OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	閉口筋筋紡錘感覚の小脳皮質投射の解明
Author(s)	堤, 友美
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/95992
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　堤　友美　）	
論文題名	閉口筋筋紡錘感覚の小脳皮質投射の解明

論文内容の要旨

[緒言および目的]

Ecclesらが小脳皮質の複雑な神経回路を解明 (Eccles et al., 1967) して以来、小脳皮質への情報入力が小脳の運動機能に重要であることが明らかになった。しかし、入力した筋紡錘感覚が、小脳皮質でどのように処理されるのかは未だ十分には解決されていない。閉口筋筋紡錘感覚を含む全身の筋の筋紡錘感覚のいずれも、入力する小脳皮質部位は電気生理学的に同定されておらず、形態学的に調べられたものもラットにおいては、頸部と上肢の筋紡錘感覚を伝達する外側楔状束核 (ECu) から小脳皮質への投射 (Quy et al., 2011) のみである。そこで本研究では、閉口筋筋紡錘感覚を伝達する三叉神経上核 (Su5) から小脳皮質への投射部位を、形態学的および電気生理学的に解明することを目的とした。また、口腔顔面の筋紡錘感覚の特徴を示すため、頸部と上肢の筋紡錘感覚を伝達するECuからの小脳皮質投射も明らかにし、比較した。

[方法]

雄ラットを用い、イソフルラン吸入または塩酸ケタミンと塩酸キシラジンによる麻酔下で行った。

実験１：順行性神経トレーサーのビオチン化デキストランアミン（BDA）を封入したガラス電極を、Su5を狙って刺入した。咬筋神経の電気刺激に対する応答と、下顎の受動的下制に対する応答を記録してSu5を同定し、BDAを電気泳動 (＋電流、2 μA、5分) で微量注入した。

実験２：実験１でBDA標識軸索終末が見られた小脳皮質部位を狙って、逆行性神経トレーサーのFluorogold（FG）またはコレラ毒素Bサブユニット（CTb）を封入したガラス電極を刺入した。咬筋神経の電気刺激に対する応答と、下顎の受動的下制に対する応答が記録された部位にFGまたはCTbを電気泳動 (＋電流、2 μA、10分) または油圧 (0.1 μl) で注入した。

実験３：BDAを封入したガラス電極を、目視下でECuの背側表面から刺入した。BDAを電気泳動 (＋電流、2 μA、5分) で微量注入した。

切片の作成と観察：トレーサー注入から4〜7日後に、深麻酔下で動物を灌流固定した。脳を摘出し、連続冠状断切片を作成した。BDA標識はABC法とDAB法で、FG標識はFGに対する抗体を用いてABC法とDAB法で、CTb標識はCTbに対する抗体を用いてABC法とDAB法で可視化した。FG注入部位は蛍光顕微鏡で観察した。他の標識は明視野で顕微鏡観察した。

[結果]

実験１：右側咬筋神経の電気刺激に対する応答 (フィールド電位) (ピークの応答の潜時は2.0-2.2 ミリ秒)と約5秒間の下顎の受動的下制で誘発された応答 (ユニット電位またはバースト電位)を記録し、電気生理学的にSu5を同定した。これらの記録部位に順行性神経トレーサーであるBDAを微量注入した結果、BDA標識軸索終末は、両側の小脳皮質顆粒層に認められ、小脳半球部に多く、小脳半球部の内側部よりも外側部に多く分布していた。多くのBDA標識軸索終末が主に、両側の小脳皮質第X小葉の半球部である片葉、小脳皮質第VIa小葉の半球部である単小葉B、小脳皮質第VII小葉の半球部である第二脚の3カ所に認められた。片葉でのBDA標識軸索終末は、吻側部において強く分布していた。単小葉BでのBDA標識軸索終末は、内側部よりも外側部に強く分布していた。第二脚でのBDA標識軸索終末は、内側部と外側部の両方に広く分布していた。これら主要な3カ所の他に、中等度の量のBDA標識軸索終末を単小葉Aの尾外側部や正中傍小葉で認め、少量のBDA標識軸索終末を小葉皮質虫部や第一脚で認めた。また、連続冠状断切片で観察したSu5からの小脳皮質投射の分布を、Buisseret-Delmas (1988) の小脳皮質の「展開」表面図に再構築した。これにより、閉口筋筋紡錘感覚を伝達するSu5から小脳皮質へは、苔状線維に特徴的な小脳皮質投射様態である、様々な大きさ、複

数のパッチ状パターンを示して投射することが明らかになった。

実験２：実験１でBDA標識軸索終末が多く認められた小脳皮質部位3カ所（単小葉B、第二脚、片葉）のそれぞれで、右側の咬筋神経の電気刺激に対する応答 (フィールド電位) と、約5秒間の下顎の受動的下制で誘発された応答（ユニット電位またはバースト電位）を記録した。咬筋神経の電気刺激に対する応答のピーク電位の潜時の範囲は、単小葉Bからの記録が2.4-3.4 ミリ秒、第二脚からの記録が2.2-3.2 ミリ秒、片葉からの記録が2.7-3.3 ミリ秒であった。次に、これらの小脳皮質の記録部位に逆行性神経トレーサーであるCTbまたはFGを注入したところ、両側のSu5に標識細胞が認められた。単小葉Bに注入した動物での逆行性標識細胞の分布は、Su5の特に吻尾的中央レベルにおいて両側性に認められた。第二脚に注入した動物での逆行性標識細胞の分布は、Su5の特に吻尾的中央と尾側のレベルにおいて両側性に認められた。片葉に注入した動物での逆行性標識細胞の分布は、Su5の吻側から尾側にかけて両側性に認めたれた。標識細胞はSu5以外に、三叉神経感覚核群、小脳前核に分類される橋核や被蓋網様核、外側網様核にも多く認められた。

実験３：実験３では、Su5-小脳皮質経路の特徴を明らかにするため、頸部と上肢の筋紡錘感覚入力を受けることが知られているECuから小脳皮質への投射を調べ、Su5-小脳皮質経路と比較した。順行性神経トレーサーのBDAをECuに注入したところ、BDA標識軸索終末は、主に両側の小脳皮質虫部第I–V、VIII–IX小葉、半球部第VII小葉と第VIII小葉の内側部の顆粒層に認められ、BDA注入部位と同側が顕著に優位であった。ECuからの小脳皮質投射の分布を、実験１の結果と同様に、小脳皮質の展開表面図に再構築した。さらに、実験１で示したSu5からの小脳皮質投射の分布を重ね合わせて、ラット小脳皮質の「展開」表面図上で分布の比較を行うと、Su5からの標識軸索終末は小脳皮質の外側部（特に半球部）に分布したのに対して、ECuからの標識軸索終末は小脳皮質の内側部（特に虫部）に分布し、両者の分布はほとんど重複しなかった。

[結論および考察]

本研究により、閉口筋筋紡錘感覚を伝達するラットのSu5から両側の小脳皮質（主に単小葉B、第二脚、片葉）への投射が形態学的に明らかになった。さらに、これらの小脳皮質部位に閉口筋筋紡錘感覚が入力することが電気生理学的に証明された。以上より、筋紡錘感覚が入力する小脳皮質部位と入力の経路が初めて同定された。また、Su5から小脳皮質への投射様態は、頸部と上肢の筋紡錘感覚を伝達するECuからの投射とは異なることが示された。

小脳の機能は、自己受容感覚のフィードバック情報を利用した運動制御に寄与していると考えられてきた。Kelly and Strick (2003) の非ヒト霊長類の研究により、単小葉Bと大脳皮質一次体性運動野（M1）との間のループ回路が明らかになったことから、本研究でSu5からの強い投射を受けた単小葉Bは、小脳機能の運動領域である可能性が高い。また、Su5のもう一つの投射先である片葉は、頭部と眼球の運動制御における視覚-前庭相互作用の中心であると考えられている (Barnes 1993)。したがって、片葉における閉口筋筋紡錘感覚と視覚および前庭感覚の多感覚統合は、頭部と顎の運動および姿勢制御に重要と考えられる。さらに、小脳では、運動機能の他に、最近明らかになった所見から、小脳の非運動機能にも光が当てられている (Schmahmann 2004; Koziol et al. 2014)。Kelly and Strick (2003) の非ヒト霊長類の研究により、第二脚は認知機能に不可欠な大脳皮質外側前頭前野（領域46）とループ回路を形成し、Stoodley and Schmahmann (2009) などのヒトのMRI研究により、第二脚は言語性作業記憶や言語などの認知タスク中に活性化されることが明らかになっている。これらから、本研究でSu5からの強い投射を受けた第二脚は、“古典的” な運動機能だけでなく、小脳の “高次的な” 非運動機能にも関与しているのではと推測している。このように、本研究でSu5–小脳皮質経路と3カ所の主要な小脳皮質への投射部位を明らかにしたことで、未だ詳細に解明されていない小脳皮質の機能の理解につながると期待される。

本研究では、閉口筋筋紡錘感覚を伝達するSu5から小脳皮質半球部へ、頸部と上肢の筋紡錘に生じる筋紡錘感覚を受けるECuから主に小脳皮質虫部へ投射することを明らかにした。これにより、筋紡錘感覚を受ける小脳皮質の顆粒細胞は、高度な体部位局在性を持っていることが示唆され、この体部位局在性を保って投射するという特徴は、筋紡錘感覚の視床投射が持つ特徴と類似している (Yoshida et al. 2017; Uemura et al. 2020)。したがって、本研究で明らかにした小脳皮質への投射を含む、筋紡錘感覚の中枢投射経路という視点でアプローチすることで、口腔顔面部と体部が独立した中枢情報処理機構を持つ機能的意義の解明につながると考えられる。

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　堤　友美　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主査　教授　古田貴寛 副査　教授　丹羽　均 副査　教授　田熊一敞 副査　准教授　豊田博紀	

論文審査の結果の要旨

本研究は、閉口筋筋紡錘に生ずる自己受容感覚（閉口筋筋紡錘感覚）の小脳皮質への投射の様態を電気生理学的手法と神経解剖学的手法を用いて解明したものである。閉口筋筋紡錘感覚を伝達する三叉神経上核から、単小葉 B、第二脚、片葉の３ヶ所を含む両側の小脳皮質半球部の顆粒層に投射することを明らかにし、また、これら３ヶ所の小脳皮質部位において、閉口筋筋紡錘感覚入力を記録することができた。次に、頸部と前肢の筋に生ずる筋紡錘感覚を伝達する外側楔状束核から、小脳皮質の虫部に投射することを明らかにし、三叉神経上核からの小脳皮質投射の分布と比較すると、両者にはほとんど重複が無いことが明らかになった。これらにより、小脳皮質に伝達された閉口筋筋紡錘感覚が少なくとも小脳皮質の 3 つの領域での情報処理に強く寄与することを示した。また、閉口筋筋紡錘感覚が入力する小脳皮質部位の神経機構は体部に生じる筋紡錘感覚とは異なることを示唆した。

以上、本研究は、閉口筋筋紡錘感覚が寄与する小脳皮質での機能の解明と、小脳皮質における口腔顔面部と体部の情報処理機構の解明を行う上で、極めて重要な知見を与えるものである。

よって、本研究は博士（歯学）の学位論文として価値あるものと認める。