内側中心核［CM], PF)(図3）や他の視床核（背内側核や後核群など）には認められなかった。また、両側性だが反対側優位に、多数の標識された軸索終末がVPMcvmに、少数の標識された軸索終末が後腹側核小細胞部に認められたが（図3E)、これらの標識の分布様態は、以前の研究（Yoshida et al., 2017）で報告されたものとほぼ同じであった。また、他の3匹のラットの標識された軸索終末の分布様態は、case R116の分布様態に近似していた。

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

8匹のラットを用いて、実験1で明らかにされた三叉神経上核からOPCへの経路が、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚を伝達していることの証明を電気生理学的に試みた。この実験では、咬筋神経の電気刺激で咬筋に誘発される活動電位がOPCでの記録に与える影響を抑えるために、ラットには筋弛緩薬を投与した。case R705では、OPCを狙って刺入したガラス管微小電極から、左（記録部位と同側）の咬筋神経（図4A）および右（記録部位と反対側）の咬筋神経（図4B）の電気刺激によって、最短潜時（約3.3 ms）の応答が記録され、また、下顎の下制でバーストスパイクが記録された（図4C)。この記録部位がOPCであると判断し、その部位のマーキングのため、ガラス管微小電極からHRPを微量注入した。HRPの注入部位は、切片上で左側のOPC内に認められた（図4D, E)。8匹のラットのうち他の2匹（R726, R108）でも同様の結果が得られた。

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

10匹のラットで、実験2と同様にして電気生理学的に同定されたOPCに、逆行性トレーサーを注入した。得られる実験結果の信用度を上げるために、CTbとFGの2種の逆行性トレーサーを使用した。10匹のラットのうち、2匹のラット（R727, R719）でCTbの注入部位が、他の2匹のラット（R918, R618）でFGの注入部位が、OPCを十分にカバーし、周囲にはほとんど侵入していなかった。本実験では、トレーサーの注入後、ラットを4～5日間生存させる必要があったので、筋弛緩薬の投与は行わなかった。case R727では、左側（記録部位と同側）と右側（記録部位の反対側）の咬筋神経の電気刺激で大きな応答が得られた（図5A, B)。その応答の最短潜時は正確に測定できなかったが、応答のピークまでの潜時はそれぞれ約4.7 msと約4.4 msであった。また下顎の下制でバーストスパイクが記録された（図5C)。この記録部位がOPC内であると判断し、ガラス管微小電極からCTbを微量注入した。CTbの注入部位は、OPCの大部分を覆っ

ていたが、OPCの内側に隣接する周囲のPCにわずかに広がっていた（図5D, E)。この注入の結果、逆行性に標識された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、特にその背側部に認められた（図5G-I)。三叉神経上核の尾側部には認められなかった。標識されたより多くのニューロンの細胞体が両側の結合腕傍核（Pb）に、わずかに同側優位に認められた（図5F, G)。さらに、標識された少数のニューロンの細胞体が三叉神経主感覚核の背内側部に両側性に認められた（図5G, I）が、外側楔状束核やX核、Z核、孤束核には認められなかった。同様にして電気生理学的にOPCを同定した後、OPCにFGを注入したcase R918では、注入部位はOPCの大部分を覆っていたが、OPCの背外側に隣接するPCにわずかに広がっていた（図5J, K)。この例と他の2匹のラット（R618, R719）のいずれも、標識されたニューロンの細胞体の分布は、case R727と同様のパターンを示した。

［考察］

本研究にラットを用いる重要性

本研究の目的は、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かどうかを解明することである。これにラットを用いたのは、ラットには閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚の上行路を調べ易いという大きな利点があるためである。つまり、三叉神経上核は一次求心性神経である三叉神経中脳路核ニューロンからの単シナプス性の入力を受けるが、ラットの三叉神経中脳路核ニューロンは閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚を主に伝達するのに対して、他の種（ネコ，サル，ヒトなど）の三叉神経中脳路核ニューロンは歯根膜感覚も伝達することが知られている（Dubner et al., 1978; Shigenaga et al., 1989; Fujio et al., 2016）ためである。よって三叉神経上核からの投射は、ラットでは、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚を伝達する投射と断定して良いと考えられる。さらに、私が属する研究グループはこれまでの研究で、ラットの三叉神経上核からの求心性および遠心性の投射を明らかにしている（Chang et al., 2009; Yoshida et al., 2009, 2017; Fujio et al., 2016; Ikenoue et al., 2018）ので、今回の研究で得られるデータとこれまでの研究のデータとの比較が容易である、と考えたからである。しかし、TS患者の脳深部刺激療法の対象にもなっているCeMはラットには存在しないと言われている（Jones, 2007）ので、ラットではおそらく他の視床髄板内核群がヒトのCeMの機能を補完していると考えられることに注意しなければならない。この点で、ラットを用いた本研究で、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚を伝達する視床髄板内核としてOPCが同定されたことは、極めて重要である。

OPCの位置

OPCはPaxinos and Watson（1986）のラットの脳図譜で、内髄板に存在するPCの尾側レベルの中の卵形の小領域として最初に同定された。それ以来OPCは、他のいくつかのラットの研究で既に同定されているが、OPCの位置、特にOPCの尾側端の位置（PFとの間の境界）は研究者間で大きな差が見られる。Jones（2007）は、OPCとPFを区別することは困難であり、OPCはPFの吻側への延長ではないかとの考えを示している。しかし、本研究では、細胞構築学的にPC内でOPCを同定すること、つまり、OPCとPFの細胞構築を明確に区別することは可能であった。本研究で同定されたOPCの位置は、Paxinos and Watson（1986）によって最初に記述されたOPCの位置にほぼ等しいように見えた。なお、Paxinos and Watson（1998, 2004）のOPCの尾側端は、Paxinos and Watson（1986）のOPCの尾側端よりもかなり尾側に偏位している。Krout and Loewy（2000a, b）とKrout et al.（2001, 2002）もOPCの位置を同定しているが、彼らのOPCの尾側端は、Paxinos and Watson（1998, 2004）のOPCの尾側端よりもさらに尾側に位置している。本研究とPaxinos and Watson（1996）のラットの脳図譜およびSwanson（1992）のラットの脳図譜で、PFの吻側部および腹側部として同定されるべきものが、Paxinos and Watson（1998, 2004）のラットの脳図譜ならびにKroutのグループによってOPCの尾部（Krout and Loewy, 2000a, b; Krout et al., 2001, 2002）として同定されている。大切なことは、本研究で得られた、三叉神経上核からの投射がOPC全体に広がっていたが、PFには決して到達しなかったという結果が、本研究で同定したOPCの位置（ならびにPaxinos and Watson［1986］によって最初に記述されたOPCの位置）の正しさを支持しているということである。

三叉神経上核とその近傍からOPCへの投射の特徴

逆行性トレーサーを用いた実験3で、OPCに投射するニューロンが三叉神経上核よりも結合腕傍核により多く認められた。したがって実験1では、BDAの注入部位の位置を慎重に確認し、注入部位が結合腕傍核を覆っているcaseは本研究の結果の分析から除外した。その結果、BDAの注入部位が三叉神経上核内に十分に限局されていた4匹のラットを再分析した。しかし、ガラス管微小電極は三叉神経上核の吻背側に位置する結合腕傍核を通過して三叉神経上核に刺入されているため、BDAが結合腕傍核に漏れている可能性を完全には排除できない。しかしながら、実験3では、逆行性に標識されたニューロンが確かに三叉神経上核に存在していたので、三叉神経上核からOPCへの投射の存在は間違いないと考えられる。さらに、これまでの研究で、結合腕傍核がOPCとPCに加えてCMやPFにも投射されると報告されているが（Iwai et al., 2015)、本研究の実験1では、CMおよびPFにはBDAの標識された軸索終末は認められなかった。さらに実験2で、OPCにおいて閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚の入力が確かに記録できた。一方、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚を伝達する三叉神経中脳路核ニューロンは、三叉神経上核には投射するが、結合腕傍核には投射しないと報告されている（Shigeaga et al., 1988; Fujio et al., 2016）ので、OPCに伝達された閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚は、結合腕傍核を経由してはいないと考えられる。以上より、本研究の実験1のBDAの注入部位は結合腕傍核をカバーしていないと判断した。

三叉神経上核からOPCへの投射の機能

視床髄板内核の腹側部にはラットの味覚、口腔機械感覚、およびその他の内臓感覚を中継すると報告されているが(Iwai et al., 2015)、これまでに全身の筋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研究はどの動物でも認められないので、本研究は、視床髄板内核群に固有感覚が入力する経路の存在を初めて明ら

かにしたことになる。外側楔状束核とX核またはZ核には、頸部と上肢の筋と下肢の筋から生ずる固有感覚がそれぞれ入力すると報告されているが、興味深いことに、実験3では、その部位にOPCに投射するニューロンを認めなかった。よって、OPCは、口腔顔面以外の全身の筋からの入力は受けずに、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚のみの情報処理に関与していると考えられる。また本研究では、Yoshida et al.(2017) によって既に報告されている、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚の三叉神経上核からVPMcvmへの強力な投射の存在（図3E, 図6）を確認した。本研究の結果を合わせると、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚は三叉神経上核から少なくとも2つの異なる視床領域（OPCおよびVPMcvm）に伝達されることになる。興味深いことに、Sato et al. (2017) はVPMcvmニューロンが、顆粒性島皮質の小領域に投射するが、大脳皮質の体性感覚野と運動野には投射しないと報告している。これは、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が、高次脳領域では感覚の弁別や運動機能ではなく、情動や自律機能により関与していることを示唆している。したがって、OPCに伝達された閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が、OPCからさらに島皮質に伝達されるかどうかを今後明らかにする必要がある。

本研究の実験3では、OPCに投射するニューロンは主に吻側レベルの三叉神経上核に位置していたが、VPMcvmに投射するニューロンは主に尾側レベルの三叉神経上核に位置すると報告されている（Yoshida et al., 2017; Sato et al., 2017)。これらは、三叉神経上核ニューロンが機能局在性を持って配列している可能性を示唆している。しかし、3種類の閉口筋（咬筋に加え、側頭筋と内側翼突筋）の筋紡錘に生ずる固有感覚を伝達する三叉神経中脳路核ニューロンの軸索終末は、三叉神経上核内でこのような機能局在は示さなかった（Fujio et al., 2016)。さらに、本研究では、三叉神経上核ニューロンと比較し、より多くの結合腕傍核ニューロンがOPCに投射することが示された。結合腕傍核からOPCへの投射は既に報告されている（Krout and Loewy, 2000b; Krout et al., 2002; Iwai et al., 2015)。本結果から、OPCに投射する三叉神経上核

ニューロンと結合腕傍核ニューロンとは相同性がある伝達経路を持つと考えられる。しかし、明らかな機能的差異も示唆された。本研究の実験1では、三叉神経上核ニューロンが主にOPCに投射し、CMとPFには投射しないことが明らかになったが、Iwai et al.（2015）は結合腕傍核ニューロンがOPC、PCに加えCMやPFにも投射すると報告している。また、三叉神経上核には三叉神経中脳路核ニューロンによって伝達される閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が入力するが、結合腕傍核には入力しない（Shigenaga et al., 1988; Fujio et al., 2016)。結合腕傍核は、侵害感覚と内臓感覚（例えば、味覚および心肺などの内臓の情報）を中継する（Herbert et al., 1990; Feil and Herbert, 1995）が、三叉神経上核にこれらの末梢感覚が直接入力するという報告はない。したがって、OPCは複数種の感覚情報の調整や処理において重要な役割を果たすと考えられる。

<u>臨床的意義</u>

重度のTS患者の治療で用いられる脳深部刺激療法は、視床髄板内核群の尾側レベルにあるCeM-PF complex（特にCeM）にも行われている（Porta et al., 2009; Kefalopoulou et al., 2015; Schrock et al., 2015)。CeM-PF complexへの脳深部刺激療法は、CeM-PF complexニューロンの異常な神経活動をリセットすることで奏功していると考えられている（Chiken and Nambu, 2013, 2016)。最近、Murakami et al.（2019）は、TS患者にオーラルスプリントを装着し、咬合してもらうことで、チック症状の軽快に効果があることを報告した。その効果のメカニズムは、上下顎の歯列弓の間に挿入したオーラルスプリントを咬合することで、閉口筋の筋紡錘の錘内筋線維が伸張され、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚が著しく賦活化されること（Morimoto et al., 1989; Hidaka et al., 1999）と考えている。したがって、賦活化された閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚は、おそらくは、TS患者の視床内髄板領域のラットのOPC

に対応する何らかの核に伝達され、その部の異常な神経活動が正常化（リセット）することに重要な働きをしている可能性がある。ラットで同定されたOPCに相当する部位はヒトでは未だに発見されていない。一方、ヒトで存在するCeMはラットには存在しないと言われている（Jones, 2007)。このことからヒトのCeMはラットのOPCに機能的に相当している可能性が考えられる。今後、TSのモデルラット（Bronfeld et al., 2013）を用い、OPCニューロンを直接操作することでチック症状が改善できるかどうかを調べる必要があろう。

［参考文献］

Bronfeld M, Israelashvili M, Bar-Gad I (2013) Pharmacological animal models of Tourette syndrome. Neurosci Biobehav Rev 37:1101–1119.

Chang Z, Haque T, Iida C, Seki S, Sato F, Kato T, Uchino K, Ono T, et al. (2009) Distribution of premotoneurons for jaw-closing and jaw-opening motor nucleus receiving contacts from axon terminals of primary somatosensory cortical neurons in rats. Brain Res 1275:43-53.

Chiken S, Nambu A (2013) High-frequency pallidal stimulation disrupts information flow through the pallidum by GABAergic inhibition. J Neurosci 33:2268–2280.

Chiken S, Nambu A (2016) Mechanism of deep brain stimulation: inhibition, excitation, or disruption? Neuroscientist 22:313–322.

Dubner R, Sessle BJ, Storey AT (1978) The neural basis of oral and facial function. New York: Plenum Press.

Feil K, Herbert H (1995) Topographic organization of spinal and trigeminal somatosensory pathways to the rat parabrachial and Kölliker-Fuse nuclei. J Comp Neurol 353:506–528.

Fujio T, Sato F, Tachibana Y, Kato T, Tomita A, Higashiyama K, Ono T, Maeda Y, et al. (2016) Revisiting the supratrigeminal nucleus in the rat. Neuroscience 324:307–320.

Ganos C, Garrido A, Navalpotro-Gómez I, Ricciardi L, Martino D, Edwards MJ, Tsakiris M, Haggard P, et al. (2015) Premonitory urge to tic in Tourette's is associated with interoceptive awareness. Mov Disord 30:1198–1202.

Herbert H, Moga MM, Saper CB (1990) Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. J Comp Neurol 293:540–580.

Hidaka O, Morimoto T, Kato T, Masuda Y, Inoue T, Takada K (1999) Behavior of jaw muscle spindle afferents during cortically induced rhythmic jaw movements in the anesthetized rabbit. J Neurophysiol 82:2633–2640.

Ikenoue E, Akhter F, Tsutsumi Y, Sato F, Ohara H, Uchino K, Furuta T, Tachibana Y, et al. (2018) Transcortical descending pathways through granular insular cortex conveying orofacial proprioception. Brain Res 1687:11-19.

Iwai H, Kuramoto E, Yamanaka A, Sonomura T, Uemura M, Goto T (2015) Ascending parabrachio-thalamo-striatal pathways: potential circuits for integration of gustatory and oral motor functions. Neuroscience 294:1–13.

Jones EG (2007) The Thalamus, Cambridge University Press, Cambridge.

Kefalopoulou Z, Zrinzo L, Jahanshahi M, Candelario J, Milabo C, Beigi M, Akram H, Hyam J, et al. (2015) Bilateral globus pallidus stimulation for severe Tourette's syndrome: a double-blind, randomised crossover trial. Lancet Neurol 14:595–605.

Krout KE, Belzer RE, Loewy AD (2002) Brainstem projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. J Comp Neurol 448:53–101.

Krout KE, Loewy AD (2000a) Periaqueductal gray matter projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. J Comp Neurol 424:111–141.

Krout KE, Loewy AD (2000b) Parabrachial nucleus projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. J Comp Neurol 428:475–494.

Krout KE, Loewy AD, Westby GW, Redgrave P (2001) Superior colliculus projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. J Comp Neurol 431:198–216.

Kwak C, Dat Vuong K, Jankovic J (2003) Premonitory sensory phenomenon in Tourette's syndrome. Mov Disord 18:1530–1533.

Leckman JF, Walker DE, Cohen DJ (1993) Premonitory urges in Tourette's syndrome. Am J Psychiatry 150:98–102.

Morimoto T, Inoue T, Masuda Y, Nagashima T (1989) Sensory components facilitating jaw-closing muscle activities in the rabbit. Exp Brain Res 76:424–440.

Murakami J, Tachibana Y, Akiyama S, Kato T, Taniguchi A, Nakajima Y, Shimoda M, Wake H, et al. (2019) Oral splint ameliorates tic symptoms in patients with Tourette syndrome. Mov Disord 34:1577-1578.

Novotny M, Valis M, Klimova B (2018) Tourette Syndrome: A Mini-Review. Front Neurol 9:139.

Paxinos G, Watson C (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates, 2nd edn. Academic Press, Sydney.

Paxinos G, Watson C (1998) The rat brain in stereotaxic coordinates, 4th edn. Academic Press, Sydney.

Paxinos G, Watson C (2014) The rat brain in stereotaxic coordinates, 7th edn. Academic Press, Sydney.

Porta M, Brambilla A, Cavanna AE, Servello D, Sassi M, Rickards H, Robertson MM (2009) Thalamic deep brain stimulation for treatment-refractory Tourette syndrome: two-year outcome. Neurology 73:1375–1380.

Sato F, Uemura Y, Kanno C, Tsutsumi Y, Tomita A, Oka A, Kato T, Uchino K, et al. (2017) Thalamo-insular pathway conveying orofacial muscle proprioception in the rat. Neuroscience 365:158–178.

Schrock LE, Mink JW, Woods DW, Porta M, Servello D, Visser-Vandewalle V, Silburn PA, Foltynie T, et al. (2015) Tourette syndrome deep brain stimulation: a review and updated recommendations. Mov Disord 30:448–471.

Shigenaga Y, Mitsuhiro Y, Yoshida A, Cao CQ, Tsuru H (1988) Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating masseter muscle of the cat. Brain Res 445:392–399.

Shigenaga Y, Doe K, Suemune S, Mitsuhiro Y, Tsuru K, Otani K, Shirana Y, Hosoi M, Yoshida A, Kagawa K (1989) Physiological and morphological characteristics of periodontal mesencephalic trigeminal neurons in the cat--intra-axonal staining with HRP. Brain Res 505:91–110.

Swanson LW (1992) Brain maps: structure of the rat brain. Amsterdam: Elsevier.

Taylor A (1990) Neurophysiology of the jaws and teeth. Macmillan Press, London.

Tinaz S, Malone P, Hallett M, Horovitz SG (2015) Role of the right dorsal anterior insula in the urge to tic in Tourette syndrome. Mov Disord 30:1190–1197.

Yoshida A, Fujio T, Sato F, Ali MS, Haque T, Ohara H, Moritani M, Kato T, et al. (2017) Orofacial proprioceptive thalamus of the rat. Brain Struct Funct 222:2655–2669.

Yoshida A, Taki I, Chang Z, Iida C, Haque T, Tomita A, Seki S, Yamamoto S, et al. (2009) Corticofugal projections to trigeminal motoneurons innervating antagonistic jaw muscles in rats as demonstrated by anterograde and retrograde tract tracing. J Comp Neurol 514:368-386.

［図の説明］

図1

三叉神経上核を同定するために三叉神経上核から記録した応答（A, B）と、同定された三叉神経上核に注入した順行性トレーサーであるビオチン化デキストランアミン（BDA）の注入部位（C-E）

A, B：case R116での記録。A：左側（記録部位と同側）の咬筋神経の電気刺激に対する応答。矢頭は、大きな応答の最短潜時（1.6ミリ秒）を示す。B：下顎の下制時（横線で示す5.4秒間）の応答。C, D：三叉神経上核の吻側レベル（C）と吻尾的中央レベル（D）に注入された4例（R221, R123, R810, R116）の注入部位を示す。E：case R116において、(D) の青色の四角で囲まれた部位（BDAの注入部位が黒色で塗られている）の顕微鏡写真。切片はニュートラルレッドで淡く対比染色している。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照せよ。

図2

ラットのoval paracentral nucleus（OPC）の位置を確認するために示した、視床髄板内核群の尾側レベルを含む背側視床の細胞構築

クレシルバイオレットで染色した冠状断切片の顕微鏡写真（A-D）とそれぞれのトレース（A'-D'）。A-D：背側視床の尾側レベルの冠状断切片を吻尾的に並べている。数字は、ブレグマから尾側方向（-）の距離（mm 単位）。2B', C'：OPCを赤線で囲ってある。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照せよ。

図3

三叉神経上核に順行性トレーサーであるBDAを注入した時の、背側視床に認められた標識された軸索終末の分布（case R116）

このケースの注入部位は、図1D, Eに示されている。A-E：背側視床の尾側レベルの冠状断切片を吻尾的に並べている。数字は、ブレグマから尾側方向（-）の距離（mm単位）。BDAの標識された軸索終末を赤色の小点で描いている。F, G：(C) の緑色の四角で囲まれた部位の顕微鏡写真。切片F（対比染色していない）は切片G（ニュートラルレッドで対比染色している）の隣の切片である。H：(G) の青色の点線四角で囲まれた部位の拡大写真。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照せよ。

図4

OPCを同定するためにOPCから記録された応答（A-C)と、記録部位に注入した西洋わさび由来過酸化酵素の注入部位のトレースと顕微鏡写真（D, E)(case R705)

A, B：左側（記録部位と同側）の咬筋神経（A）と右側（記録部位の反対側）の咬筋神経（B）の電気刺激に対する応答。本例は筋弛緩薬を投与している。矢頭は、大きな応答の最短潜時（A、Bともに3.3ミリ秒）を示す。C：下顎の下制時（横線で示す4.1秒間）の応答。D：ブレグマから尾側方向（-）に3.36 mm離れた背側視床の冠状断切片に認められた、OPCに注入された西洋わさび由来過酸化酵素の注入部位のトレース。E：(D) の赤色の四角で囲まれた部位の顕微鏡写真。ニュートラルレッドで淡く対比染色している。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照せよ。

図5

OPCを同定するためにOPCから記録した応答（A-C)と、同定されたOPCに注入した逆行性トレーサーであるコレラ毒素Bサブユニット（CTb）の注入部位（D, E）またはフルオ

ロゴールド（FG）の注入部位（J, K)、その結果得られた三叉神経上核内およびその周辺に認められた標識されたニューロンの細胞体の分布（F-I）

A-I：case R727。A, B：左側（記録部位と同側）の咬筋神経（A）と右側（記録部位の反対側）の咬筋神経（B）の電気刺激に対する応答。本例は筋弛緩薬を投与していない。矢頭は、大きな応答のピークの潜時（Aが約4.7ミリ秒、Bが4.4ミリ秒）を示す。C：下顎の下制時（横線で示す4.7秒間）の応答。D：ブレグマから尾側方向（-）に3.40 mm離れた背側視床の冠状断切片に認められた、OPCに注入されたCTbの注入部位のトレース。E：(D）の赤色の四角で囲まれた部位の顕微鏡写真。ニュートラルレッドで淡く対比染色している。F-H：橋の冠状断切片のトレースを吻尾的に並べている。数字は、左側の三叉神経運動核の尾側端から吻側方向への距離（μm 単位)。CTbで標識されたニューロンの細胞体を青色の点で描いている。I：(G）の緑色の四角で囲まれた部位の顕微鏡写真。切片は対比染色していない。J, K：case R918。J：背側視床冠状断切片（ブレグマから尾側に3.24 mm）に認められた、OPCに注入されたFGの注入部位のトレース。K：(J）の赤色の四角で囲まれた部位の蛍光顕微鏡写真。切片は対比染色していない。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照せよ。

図6

口腔顔面に生ずる固有感覚を視床に伝達する3個の上行路を示す模式図

本研究で明らかになった閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚感覚を伝達する三叉神経上核からのOPCへの経路を赤色の線で示す。Yoshida et al.（2017）で明らかにされた三叉神経上核から視床後内側腹側核尾腹内側縁（VPMcvm）への経路を青色の線で示す。Fujio et al.（2016）によって明らかにされた三叉神経中脳路核ニューロン(の一次求心性神経）によって、閉口筋の筋紡錘に生ずる固有感覚を三叉神経上核に伝達する経路を緑色の線で示す。さらに、閉口筋の筋紡錘以外の口腔顔面に生ずる固有感覚

を含む口腔顔面の感覚を伝える経路をオレンジ色の線で示す。OPCとVPMcvmは吻尾的にわずかに重なっているだけであるが、分かりやすいように、同じ吻尾レベルに示してある。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照せよ。

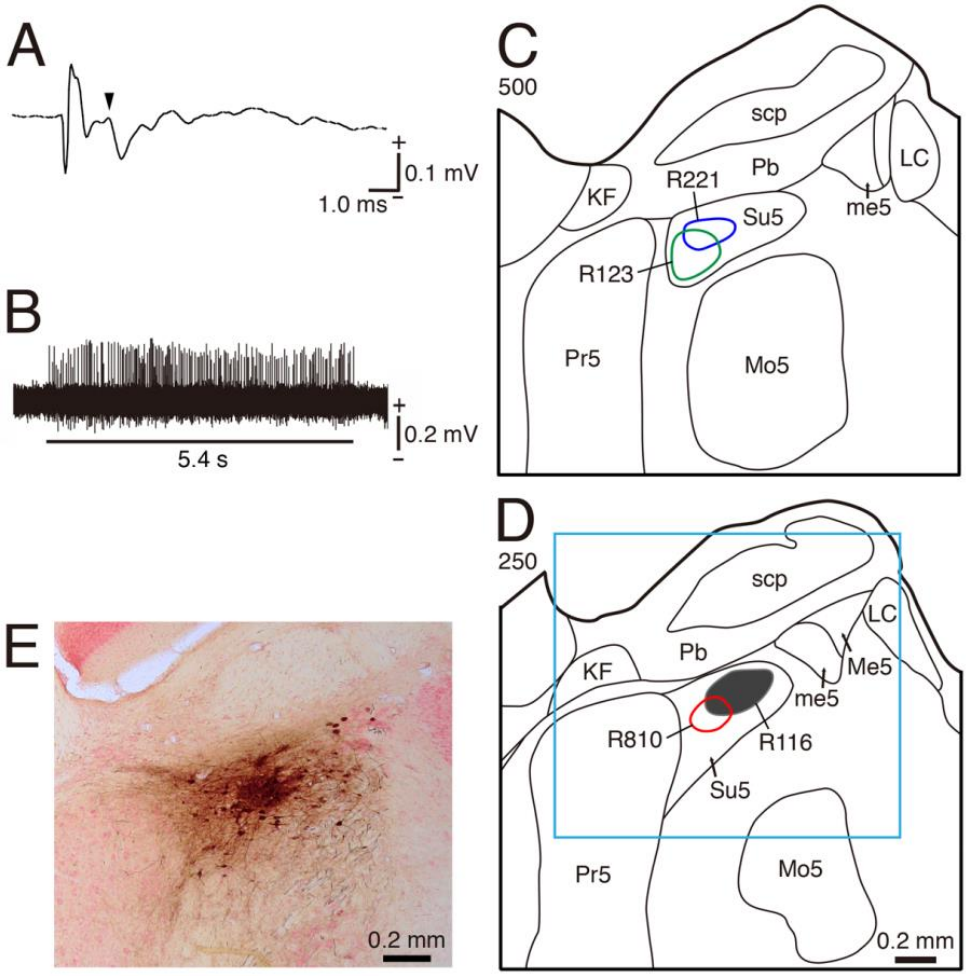
A
0.1 mV
1.0 ms
B
0.2 mV
5.4 s
C
500
scp
LC
Pb
R221
KF
me5
Su5
R123
Pr5
Mo5
D
250
scp
LC
Pb
Me5
KF
me5
R810
R116
Su5
Pr5
Mo5
0.2 mm
E
0.2 mm

図 1

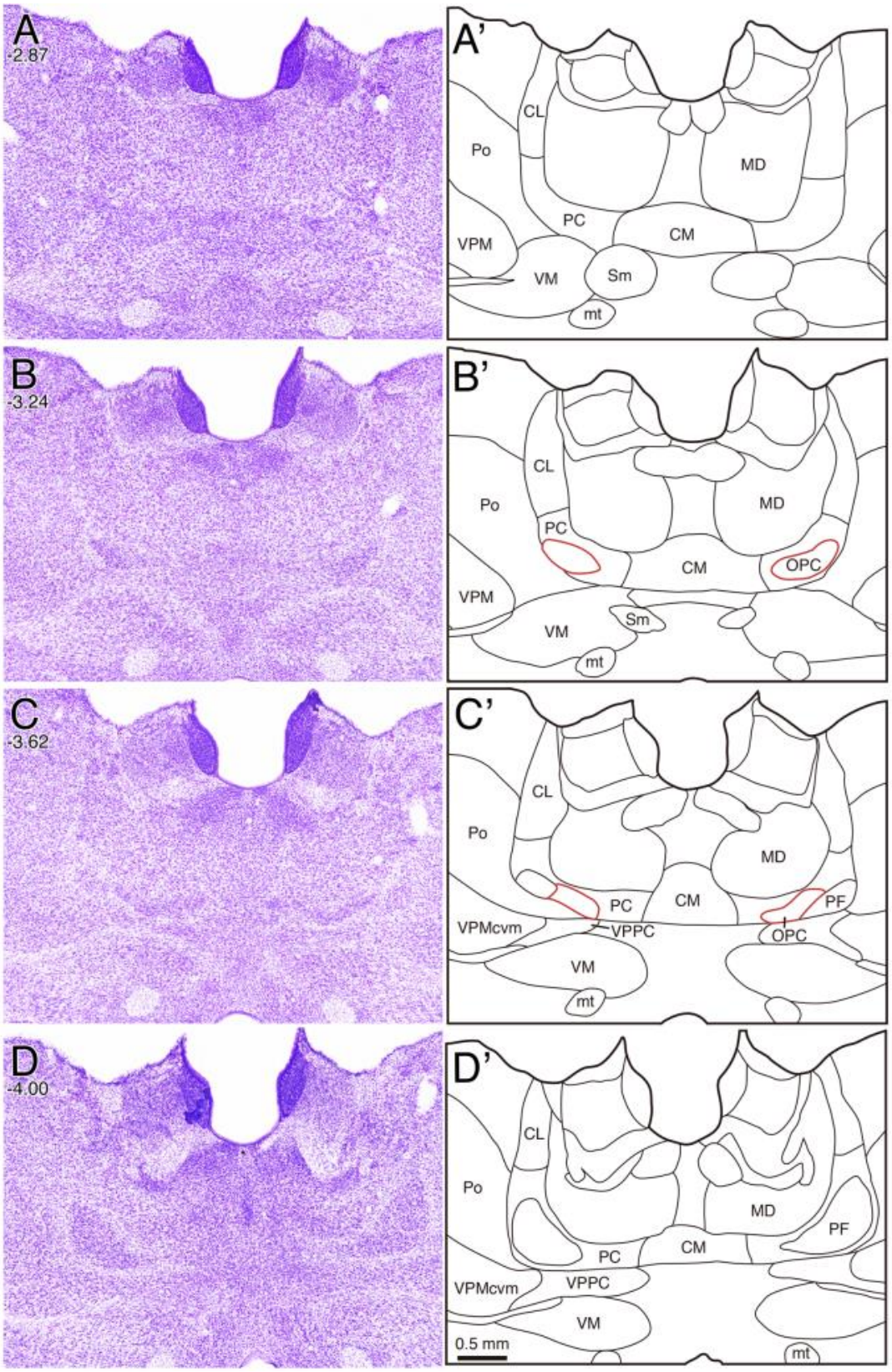
A
-2.87
A'
CL
Po
MD
PC
CM
VPM
VM
Sm
mt
B
-3.24
B'
CL
Po
MD
PC
CM
OPC
VPM
VM
Sm
mt
C
-3.62
C'
CL
Po
MD
PC
CM
PF
VPMcvm
VPPC
OPC
VM
mt
D
-4.00
D'
CL
Po
MD
PF
PC
CM
VPMcvm
VPPC
VM
0.5 mm
mt

図 2

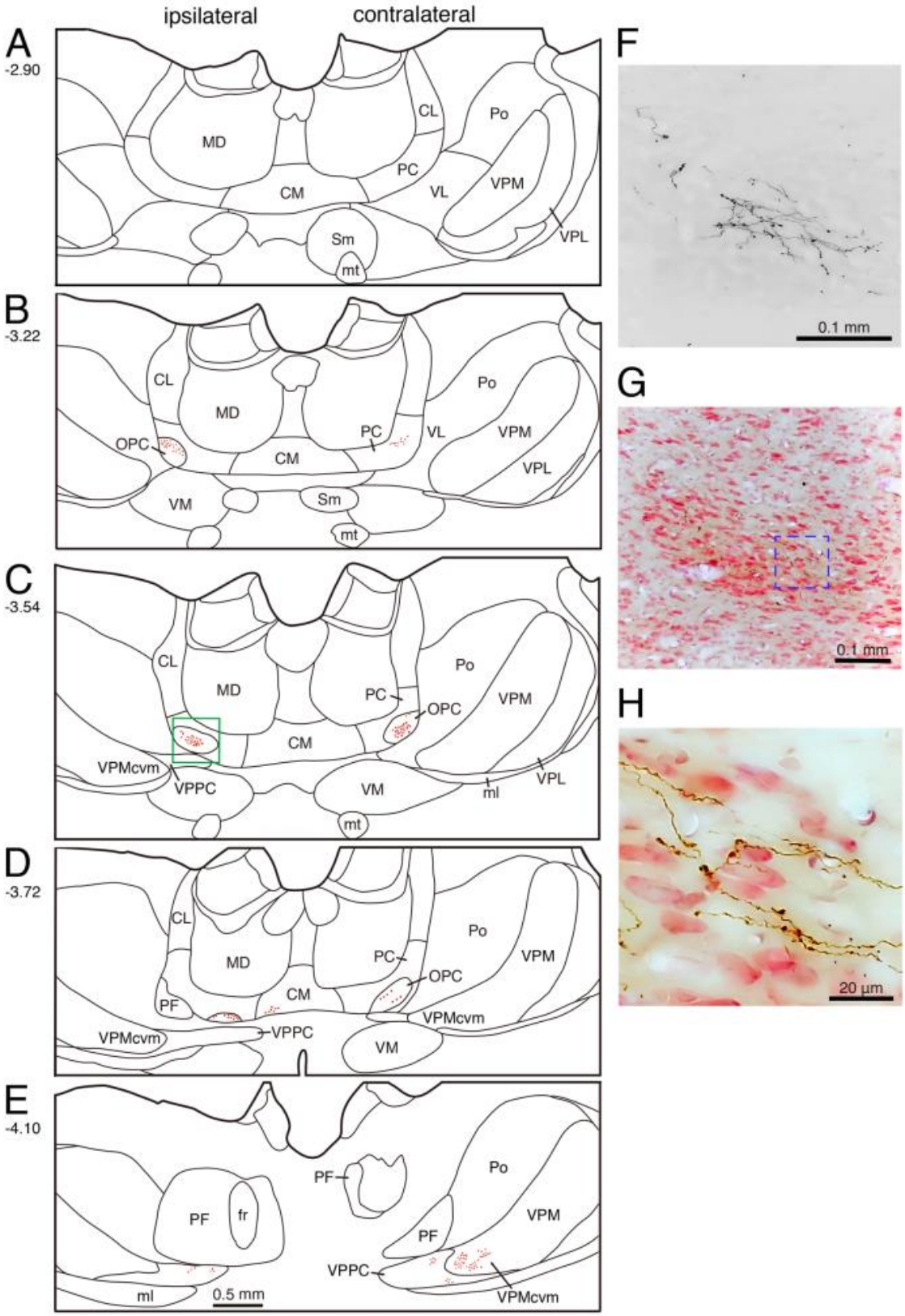
ipsilateral
contralateral
A
-2.90
MD
CL
Po
PC
CM
VL
VPM
Sm
mt
VPL
B
-3.22
CL
MD
Po
OPC
PC
VL
VPM
CM
VPL
VM
Sm
mt
C
-3.54
CL
MD
Po
PC
OPC
VPM
CM
VPMcvm
VPPC
VM
ml
VPL
mt
D
-3.72
CL
MD
Po
PC
VPM
OPC
CM
PF
VPMcvm
VPPC
VPMcvm
VM
E
-4.10
PF
Po
PF
fr
VPM
PF
VPPC
ml
0.5 mm
VPMcvm
F
0.1 mm
G
0.1 mm
H
20 µm

図 3

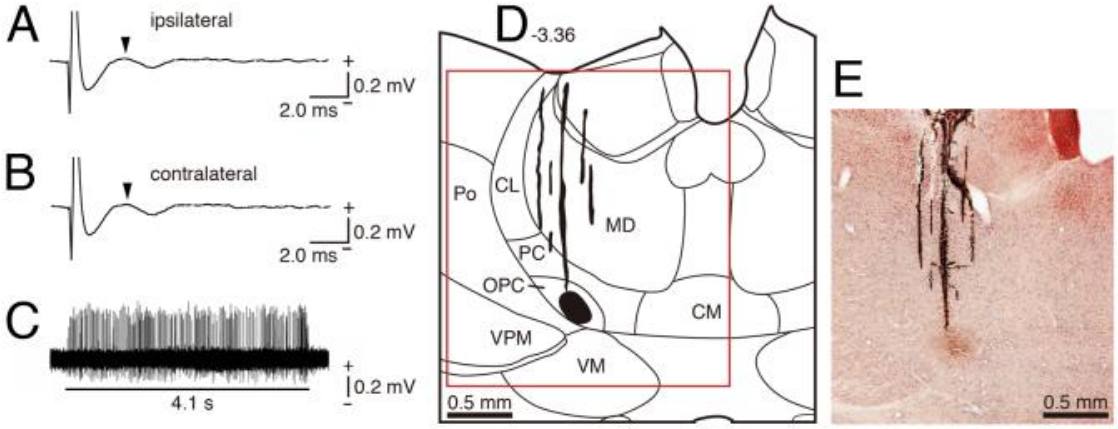
A
ipsilateral
0.2 mV
2.0 ms
B
contralateral
0.2 mV
2.0 ms
C
0.2 mV
4.1 s
D
-3.36
Po
CL
MD
PC
OPC
CM
VPM
VM
0.5 mm
E
0.5 mm

図４

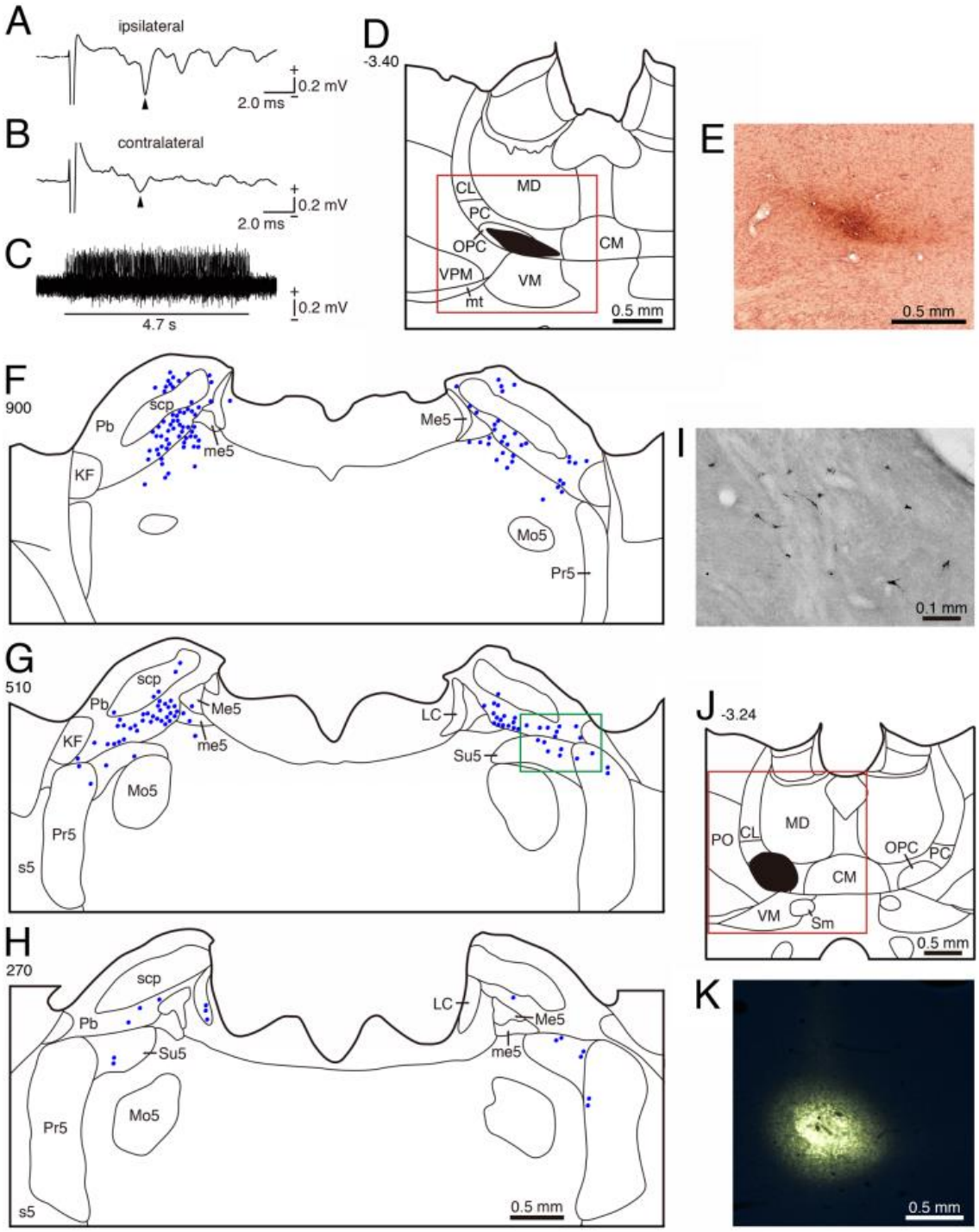
A
ipsilateral
0.2 mV
2.0 ms
B
contralateral
0.2 mV
2.0 ms
C
0.2 mV
4.7 s
D
-3.40
CL
MD
PC
OPC
CM
VPM
VM
mt
0.5 mm
E
0.5 mm
F
900
scp
Pb
me5
Me5
KF
Mo5
Pr5
I
0.1 mm
G
510
scp
Pb
Me5
me5
KF
Mo5
Pr5
s5
LC
Su5
J
-3.24
PO
CL
MD
OPC
PC
CM
VM
Sm
0.5 mm
H
270
scp
Pb
Su5
LC
Me5
me5
Mo5
Pr5
s5
0.5 mm
K
0.5 mm

図 5

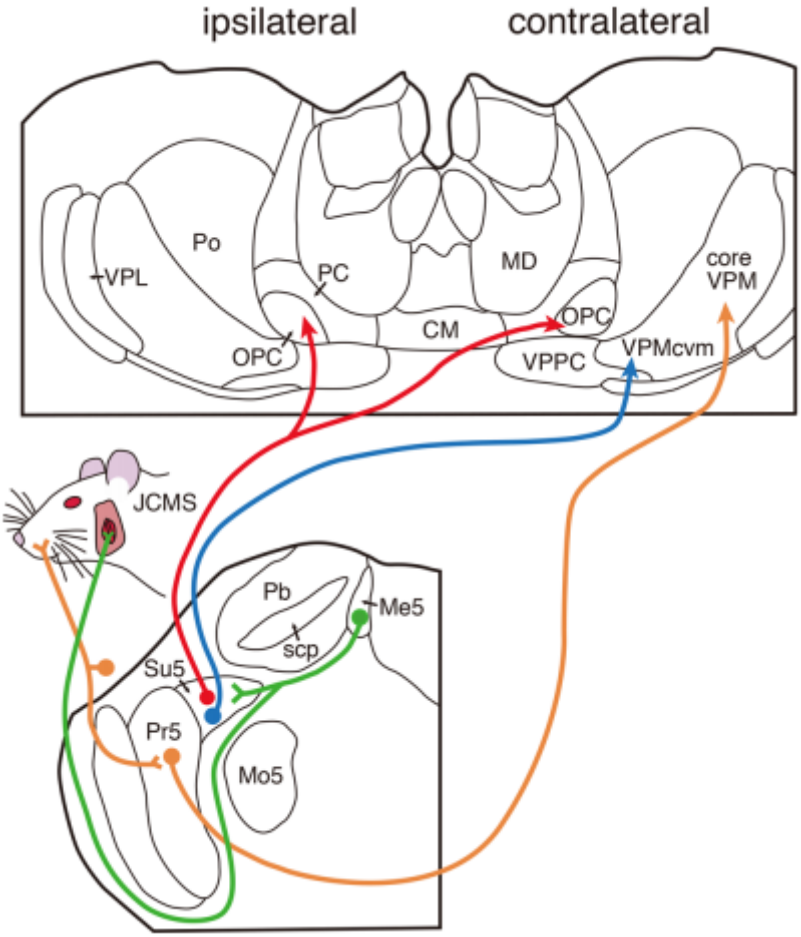
ipsilateral
contralateral
Po
VPL
PC
MD
core
VPM
CM
OPC
OPC
VPPC
VPMcvm
JCMS
Pb
Me5
scp
Su5
Pr5
Mo5

図 6

［謝辞］

稿を終えるにあたり、本研究を行う貴重な機会を与えて頂き、ご懇切なるご指導を賜りました大阪大学大学院歯学研究科顎口腔病因病態制御学講座（口腔外科学第二教室）鵜澤成一教授と高次脳口腔機能学講座（口腔解剖学第二教室）吉田篤教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究の遂行にあたり、多くのご助言とご協力を頂きました口腔外科学第二教室、口腔解剖学第二教室の教室員の方々に厚くお礼申し上げます。