



Title	口腔顔面領域における触覚受容器の情報符号化メカニズム
Author(s)	
Citation	令和3（2021）年度学部学生による自主研究奨励事業 研究成果報告書．2022
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/85612
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

令和3年度大阪大学未来基金「学部学生による自主研究奨励事業」研究成果報告書

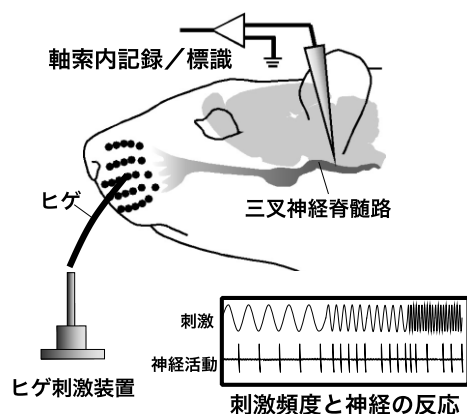
ふりがな氏名	にしもと れん 西本 廉	学部 学科	歯学部歯学科	学年	4 年
ふりがな 共 同 研究者氏名		学部 学科		学年	年
					年
					年
アドバイザー教員 氏名	ふるた たかひろ 古田 貴寛	所属	歯学部口腔解剖学第二教室		
研究課題名	口腔顔面領域における触覚受容器の情報符号化メカニズム				
研究成果の概要	研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。(先行する研究を引用する場合は、「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い、盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。)				

①研究目的

口腔顔面領域では精巧な感覚情報処理と運動制御が連携して機能をはたします。例えば、咀嚼時において舌は、食物を口腔内に迎え入れ、それを上下歯列の間に保持したり、咽頭部へ送ったりする機能を持つが（その際に舌自体が噛まれることはない）、これは舌の鋭敏な触覚情報がその運動制御に活かされているからこそ実現するものです。そこで我々は、実験動物ラットにおいて発達した三叉神経触覚系であるヒゲ感覚を題材とすることで口腔顔面領域の運動、感覚の解明につながると考えました。ラットのヒゲは非常に優れた触覚センサーであり、その根本の毛包では毛根部を取り巻くように数多くの機械受容器が配置されています。それら機械受容器は複数の形態学的タイプが存在していることが知られており、また、毛包の機械受容器はそれ以外の場所にある機械受容器と相同のものであると考えられています。末梢における情報の符号化のメカニズムを知るために、ラットのヒゲ感覚、運動についての先行研究を参考にしながら、様々な振動数の入力に対する受容器の反応特性を解析し、またその受容器の形態学的構築について調べる実験を実施することにしました。

②研究計画

ラットの脳幹三叉神経脊髄路にガラス電極を刺入し、一次求心性線維（末梢神経）に対し軸索内記録を成立させる（図）(Furuta et al., 2020*)。人工的な振動刺激入力に対する末梢感覚神経の反応を調べる。ボイスコイルアクチュエータを利用した刺激装置を用いてヒゲの先端を押すことによりヒゲ刺激とするが、基本的にサイン波状の刺激様式を用い、その周波数や振幅を変化させ、単一神経レベルでの反応特性を記録解析する。その後、色素を注入し、感覚器内部における末梢受容器（神経終末）の形態的特徴を再構築する。神経標識の観察で明らかにした末梢受容器の形態学的構築と、各神経終末の反応の周波数特性とを直接結びつけるデータをもとに、末梢機械受容器でヒゲの振動を神経活動に変換するモデルを理論的に構築する。



図：感覚器における末梢感覚神経（末梢受容器）の活動記録と形態学的研究

③研究方法

大まかな手順について以下に示していく。

1.前準備

200g~300g のラットにイソフルランの吸入麻酔と 7% 抱水クロラルの腹腔内注射によって麻酔をかけた後、イヤバーとインサイザルバーでラットの頭部を作業台に固定する。

2.手術

手術はイソフルランの吸入麻酔下で行う。尾側は橋・延髄レベルで作業が出来るように、吻側はブレグマの見える位置まで皮膚および骨膜に切開を加え、頭蓋骨を露出する。本実験では脳幹の三叉神経脊髄路にガラス電極を刺入することが目的であるため、頭蓋骨と脳の位置関係を意識し、頭蓋骨の一部を技工用のエンジンバーで除去し、脳を一部露出させる。

3.電極の刺入

BDA(biotinilated dextra amine)を注入したガラス電極をあらかじめ作成しておき、作業台に設置した後、脳に刺入する。刺入する位置はブレグマなど解剖学的指標を参考に決定する。

4.軸索の探索

刺入したガラス電極をモーターによって徐々におろしていく。電氣的波形は電極に繋がれた増幅装置と変換装置によってパソコンでモニタリングする。三叉神経脊髄路に存在する一次求心性線維の軸索を電氣的波形とヒゲ刺激に対する反応によって探索する。

5.刺激に対する記録と色素注入

ヒゲ刺激に反応する軸索に辿り着いたら、刺激装置でヒゲに様々な周波数の機械的刺激を加え、それに対する神経活動を記録する。記録し終わると BDA を注入する。注入し終わったらガラス電極を抜き切開した皮膚を縫合し閉じる。

6.術後(灌流固定と組織摘出)

実験を終えたラットは約 2 週間飼育する。注入した BDA を末梢の受容器まで到達させる必要があるためである。2 週間目に 4%ホルマリンを用いて灌流固定を行う。十分な固定の後、頭部から脳幹を含む脳と三叉神経節を含む三叉神経、顔面領域からヒゲを含む皮膚パッドの計 3 点を摘出する。

摘出後は 30%スクロースに漬け保存する。

7.切片作成

脳幹は 70 μm 、三叉神経と皮膚については 100 μm で切片を作成する。組織をドライアイスを用いて凍

結させ、ミクロトームでスライスする。切片作成後は過酸化水素を用いて血球を除去する。

8.組織染色

ABCKit(VECTOR)を用いて BDA(注入部位)を標識し DAB 反応により発色を行う。

9.組織スライドの作成

染色を終えた組織切片をスライドガラスに並べ、エタノールによる脱水とレモゾールによる透徹を行い、カバーガラスで封入する。

10.顕微鏡で観察

最終的に完成した組織スライド(脳幹、三叉神経、末梢)を顕微鏡を用いて細胞体、軸索、末梢の受容器の形態を観察し、実験中に得られた電気生理学的データと合わせて考察を行う。

④研究結果

上記 in vivo 実験により、単一軸索における軸索内記録／標識を成立させることに成功した。軸索によってはヒゲ以外の領域（例えば唇や顔面表面）に対する刺激に反応するものもあったが、ここではヒゲ刺激に反応する軸索だけを実験対象とした。ヒゲ刺激に対する単一軸索の反応を見ると、全ての軸索はいずれか一つのヒゲに対する刺激にのみ反応し、その隣のヒゲを刺激しても反応しないことがわかった。つまり、ヒゲ機械受容器の受容野（神経素子に反応を生じさせる体の領域）サイズはヒゲ一本であることが明らかになった。ヒゲは横方向に突出した突起であるため、それを押す方向は、前方、上方、後方、下方など、さまざまな方向へ刺激を与えることができる。軸索によっては、反応を生じさせる刺激の方向が、ある一定の方向にのみ限局されるものもあった。ボイスコイルアクチュエータによって高周波の機械刺激を受容野のヒゲに加えたところ、刺激の周期に合わせて（同じ位相で）反応する特性を示した。反応が追従できる刺激周波数の上限は、軸索ごとに異なっていたが、最大では 500Hz を超える周波数に追従したものもあった。軸索の一つの活動電位という現象自体、その開始から終了までの時間が約 1 ミリ秒というイベントであるが、500Hz を超えるということは、わずかに二倍の幅の時間内に活動電位が生じるという、非常に密な発火現象であることがわかる。そうした高頻度刺激に対する反応特性を記録した後、その軸索に BDA が注入され、上記の通りの方法によってヒゲ毛包部の組織標本を作成し、形態観察を行った。注入を試みた軸索の全てではないが、何割かの軸索は標識され、形態が観察された。形態学的分類としては、メルケル終末、槍型終末、棍棒状終末などを含む、複数種類の機械受容器が標識された（活動記録された）軸索の末梢側末端に可視化されているところが観察できた。全ての標識軸索において、受容野と一致した領域に末梢側末端が分布しており、つまり、二つ以上のヒゲ毛包にまたがって軸索が分布しているものは皆無であった。また、円筒形の毛包構造において、標識された機械受容器が分布するのは周回上の一部に限局しており、軸索ごとに強い反応を示す特異的な刺激方向との関係性を示唆した。高頻度機械刺激に対する反応において、追従できる限界の周波数と機械受容器の形態学的特徴との関係を解析してみたところ、機械受容器の形態的タイプごとに発火周波数の限界が異なることが示唆された。機械的入力の高頻度振動に対し、それを神経活動に変換するメカニズムにおいては、受容器タイプごとに異なる役割を果たしているのではないかと考えられる。これについては、さらにサンプル数を増やして、十分な統計的解析を行えるだけのデータを蓄積することにより、よりはっきりした結果が得られると考える。

⑤本研究の考察と将来性

今回口腔顔面領域の触覚について理解を深めるために、三叉神経触覚系であるラットのヒゲ感覚を題材として実験を行った。結果として末梢受容器の形態によってその発火様式、発火頻度が異なること

や、受容器ごとの分布箇所の違いが存在することが分かったのだが、これらは一次ニューロンの軸索記録／標識であるため、さらに上位の脳への投射経路および感覚野における分布の様子や運動と感覚情報の統合については本実験だけで明らかにするには不十分である。今回の実験ではヒゲ機械受容器の受容野がヒゲ一本に限局していることが明らかになったが、ラットが探索行動で一本のヒゲから得ている情報が中枢までにどのように修飾（抑制や統合）されているのかについても引き続き研究を続けていきたいと思う。はじめに述べたように食事時の口腔内の複雑な舌運動や食塊形成についてはまさに感覚と運動との統合によって起こっているものだと考えているため、引き続き実験を重ね解明していきたいと考えている。

⑥本研究を終えて

本研究を終えて、最も自分が得られる部分が大きかったと感じるのは本研究の実験方法である。今回行った単一軸索における軸索内記録／標識の方法を利用することで口腔顔面領域のほかの感覚（三叉神経だけでなく顔面神経など）の末梢受容器の特性や刺激に対する反応、情報の投射経路について知ることが出来ると考えられるからである。人間が意識することなく行っている感覚と運動の統合について具体的な方針が明確に定まっているわけではないが、今回の研究はその入り口になるものだと感じられた。歯学部は3年次の基礎配属実習を終えて以降は本学部の研究に実際に参加する機会が中々無いため、今回学部学生における自主研究奨励事業に応募して非常にいい経験となった。