



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

学位論文

閉口筋筋紡錘感覚の小脳皮質投射の解明

大阪大学大学院歯学研究科

口腔科学専攻

系統・神経解剖学講座

堤 友美

[目次]

要旨	・・・2
略号一覧	・・・3
緒言	・・・5
実験方法	・・・7
1. 動物	・・・7
2. 外科的処置、電位記録、トレーサーの注入	・・・7
3. 切片の作成	・・・10
4. 切片の観察と分析	・・・11
結果	・・・13
1. 三叉神経上核への BDA 注入と順行性標識軸索終末の分布	・・・13
2. 小脳皮質への逆行性トレーサー注入と逆行性標識細胞の分布	・・・14
3. 外側楔状束核への BDA 注入と順行性標識軸索終末の分布	・・・17
考察	・・・19
結語	・・・26
参考文献	・・・27
図および図の説明 (図 1-8)	・・・35
謝辞	・・・巻末

[要旨]

筋紡錘に生ずる自己受容感覚情報は、運動機能の調節に不可欠である。しかし、口腔顔面の筋を含む全身の筋に分布する筋紡錘からの自己受容感覚情報を受け取る小脳皮質部位とその神経機構については、ほとんど知られていない。そこで本研究では、ラットを用いて、閉口筋筋紡錘に生ずる自己受容感覚を伝達する三叉神経上核から小脳皮質への投射の様態を調べた。三叉神経上核に順行性トレーサーを注入したところ、単小葉B、第二脚、片葉を含む両側の小脳皮質半球部の顆粒層に多数の軸索終末（ロゼッタ）が、複数の様々な大きさのパッチ状パターンで分布していた。また、これらの小脳皮質部位から、閉口筋筋紡錘感覚入力を電気生理学的に記録できた。以上より、閉口筋筋紡錘感覚が入力する小脳皮質部位が、ラットで初めて示された。さらに、これらの小脳皮質部位への逆行性トレーサーの注入により、三叉神経上核がこれらの部位に直接出力していることが確認された。次に、口腔顔面の筋と体部の筋に生ずる筋紡錘感覚の小脳皮質への投射の様態の相違を明らかにするために、頸部と上肢の筋に生ずる筋紡錘感覚を伝達する外側楔状束核に順行性トレーサーを注入した。標識軸索終末は主に小脳皮質の虫部に分布し、三叉神経上核注入と外側楔状束核注入で標識された軸索終末の分布にはほとんど重複は認められなかった。本研究により、閉口筋筋紡錘感覚が入力する小脳皮質部位が初めて明らかになり、その神経機構は体部に生じる筋紡錘感覚とは異なることが示された。

[略号一覧]

I-X	Lobules I-X、虫部第 I-V 小葉
5C	Caudal subnucleus of the trigeminal spinal nucleus、三叉神経脊髄路核 尾側亜核
5I	Interpolar subnucleus of the trigeminal spinal nucleus、三叉神経脊髄 路核中間亜核
7n	Facial nerve、顔面神経
10	Dorsal motor nucleus of the vagus、迷走神経背側核
12	Hypoglossal nucleus、舌下神経核
AP	Area postrema、最後野
BDA	Biotinylated dextran amine、ビオチン化デキストランアミン
Cop	Copula pyramidis、錐体小節
Crus I	Crus I of the ansiform lobule、係蹄状小葉第一脚
Crus II	Crus II of the ansiform lobule、係蹄状小葉第二脚
CTb	Cholera toxin B subunit、コレラ毒素 B サブユニット
Cu	Cuneate nucleus、楔状束核
cu	Cuneate fasciculus、楔状束
DAB	Diaminobenzidine、ジアミノベンジジン
ECu	External cuneate nucleus、外側楔状束核
FG	Fluorogold、フルオロゴールド
FL	Flocculus、片葉
Gr	Gracile nucleus、薄束核
H II-V	Hemisphere of lobules II-V、半球部第 II-V 小葉
I5	Intertrigeminal region、三叉神経間域
KF	Kölliker-Fuse nucleus、ケリカー布施核

LC	Locus coeruleus、青斑核
Me5	Trigeminal mesencephalic nucleus、三叉神經中腦路核
me5	Trigeminal mesencephalic tract、三叉神經中腦路
Mo5	Trigeminal motor nucleus、三叉神經運動核
Pa5	Paratrigeminal nucleus、三叉神經傍核
PB	Phosphate buffer、リン酸緩衝液
Pb	Parabrachial nucleus、結合腕傍核
PFL	Paraflocculus、傍片葉
PM	Paramedian lobule、正中傍小葉
Pr5	Trigeminal principal nucleus、三叉神經主感覺核
RtTg	Reticulotegmental nucleus of the pons、橋被蓋網様核
scp	Superior cerebellar peduncle、上小腦脚
Sim A	Simple lobule A、単小葉 A
Sim B	Simple lobule B、単小葉 B
Sol	Solitary tract nucleus、孤束核
sp5	Spinal trigeminal tract、三叉神經脊髓路
Su5	Supratrigeminal nucleus、三叉神經上核
Ves	Vestibular nuclei、前庭神經核

[緒言]

Eccles et al. (1967) が小脳皮質の複雑な神経回路を解明して以来、小脳皮質への入力
が小脳が担う運動機能に重要であることが明らかにされてきた (Palay and Chan-Palay
1974; Ito 1984)。しかし、小脳前ニューロンを經由して伝達された筋紡錘感覚情報が、
小脳皮質でどのように処理されているのかという重要な問題は未だに解決していない。
Quy et al. (2011) は、ラットの頸部と上肢の筋紡錘感覚を伝達する外側楔状束核から小
脳皮質への投射を調べた。外側楔状束核ニューロンの軸索終末を、主に小脳皮質虫部の
第 II、III、V、VI_d、VI_a、VIII、IX 小葉と、半球部の第 V、VI (単小葉)、VII (正中傍
小葉)、VIII (錐体小節) 小葉の中間部に見つけている。しかし、Quy et al. (2011) の研
究を含むこれまでの研究では、ラットの全身の筋に生ずる筋紡錘感覚が伝達される小脳
皮質部位を電気生理学的には同定していない。そこで本研究では、閉口筋筋紡錘感覚を
伝達する小脳前ニューロンからの投射を受ける小脳皮質部位を、形態学および電気生
理学的に同定すること、ならびに口腔顔面と頸部・上肢の筋紡錘から小脳皮質への投射
様態の相違を解明することを目的とした。

口腔顔面の筋のうち、筋紡錘が最も多く存在するのは閉口筋である (Dubner et al.
1978)。そこで、閉口筋筋紡錘に生ずる自己受容感覚に着目した。閉口筋筋紡錘感覚は、
一次求心性神経であり、脳内に細胞体が存在する三叉神経中脳路核ニューロンによっ
て伝達される。三叉神経中脳路核ニューロンの軸索が同側の上小脳脚内で発見された
との報告もあるが (ラット、Donga and Dessem 1993; Dessem et al. 1997)、一般的には、
三叉神経中脳路核ニューロンで小脳に直接投射するものは無いか稀と考えられている
(ネコ、Gould 1980; Matsushita et al. 1982; Nomura and Mizuno 1985)。つまり、小
脳皮質への閉口筋筋紡錘感覚の伝達は、三叉神経中脳路核ニューロンからの直接入力
を受ける二次ニューロン (小脳前ニューロン) を介することが示唆されている。閉口筋筋

紡錘感覚を伝達する三叉神経中脳路核ニューロンは、三叉神経運動核の閉口筋運動亜核や三叉神経上核に最も強く投射する（ネコ、Kishimoto et al. 1998; Yoshida et al. 1999; ラット、Lingenhöhl and Friauf 1991; Dessem et al. 1997）。しかし、閉口筋運動ニューロンの軸索は、側枝を他の脳部位には出さずに直接三叉神経運動根に入ることが知られている（ラット、Lingenhöhl and Friauf 1991; ネコ、Yoshida et al. 1987; Shigenaga et al. 1988）。したがって、閉口筋紡錘感覚の小脳皮質投射は三叉神経上核を経由して伝達される可能性が非常に高いと考えられる。

三叉神経中脳路核ニューロンは、ネコ以上の動物では閉口筋紡錘感覚と歯根膜感覚の両方を三叉神経上核に伝達する（Kishimoto et al. 1998; Yoshida et al. 1999）ため、純粋な閉口筋紡錘感覚のみを抽出して小脳皮質への投射を調べることは困難であるという問題があった。しかし、私が所属する講座では、ラットの三叉神経中脳路核ニューロンは、歯根膜感覚はほとんど伝達せず、閉口筋紡錘感覚のみを伝達することがわかっている（Fujio et al. 2016）。この結果は、ラットの三叉神経上核から出る遠心性投射は、閉口筋紡錘感覚のみを伝達することを意味している。したがって本研究では、ラットを実験動物として選択した。神経回路トレーサー注入法と電気生理学的手法を組み合わせ、ラットの三叉神経上核経由で伝達される閉口筋紡錘感覚が入力する小脳皮質部位の解明を試みた。さらに、閉口筋紡錘感覚を伝達する三叉神経上核-小脳皮質経路の特徴を明らかにするため、頸部・上肢の筋紡錘感覚を伝達する外側楔状束核-小脳皮質経路も明らかにし、両者を比較した。

[実験方法]

1. 動物

Wistar 系雄ラット (250–330 g) を 39 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に則し (動歯-30-015-0)、動物への苦痛を最小限に抑え、使用する動物の数を最小限にするよう努力した。

2. 外科的処置、電位記録、トレーサーの注入

麻酔は、実験 1 と 3 では塩酸ケタミン (90 mg/kg) と塩酸キシラジン (10 mg/kg) を大腿筋に注入し、実験 2 では 3% イソフルランを吸入させた。自発的眼球運動や角膜反射が見られない麻酔深度を維持するため、麻酔薬を適宜追加投与した。また、必要に応じて皮膚切開の前に塩化リドカインを局所注射した。直腸温を 37–38°C に維持し、心電図を連続的にモニターした。

実験 1 と 2 では、咬筋 (閉口筋の一つ) の筋紡錘に分布する求心性神経を含む咬筋神経を電気刺激するため、右側の咬筋神経を剖出した。右側頬部の皮膚を切開した後に、咬筋神経を周囲の咬筋から離して剖出し、双極性フック電極を装着した。その後、動物の頭部を脳定位固定装置に固定した。全ての実験で、ガラス管微小電極を挿入する脳部位の決定は、脳アトラス (Paxinos and Watson 1998, 2014) を参照した。

実験 1 : 右側頭頂骨を歯科用ドリルで部分的に切除し、露出した硬膜の一部に小さな穴を開けた。これまでの研究 (Fujio et al. 2016; Yoshida et al. 2017; Sato et al. 2020) を参考にして、2.0 M クエン酸カリウムを満たしたガラス管微小電極 (支持部外径 1.5 mm、先端径 1.5–2.0 μm) を、ブレグマから約 2.4 mm 外側、9.3 mm 尾側、7.7 mm 腹側に位置する三叉神経上核の中心を狙って、露出した頭頂葉から、背腹方向に対して 18° の角度で吻背側から尾腹側方向に挿入した。次に、咬筋中の筋紡錘に生じる筋紡錘感覚を

伝達する感覚神経を含む咬筋神経を電気刺激し(単一矩形波、持続時間 200 μ sec、1 Hz)、その応答(フィールド電位)を記録した。また、咬筋を含む閉口筋中の筋紡錘に生じる筋紡錘感覚を賦活すると考えられる下顎の受動的な下制に対する応答(ユニット電位またはバースト電位)を記録した。大きな電位が記録された部位を三叉神経上核と電気生理学的に同定した。なお、下顎の受動的な下制は、プラスチック製棒を手持ちで口腔内に挿入し、それをゆっくり(およそ5秒をかけて)下方に動かした。これらの記録後、ガラス管微小電極を、0.01 M リン酸緩衝液(PB; pH 7.4)に溶解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; 4%; 10,000 MW; Molecular Probes, Eugene, OR, USA)を満たしたガラス管微小電極(支持部外径 1.5 mm、先端径 10–20 μ m)に交換して再度挿入し、上記と同様の記録ができる部位であることを確認し、その部位を再度、電気生理学的に三叉神経上核とみなした。これらの記録は、300 Hz から 3 kHz のフィルターをかけて増幅し、PowerLab 8/30 (ADInstruments, Sydney, Australia) でフィールド電位は 20 kHz の、ユニット電位またはバースト電位は 10 kHz のサンプリング周波数に変換し、コンピュータに保存した。得られたフィールド電位は解析ソフト Scope と Chart (ADInstruments, Sydney, Australia) を用いて解析した。咬筋神経の電気刺激に対する応答は、記録部位ごとに連続した 32 回の応答を平均した。その後、電気生理学的に三叉神経上核と同定した部位に、BDA を電気泳動(+2.0 μ A、持続時間 300 msec、2 Hz)にて 5–7 分間注入した。ガラス管微小電極を抜去後、切開部皮膚を縫合した。なお、注入部位の正確な位置は、脳の摘出後に作成された切片の組織反応で認められる diaminobenzidine (DAB) 沈着部位から判断した。

実験 2: 右側小脳を覆う後頭骨に歯科用ドリルで小さな穴を開け、硬膜を露出させた。硬膜の一部を切除し、2.0 M クエン酸カリウムを満たしたガラス管微小電極(支持部外径 1.5 mm、先端径 1.5–2.0 μ m)を、実験 1 で BDA 標識軸索終末が多数みられた小脳皮質部位を狙って垂直に挿入した。実験 1 と同様に、右側の咬筋神経の電気刺激(単一

矩形波、持続時間 200 μ sec、1 Hz) と下顎の受動的抑制に対する応答が記録できた部位を探した。続いて、ガラス管微小電極を 0.1 M 酢酸ナトリウム液に溶解した逆行性トレーサーである 1% Fluorogold (FG; Fluorochrome, Englewood, CO, USA)、または 0.1 M PB に溶解した 1% コレラ毒素 B サブユニット (CTb; List Biological Laboratories, Campbell, CA, USA) で満たしたガラス管微小電極 (支持部外径 1.5 mm、先端径 10–20 μ m) に換え、上記の探索済みの部位を狙って挿入し、同様の記録ができることを確認した。その後、この小脳皮質部位に、FG または CTb を、主に電気泳動にて (+2.0 μ A、持続時間 300 msec、2 Hz) で 5–7 分間注入した。5 匹のラットでは、注入量を増やすために油圧で FG を注入した。過去の文献 (Haque et al. 2010; Iida et al. 2010) を参照し、FG 溶液で満たしたガラス管微小電極 (支持部外径 1.5 mm、先端径 10–20 μ m) の後端を、油液で満たしたポリエチレンチューブを介して、油液で満たした 10 μ l のハミルトンマイクロシリンジの針先と接続したものを用いた。小脳皮質の記録部位に、0.05–0.10 μ l の FG 溶液を 30 分かけて油圧で注入した。FG の注入部位の正確な位置は、脳の摘出後に作成された切片を蛍光顕微鏡で観察して判断した。一方、CTb の注入部位の正確な位置は、後述した、切片の組織反応で認められる DAB 沈着部位から判断した。注入の終了後、ガラス管微小電極を撤去し、切開部皮膚を縫合した。

実験 3 : 深麻酔下のラットを、咬筋神経を剖出せずに、脳定位固定装置に固定した。後頸部の皮膚を切開し、頸筋の一部と後頭骨の一部を除去し、環椎後頭膜を開窓して、延髄背側面を露出させた。Paxinos and Watson のアトラス (1998, 2014) および Campbell et al. (1974) が記載した外側楔状束核の解剖学的位置と過去の文献 (Uemura et al. 2020) に基づき、順行性トレーサーである BDA を満たしたガラス管微小電極 (支持部外径 1.5 mm、先端径 10–20 μ m) を、目視下で、延髄背側面から外側楔状束核を狙って、尾背側から吻腹側にかけて 20° の角度で斜めに挿入した。その後、外側楔状束核に BDA を電気泳動 (+2.0 μ A、持続時間 300 ms、2 Hz、5–10 分間) にて

注入した。注入部位の正確な位置は、脳の摘出後に作成された切片の組織反応で認められる DAB 沈着部位から判断した。ガラス管微小電極を撤去後、切開部皮膚を縫合した。

3. 切片の作成

トレーサー注入から、実験 1 と 3 では 4-7 日後、実験 2 では 3-5 日後に、ペントバルビタール (100 mg/kg) を腹腔内投与して深麻酔し、上行大動脈から、0.02 M リン酸緩衝食塩水 (PBS; pH 7.4) と 4% パラホルムアルデヒドを 0.1 M PB (pH 7.4) に溶解した固定液を 300 ml ずつ順に灌流した。その後、小脳と下位脳幹を取り出し、4°C の 20% スクロースを溶解した 0.1 M PB に数日間浸漬した。次に、小脳と下位脳幹を 0.1 M PB に溶解した 10% ゼラチンに包埋した。その後、ゼラチン包埋した小脳と下位脳幹を凍結させ、ミクロトームを用いて厚さ 60 μ m 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。

既報 (Uemura et al. 2020; Tsutsumi et al. 2021) に基づき、作成した連続冠状断切片を 0.02 M PBS (pH 7.4) で洗浄後、0.01% H_2O_2 と 0.75% Triton-X を含む 0.02 M PBS に浸漬した。その後、実験 2 で CTb または FG を注入したラットの切片を、3% ヤギ血清 (NGS) と 0.2% Triton-X と、一次抗体として 20,000 倍希釈の抗 CTb ウサギ抗体 (GeneTex, Alton Pkwy Irvine, CA, USA) を含む 0.02 M PBS または 10,000 倍希釈の抗 FG ウサギ抗体 (Chemicon, CA, USA) を含む 0.02 M PBS に浸漬した。次に、二次抗体として 400 倍希釈のビオチン化抗ウサギ IgG ヤギ抗体 (Vector, Burlingame, CA, USA) を含む 0.02 M PBS に浸漬した。その後、実験 1-3 の全切片を 100 倍希釈の Avidin-biotin-peroxidase complex (Vector, Burlingame, CA, USA) を含む 0.02 M PBS に浸漬した。続いて 0.04% DAB と 0.006% H_2O_2 、0.08% 硫酸ニッケルアンモニウムを含む 0.01 M PB を用いた Adams の DAB 反応 (Adams, 1977) を行い、トレーサーによる標識を可視化した。DAB 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。3セットのうち1セットはニュートラルレッドで対比染色した。全切片をアルコールで脱水後、レモゾールで透徹し、カバーガラスをかけた。

4. 切片の観察と分析

脳構造、各トレーサーの注入部位、BDAによる標識軸索終末、CTbおよびFGによる標識細胞は、明視野照明顕微鏡（Olympus BX 50, Japan）で観察し、それに接続した camera lucida（描画装置）を用いて描出した。また、FGの注入部位は、無反応で無染色の切片を、蛍光顕微鏡（Nikon Eclipse 80i, Japan）と UV-2A 蛍光フィルタ（EX 330-380 nm, DM 400 nm, BA >420 nm）を用いて観察し、写真撮影も行った。

小脳皮質は、正中に位置する虫部とその両外側に位置する半球部に分け、さらに半球部は内側部と外側部に分けた。小脳皮質の冠状断切片上で観察した、実験1と3での BDA 標識軸索終末の位置と、実験2での CTb および FG の注入部位を、Buisseret-Delmas (1988) のラットの小脳皮質の展開表面図に再構築した。小脳皮質は第 I 小葉から第 X 小葉までが順に連なるが、それらは、腹側に位置する第 I 小葉から吻側、背側、尾側にかけて弧状に連なり、最後の第 X 小葉が再び腹側に戻る構造をしている。Buisseret-Delmas (1988) のラットの小脳皮質の展開表面図は、第 I 小葉と第 X 小葉が両端になるように展開した図である。本研究では、小脳皮質の冠状断切片上に認められた各小葉や BDA 標識軸索終末、CTb および FG の注入部の位置関係を、以下の方法で小脳皮質の展開表面図に再構築した。まず、第 I 小葉から第 X 小葉にかけて球状を呈する小脳皮質を展開表面図に再構築するにあたり、4つの方向（腹側、吻側、背側、尾側）のいずれの方向から観察するかで、小脳皮質の小葉を4つのグループに分けた。① 腹側から観察したグループ（第 I 小葉と片葉を含む第 X 小葉）：BDA 標識軸索終末および CTb と FG の注入部位は、冠状断切片の小脳皮質腹側表面に垂直に投影し、展開表面図にプロットした。② 吻側から観察したグループ（第 II 小葉から第 V 小葉）：冠状断

切片上の BDA 標識軸索終末の位置を、正中から該当小葉の外側端までの距離との割合を計算し、展開表面図にプロットした。③ 背側から観察したグループ（虫部第 VIa-c 小葉と半球部単小葉、係蹄状小葉第一脚）：冠状断切片の小脳皮質背側表面に垂直に、または顆粒層に沿って投影し、展開表面図にプロットした。なお、第 VI d 小葉は小脳皮質の深部に存在し、表面に現れないので、展開表面図への再構築はしなかった。④ 尾側から観察したグループ（虫部第 VII 小葉から第 IX 小葉および半球部係蹄状小葉第二脚 [以下、第二脚と呼ぶ]、正中傍小葉、結合小節、傍片葉）：冠状断切片上の BDA 標識軸索終末の位置を、虫部では正中から該当小葉の外側端までの距離との割合を、半球部では虫部と半球部の境から該当小葉の外側端までの距離との割合を計算し、展開表面図にプロットした。

[結果]

1. 三叉神経上核への BDA 注入と順行性標識軸索終末の分布

実験 1 では、ラット 8 匹を用いて三叉神経上核から小脳皮質への投射様態を調べた。まず、既報 (Fujio et al. 2016; Yoshida et al. 2017) と同様に、三叉神経上核を電気生理学的に同定するために、三叉神経上核を狙って刺入した電極から、刺入電極と同側の咬筋神経の電気刺激に対する応答 (フィールド電位) (図 1A) と、下顎の受動的な下制を行った際の応答 (ユニット電位またはバースト電位) を記録した (図 1B)。これらの記録部位を電気生理学的に三叉神経上核と同定し、BDA を電気泳動にて微量注入した。最終的には、切片作成後の BDA の可視化反応で認められた DAB 沈着部位の中心部を各記録部位と判断した。6 匹のラット (R128、R129、R422、R520、R708、R709) で、DAB 沈着部位の中心が細胞構築学的に同定した三叉神経上核内に位置していたので (図 1C-F)、これら 6 匹のラットで記録された電気生理学的データを解析した。咬筋神経の電気刺激に対するピーク電位の平均潜時 (範囲) は 2.1 ミリ秒 (2.0–2.2 ミリ秒) であった。このうちのラット R128 のピーク電位の潜時は 2.2 ミリ秒であった (図 1A の矢頭)。なお、本研究で行った三叉神経上核の細胞構築学的同定は、既報 (Fujio et al. 2016; Yoshida et al. 2017) に従った。同定した三叉神経上核の位置は、Swanson のラットアトラス (1992) に記載された三叉神経上核の位置とほぼ一致するが、Paxinos and Watson のラットアトラス (1998, 2014) に記載された三叉神経上核よりも尾外側に位置した。ラット R128、R708、R520 の BDA 注入部位は、それぞれ三叉神経上核の吻側部 (図 1C, D)、中央部 (図 1E)、尾側部 (図 1F) に位置した。

電気生理学的に三叉神経上核と同定された上述のラット 6 匹のうち、3 匹のラット (R128、R708、R520) では BDA の注入部位 (DAB 沈着部位) が三叉神経上核内に局限していた。BDA 標識軸索終末は苔状線維に特徴的な巨大終末であるロゼッタを呈し

ており、小脳皮質内の分布は類似していた。したがって、本論文ではラット R128 の結果を代表例として図示した (図 2、図 3)。BDA 標識軸索終末が両側の小脳皮質顆粒層 (図 2 の各トレース中のグレーの領域) に認められた (図 2、図 3A-C)。また、小脳半球部に多くの BDA 標識軸索終末が認められ、これらは小脳半球部の内側部よりも外側部に多く分布していた (図 2、図 3D)。特に、多くの BDA 標識軸索終末が、両側の小脳皮質第 X 小葉の半球部である片葉に認められ、片葉の吻側部に多く分布していた (図 2A, B、図 3A, D)。さらに、多くの BDA 標識軸索終末が、両側の小脳皮質第 VIa 小葉の半球部である単小葉 B に認められ、単小葉 B の内側部よりも外側部に多く分布していた (図 2B-D、図 3B, D)。また、多くの BDA 標識軸索終末が、両側の小脳皮質第 VII 小葉の半球部である第二脚に認められ、第二脚の内側部と外側部の両方に広く分布していた (図 2E-G、図 3C, D)。中等度の量の BDA 標識軸索終末が、両側の小脳皮質第 VIa 小葉の半球部である単小葉 A の尾外側部 (図 2A, B、図 3D) と第 VII 小葉の半球部である正中傍小葉 (図 2E-H、図 3D) に認められた。小脳皮質虫部第 I、V、VII-X 小葉、小脳皮質半球部第 II 小葉、小脳皮質第 VIc の半球部である第一脚 (図 2、3D)、小脳皮質第 IX 小葉の半球部である傍片葉には少数の標識軸索終末しか認めなかった (図 2、傍片葉に認められた標識軸索終末の位置は、図 3D では片葉によって隠れる位置のため、描かれていないことに注意)。これらの結果から、三叉神経上核から小脳皮質への投射は、両側の小脳皮質半球部、特に単小葉 B、第二脚、片葉に強く分布することが明らかになった。また、苔状線維の小脳皮質投射の特徴的パターンである、複数の、様々な大きさのパッチ状のパターンを示すことが明らかになった。

2. 小脳皮質への逆行性トレーサー注入と逆行性標識細胞の分布

実験 2 では、まず、実験 1 で三叉神経上核からの BDA 標識軸索終末が多く認められた小脳皮質の主な 3 部位 (単小葉 B、第二脚、片葉) に閉口筋筋紡錘感覚が本当に入力

しているかどうかを、20 匹のラットを用いて電気生理学的に調べた。ガラス管微小電極を、実験 1 で明らかになった小脳皮質の単小葉 B (6 匹)、第二脚 (7 匹)、片葉 (7 匹) に挿入し、同側の咬筋神経の電気刺激に対する応答 (フィールド電位) (単小葉 B、図 4A; 第二脚、図 4E; 片葉、図 4I) と、下顎の受動的な下制に対する応答 (ユニット電位またはバースト電位) (単小葉 B、図 4B; 第二脚、図 4F; 片葉、図 4J) を記録した。これらの応答の記録部位に逆行性トレーサー (CTb または FG) を電気泳動または油圧にて注入した。なお、最終的に、切片上で、光学顕微鏡で観察された CTb 注入部位 (DAB 沈着部位) の中心、または、蛍光顕微鏡で観察された FG 注入部位の中心を各記録部位と判断した。その結果、記録部位 (DAB 沈着の中心あるいは FG 注入部位の中心) が、単小葉 B、第二脚、片葉の中に位置していた動物は、単小葉 B への注入で 4 匹 (R623, R629, R780, R910)、第二脚への注入で 4 匹 (R105, R106, R202, R609)、片葉への注入で 4 匹 (R721, R824, R827, R830) であった (図 4M)。これらの動物で得られた電気生理学的データを分析したところ、咬筋神経の電気刺激に対するピーク電位の平均潜時 (範囲) は、単小葉 B からの記録が 2.8 ミリ秒 (2.4–3.4 ミリ秒)、第二脚からの記録が 2.6 ミリ秒 (2.2–3.2 ミリ秒)、片葉からの記録が 3.1 ミリ秒 (2.7–3.3 ミリ秒) であった。このうち、ピーク電位の潜時は、例えば、単小葉 B に注入されたラット R629 では 2.4 ミリ秒 (図 4A の矢頭)、第二脚に注入されたラット R609 では 2.6 ミリ秒 (図 4E の矢頭)、片葉に注入されたラット R721 では 3.3 ミリ秒 (図 4I の矢頭) であった。これらの記録部位のいずれからでも、下顎の受動的な下制に対する応答が記録できた (ラット R629 は図 4B、ラット R609 は図 4F、ラット R721 は図 4J)。

単小葉 B から記録された上述のラット 4 匹のうち、ラット R629 は CTb を電気泳動にて (図 4C, D, M)、ラット R780 と R910 は FG を電気泳動にて、ラット R623 は FG を油圧にて注入した (図 4M)。これらの注入での注入部位はいずれも単小葉 B 内の外側部に局限していた (図 4C, D, M)。逆行性トレーサーによる標識細胞の分布は、これ

ら4匹のラットで類似していた。したがって、本論文ではラット R629 の結果を代表例として図示した。標識細胞の分布は、三叉神経上核の特に吻尾的中央レベルにおいて、トレーサー注入部位に対して両側に見られた (図 5A-C, D)。また、三叉神経主感覚核の背側部 (図 5B, C)、三叉神経間域 (図 5A-C)、被蓋網様核 (図 5A, B)、橋核 (図示していない)、外側網様核 (図示していない) でも標識細胞が見られた。一方、外側楔状束核には標識細胞を認めなかった (図示していない)。

第二脚内から記録された上述のラット4匹のうち、ラット R609 は FG を油圧にて (図 4G, H, M)、ラット R202, R105, R106 は CTb を電気泳動にて注入した (図 4M)。これらの注入での注入部位は、ラット R202 と R105 では第二脚内の内側部に、ラット R106 では第二脚内の外側部に限局していたが、ラット R609 の油圧注入では第二脚内の内側部と外側部の両方に広がっていた (図 4G, H, M)。逆行性トレーサーによる標識細胞の分布は、これら4匹のラットで類似していた。したがって、本論文ではラット R609 の結果を代表例として図示した。標識細胞は、三叉神経上核の吻尾側の中央レベルと尾側レベルにおいて、トレーサー注入部位に対して両側に見られた (図 5A-C, E)。また、三叉神経主感覚核の背側部 (図 5A-C)、三叉神経間域 (図 5A-C)、被蓋網様核 (図 5A, B)、橋核 (図示していない) でも標識細胞が認められた。一方、外側楔状束核および外側網様核には標識細胞を認めなかった (図示していない)。

片葉内から記録された上述のラット4匹のうち、ラット R721 は FG を電気泳動にて (図 4K-M)、ラット R830, R824, R827 は CTb を電気泳動にて注入した (図 4M)。これらの注入での注入部位は、すべて片葉内の吻側部に限局していた。逆行性トレーサーによる標識細胞の分布は、これら4匹のラットで類似していた。したがって、本論文ではラット R721 の結果を代表例として図示した。多くの標識細胞がトレーサー注入部位に対して両側の三叉神経上核に見られた (図 5A-C, F)。また、単小葉 B や第二脚に注入した例とは異なり、結合腕傍核や前庭神経核にも両側性に多くの標識細胞が見られ、

逆に単小葉 B や第二脚に注入した例より三叉神経主感覚における標識細胞が少なかった (図 5A-C)。一方、外側楔状束核には標識細胞を認めなかった (図示していない)。

3. 外側楔状束核への BDA 注入と順行性標識軸索終末の分布

実験 3 では、三叉神経上核-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外側楔状束核から小脳皮質への投射を調べ、三叉神経上核-小脳皮質経路と比較した。既報 (Uemura et al. 2020) を参考にして、目視下で、順行性トレーサーである BDA を 11 匹のラットの外側楔状束核に注入した。BDA の可視化のために DAB 反応を施した切片上で、6 匹のラット (R628、R692、R326、R219、R222、R510) での BDA 注入部位が外側楔状束核内に限局していた (図 6)。これらのラットの小脳皮質内における BDA 標識軸索終末 (ロゼッタ) の分布は類似していた。したがって、本論文ではラット R628 の結果を代表例として図示した (図 7、図 8)。R628 の BDA 注入部位は、外側楔状束核のやや尾側部であった (図 6)。小脳皮質内における BDA 標識軸索終末は、主に両側の小脳皮質虫部第 I-III、V、VI_d、VIII、IX 小葉、小脳皮質半球部の正中傍小葉と結合小節の内側部に認められた。これらの終末は、外側楔状束核への BDA 注入部位に対して同側が、明らかに優位であった (図 7、8)。また、少数の BDA 標識軸索終末が、注入と同側の小脳皮質半球部第 III-V 小葉の内側部および単小葉 B の内側部に認められた。

また、ラット R628 での外側楔状束核からの小脳皮質投射部位を、小脳皮質の展開表面図に再構築した (図 8D 中の青色の領域)。これに、実験 1 の結果 (図 3D) で示した三叉神経上核からの小脳皮質投射部位を重ね合わせて (図 8D 中の赤色の領域)、両者の投射部位を比較した。外側楔状束核からの投射は、小脳皮質の虫部に広く分布した (図 7、8) が、三叉神経上核からは小脳皮質の半球部に分布していた (図 2、3、8D)。また、三叉神経上核と外側楔状束核からの投射の分布には、ほとんど重複は認められな

かった。なお、小脳皮質の展開表面図（図 8D）において、三叉神経上核と外側楔状束核からの投射部位は、小脳皮質虫部第 VII-IX 小葉や半球部の単小葉 B および正中傍小葉の内側部などで重複しているように見えるが、これらの投射部位を、図 2 と図 7 の小脳皮質の冠状断切片上で比較すると、実際にはほとんど重複していなかった。

[考察]

1. 閉口筋筋紡錘感覚の小脳皮質投射の起始核として三叉神経上核を選んだ理由

閉口筋筋紡錘感覚を含む口腔顔面の感覚情報は、主に三叉神経によって伝達される。三叉神経系は、脳外の脊髄後根神経節に相当する三叉神経節と脳内の三叉神経中脳路核の2ヶ所に一次求心性神経の細胞体が存在するという点で非常にユニークである(Dubner et al. 1978; Taylor 1990)。ヒト、サル、ネコでは、三叉神経節ニューロンは閉口筋筋紡錘感覚以外の様々な口腔顔面感覚を伝え、三叉神経中脳路核ニューロンは主に閉口筋筋紡錘感覚と、一部歯根膜感覚を中継する(Dubner et al. 1978; Taylor 1990)。しかし、ラットでは、三叉神経中脳路核ニューロンは閉口筋筋紡錘感覚のみを伝達する(Fujio et al. 2016)。三叉神経中脳路核ニューロンは三叉神経上核へ強く投射することが知られており(ラット、Dessem et al. 1997; ネコ、Kishimoto et al. 1998; Yoshida et al. 1999)、一方、ラットの三叉神経節ニューロンは三叉感覚核群に強く投射するが、三叉神経上核にはほとんど投射しない(Fujio et al. 2016)。これらの知見は、三叉神経上核ニューロンの投射は閉口筋筋紡錘感覚のみを伝達することを示唆している。そこで、閉口筋筋紡錘感覚が入力する小脳皮質部位を解明するため、まず三叉神経上核に順行性トレーサーを注入した。

2. 三叉神経上核からの小脳皮質投射と小脳皮質から記録された閉口筋筋紡錘感覚

本研究では、閉口筋筋紡錘感覚を中継する三叉神経上核が、小脳皮質第VIa小葉の半球部である単小葉B、第VII小葉の半球部である第二脚、第X小葉の半球部である片葉に強く投射することを示した。また、小脳皮質虫部第VII、IX、X小葉と、第VII小葉の半球部である正中傍小葉への弱い投射を認めた。これらの結果は、三叉神経上核が小脳皮質の限局した単一部位に投射しているのではなく、苔状線維の小脳皮質へ投射に特

徴的に見られる、様々な大きさの複数のパッチ状のパターンで投射することを示している。三叉神経上核から小脳皮質の3つの主要部位（単小葉 B、第二脚、片葉）への強い両側投射は、これらの小脳皮質部位への逆行性トレーサー注入によっても確認された。これらの投射の一部は、Kobayashi (1995) の、ラットの第二脚と小脳皮質虫部第 X 小葉に投射する三叉神経上核ニューロンを同定した結果と類似していた。

また本研究では、3つの小脳皮質部位（単小脳 B、第二脚、片葉）の顆粒層で、閉口筋筋紡錘感覚の入力を記録することに成功した。Azzena et al. (1970) はヒツジにおいて同側の小脳皮質第 VI、VIIa 小葉の半球部の傍虫部領域で閉口筋筋紡錘感覚の入力を記録しているが、ラットの閉口筋筋紡錘感覚の入力を受ける小脳皮質部位を特定し報告したのは本研究が初めてである。本研究では、同側咬筋神経の電気刺激に対する応答のピーク潜時（2.2-3.4 ミリ秒）は、ラットの口唇を含む同側の顔面皮膚受容野の電気刺激に対する応答のピーク潜時（3-5 ミリ秒；Shambes et al. 1978b）に近似していた。Cody and Richardson (1979) は、ネコの同側の三叉神経の電気刺激後の小脳皮質半球部第 VI 小葉のプルキンエ細胞における苔状線維と登上線維の応答のピーク潜時は、それぞれ 5-8 ミリ秒と 11-29 ミリ秒の範囲であることを見つけた。本研究では、小脳皮質での記録部位に注入した逆行性トレーサーの中心部が、小脳皮質の顆粒層に局限していた。したがって、本研究で小脳皮質の3部位で記録された閉口筋筋紡錘感覚は、電気生理学的結果からも三叉神経上核からの苔状線維を経由して伝達されたものであり、登上線維を経由したものではないことを示唆している。

三叉神経上核は、閉口筋筋紡錘を支配する一次求心性三叉神経中脳路核ニューロンの Ia 群（筋長の動的変化を伝達する）と II 群（筋長の静的変化を伝達する）の両方の強い投射を受けることが知られている（ラット、Dessem et al. 1997; ネコ、Kishimoto et al. 1998; Yoshida et al. 1999）。したがって、三叉神経上核からの投射が認められた単小葉 B、第二脚、片葉を含む両側の小脳皮質部位が、これら 2 種類の閉口筋筋紡錘感覚を

受けて、顎口腔運動の微細制御に寄与している可能性が高いと考えられる。

3. 頸部・上肢の筋紡錘感覚を伝達する外側楔状束核からの小脳皮質投射との比較

我々は、頸部と上肢の筋紡錘に生じる筋紡錘感覚を受ける外側楔状束核(Rosén and Sjölund 1973; Campbell et al. 1974; Dykes et al. 1982)は、主に小脳皮質虫部（特に第 I-III、V、VI_d、VIII、IX 小葉）と小脳皮質半球部の正中傍小葉と結合小節の内側部に投射し、これらの投射は両側性だが同側優位であることを明らかにした。これらの外側楔状束核からの小脳皮質投射部位は、Quy et al. (2011) がラットで、Jasmin and Courville (1987) がネコで報告した部位とほぼ一致していた。したがって、閉口筋筋紡錘感覚を伝達する三叉神経上核からの小脳皮質投射は、頸部と上肢の筋紡錘感覚を伝達する外側楔状束核からの小脳皮質投射より外側に、重複はせず分布することが明らかになった。これらから、筋紡錘感覚を受け取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る。この見解は、筋紡錘感覚の視床投射が持つ特徴、すなわち、三叉神経上核と外側楔状束核からの視床投射は、視床の後内側腹側核と後外側腹側核の腹側底部に近接するが、別々の部位に投射するという特徴 (Yoshida et al. 2017; Uemura et al. 2020) によっても支持される。

4. 他の小脳前核からの投射との関係

橋核、被蓋網様核、外側網様核もまた小脳前核であり、これらから出る苔状線維は、小脳皮質内で、複数の様々な大きさのパッチ状の終末塊を形成している (Wu et al. 1999; Serapide et al. 2002; Na et al. 2019)。今回の小脳皮質への逆行性トレーサー注入により、単小葉 B と片葉は橋核、被蓋網様核、外側網様核から、第二脚は橋核、被蓋網様核からの投射も受けていることが示された。これらの結果は、橋核 (Mihailoff et al. 1981; Blanks et al. 1983; Mihailoff 1983; Na et al. 2019)、被蓋網様核 (Blanks et al. 1983;

Serapide et al. 2002; Ruigrok 2003)、外側網様核 (Hrycyszyn et al. 1982; Ruigrok 2003) から小脳皮質への投射に関する過去の報告と一致する。興味深いことに、我々の過去の報告で、三叉神経上核から橋核、被蓋網様核への投射が明らかになっている (Yoshida et al. 2021)。従って、三叉神経上核から小脳皮質に伝達される閉口筋紡錘感覚は、三叉神経上核からの直接路だけでなく、橋核、被蓋網様核を介した間接路も考えられる。橋核は、大脳皮質感覚運動野からの情報と下位脳幹の感覚核からの情報を統合している (Wiesendanger and Wiesendanger 1982; Mihailoff et al. 1985; Kosinski et al. 1988; Mihailoff et al. 1989)。また、被蓋網様核は、上丘や外側膝状核からの視覚情報に加え、大脳皮質からの入力を受けることが知られており、眼球運動で重要な役割を果たしている (Crandall and Kellar 1985; Torigoe et al. 1986; Suzuki et al. 2003; Their and Möck 2006)。これらのことから、単小葉 B、第二脚、片葉における顎運動の微細制御には、三叉神経上核だけでなく、橋核、被蓋網様核からの感覚運動情報の統合が関与している可能性がある。

5. 口腔顔面の体性感覚の投射との比較

三叉神経感覚核群から小脳皮質への投射は 1970 年代から 1980 年代にかけて、小脳皮質への逆行性神経トレーサー注入実験や電気生理学的実験により盛んに調べられた。口腔顔面に生じる触圧覚は、三叉神経節ニューロンによって、三叉神経主感覚核を含む三叉神経感覚核群に伝達される。三叉神経感覚核群はさらに、小脳皮質半球部の第一脚、第二脚、正中傍小葉または小脳皮質虫部第 IXa 小葉に投射する (ラット、Watson and Switzer 1978; Huerta et al. 1983; Falls et al. 1985; Phelan and Falls 1991; ネコ、Ikeda 1979; Somana et al. 1980; Matsushita et al. 1982)。ラットの小脳皮質では、全身、特に口腔顔面からの触圧覚入力が電気生理学的によく調べられており (Joseph et al. 1978; Shambes et al. 1978a, b; Welker and Shambes 1985)、小脳皮質では、触圧覚の受容野が、

細かい体部位局在性を持って、複数の様々な大きさのパッチ状パターンで配置されている。この小脳皮質での触圧覚の受容野が非常に複雑で理解し難いものであったことが、これらの先行研究以降、口腔顔面の感覚と小脳皮質との関連を調べた研究が激減した原因の一つであると考えられる。そして、現在まで小脳皮質への口腔顔面の感覚入力の研究の進展がほとんど無かった中、閉口筋筋紡錘感覚の小脳皮質入力を明らかにした本研究は、口腔顔面の触圧覚の小脳皮質入力を明らかにした先行研究と合わせて、小脳皮質内の情報処理機構の解明に大きく貢献すると考えられる。なぜならば、本研究で明らかになった三叉神経上核からの投射を受ける小脳皮質半球部の単小葉 B、単小葉 A、第二脚と、小脳皮質虫部第 IXa 小葉が、口腔または口腔周囲器官からの触圧覚情報も受けることを示したからである。つまり、小脳皮質では、閉口筋筋紡錘感覚受容ニューロンと口腔顔面触圧覚受容ニューロンが混在していることが本研究の実験 1 の結果により示唆され、この見解を支持するように、本研究で単小葉 B と第二脚に逆行性トレーサーを注入したところ、三叉神経上核と三叉神経主感覚核の両方で逆行性標識細胞が確認された。したがって、閉口筋筋紡錘感覚と三叉神経感覚核群経由の口腔顔面の感覚、他の小脳前核からの情報を小脳皮質の同部位で受け、情報を統合することが、後述した小脳皮質が担う機能の発現において重要であると考えられ、詳しく調べる必要があると考える。

6. 三叉神経上核-小脳皮質路の機能的意義

Sherrington (1906) が小脳を「頭部に存在する、自己受容感覚系の神経節」と呼んで以来、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。実際、1891 年に Luigi Luciani は、小脳障害の症状として、*atonia* (筋抵抗の低下)、*asthenia* (随意運動中の筋力の低下)、*astasia* (頭部や体幹の振戦) を挙げている (Manni and Petrosini 1997, 2004)。本研究で明らかになった、閉口

筋筋紡錘感覚が三叉神経上核を經由して単小葉 B に伝達される結果は、この考えを裏付けるように見える。また、順行性および逆向性のウイルストレーサーを用いた非ヒト霊長類の研究により、単小葉 B は、大脳-小脳ループを形成する大脳皮質一次体性運動野からの越シナプス性の強い連絡を持つことが明らかなので、単小葉 B は小脳機能の運動領域である可能性が高い (Kelly and Strick 2003)。ヒト MRI 研究により、小脳皮質における体部位局在性は、小脳前葉の前部に下肢、その後部に上肢、さらに後部 (単小葉 B に一部対応) に舌部があり、第一裂をまたいで広がる逆さになった体部位局在マップを示す (Buckner et al. 2011)。したがって、単小葉 B は、閉口筋筋紡錘感覚に関連する感覚-運動の変換を行う部位である可能性がある。また、三叉神経上核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、姿勢制御に加え頭部と顎の運動にも重要であると考えられる。

以上では、三叉神経上核-単小葉 B/片葉経路を中心に小脳の運動機能を論じた。しかし、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)。我々は、三叉神経上核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 (Shambes et al. 1978b; Sasaki et al. 1977)。実際、上記の大脳皮質一次体性運動野-単小葉 B 経路とは対照的に、霊長類の第二脚は、認知機能に不可欠な大脳皮質の外側前頭前野 (領域 46) と強い越シナプス性の連絡を持つ (Kelly and Strick 2003)。さらに、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 (Stoodley and Schmahmann 2009; Marvel and Desmond 2010)。これらの点から、閉口筋筋紡錘感覚は、発話や表情といった高次の口腔顔面機能に関連している可能性がある。また、近年

注目されているのが、情動処理における小脳の関与である (Turner et al. 2007; Stoodley and Schmahmann 2010)。小脳は視床と橋核を介して大脳辺縁系皮質と連絡しているという解剖学的総説 (Brodal and Bjaalie 1997) では、小脳が情動処理の神経基盤である可能性が示唆されている。また、我々の最近の研究で、三叉神経上核が視床の後内側腹側核尾腹内側縁に強く投射し、その後内側腹側核尾腹内側縁はほぼ顆粒島皮質のみに強く投射することを明らかにしている (Sato et al. 2017; Yoshida et al. 2017)。したがって、三叉神経上核から小脳 (おそらく第二脚) を経由する閉口筋筋紡錘感覚は、大脳辺縁系皮質でも統合され、情動、自律系、多感覚系を統合する機能を発現する可能性が考えられる。

[結語]

本研究では、閉口筋筋紡錘感覚を伝達するラットの三叉神経上核から両側の小脳皮質（主に単小葉 B、第二脚、片葉）への苔状線維による投射とその特性を明らかにすることができた。さらに、これらのうちの主要な小脳皮質部位が、閉口筋筋紡錘感覚が入力する部位であることを電気生理学的に確認することができた。以上によって、筋紡錘感覚が入力する小脳皮質部位が、ラットを用いて、初めて同定された。また、三叉神経上核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外側楔状束核からの投射とは異なることが示された。

[参考文献]

- Adams JC (1977) Technical considerations on the use of HRP as a neuronal marker. *Neuroscience*. 2:141–145.
- Azzena GB, Desole C, Palmieri G (1970) Cerebellar projections of the masticatory and extraocular muscle proprioception. *Exp Neurol*. 27:151–61.
- Barnes GR (1993) Visual-vestibular interaction in the control of head and eye movement: the role of visual feedback and predictive mechanisms. *Prog Neurobiol*. 41:435–72.
- Blanks RH, Precht W, Torigoe Y (1983) Afferent projections to the cerebellar flocculus in the pigmented rat demonstrated by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Exp Brain Res*. 52:293–306.
- Brodal P, Bjaalie JG (1997) Salient anatomic features of the cortico- ponto-cerebellar pathway. *Prog Brain Res*. 114:227–49.
- Buckner RL, Krienen FM, Castellanos A, Diaz JC, Yeo BTT (2011) The organization of the human cerebellum estimated by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol*. 106:2322–45.
- Buisseret-Delmas C (1988) Sagittal organization of the olivocerebellonuclear pathway in the rat. I. Connections with the nucleus fastigii and the nucleus vestibularis lateralis. *Neurosci Res*. 5:475–93.
- Campbell SK, Parker TD, Welker W (1974) Somatotopic organization of the external cuneate nucleus in albino rats. *Brain Res*. 77:1–23.
- Cody FW, Richardson HC (1979) Mossy and climbing fibre mediated responses evoked in the cerebellar cortex of the cat by trigeminal afferent stimulation. *J Physiol*. 287:1–14.
- Crandall WF, Keller EL (1985) Visual and oculomotor signals in nucleus reticularis tegmenti pontis in alert monkey. *J Neurophysiol*. 54:1326–45.

- Dessem D, Donga R, Luo P (1997) Primary- and secondary-like jaw-muscle spindle afferents have characteristic topographic distributions. *J Neurophysiol.* 77:2925–44.
- Donga R, Dessem D (1993) An unrelayed projection of jaw-muscle spindle afferents to the cerebellum. *Brain Res.* 626:347–50.
- Dubner R, Sessle BJ, Storey AT (1978) Muscle Receptors. In: *The neural basis of oral and facial function*, pp. 222–35, Plenum Press, New York.
- Dykes RW, Rasmusson DD, Sretavan D, Rehman NB (1982) Submodality segregation and receptive-field sequences in cuneate, gracile, and external cuneate nuclei of the cat. *J Neurophysiol.* 47:389–416.
- Eccles JC, Ito M, Szentágothai J (1967) *The cerebellum as a neuronal machine.* Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag. p. 227–61.
- Falls WM, Rice RE, VanWagner JP (1985) The dorsomedial portion of trigeminal nucleus oralis (Vo) in the rat: cytology and projections to the cerebellum. *Somatosens Res.* 3:89–118.
- Fujio T, Sato F, Tachibana Y, Kato T, Tomita A, Higashiyama K, Ono T, Maeda Y, Yoshida A (2016) Revisiting the supratrigeminal nucleus in the rat. *Neuroscience.* 324:307–20.
- Gould BB (1980) Organization of afferents from the brain stem nuclei to the cerebellar cortex in the cat. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 62:1–90.
- Haque T, Yamamoto S, Masuda Y, Kato T, Sato F, Uchino K, Oka A, Nakamura M, Takeda R, Ono T, Kogo M, Yoshida A (2010) Thalamic afferent and efferent connectivity to cerebral cortical areas with direct projections to identified subgroups of trigeminal premotoneurons in the rat. *Brain Res.* 1346:69–82.
- Huerta MF, Frankfurter A, Harting JK (1983) Studies of the principal sensory and spinal trigeminal nuclei of the rat: projections to the superior colliculus, inferior olive, and cerebellum. *J Comp Neurol.* 220:147–67.

- Hrycyszyn AH, Flumerfelt BA, Anderson WA (1982) A horseradish peroxidase study of the projections from the lateral reticular nucleus to the cerebellum in the rat. *Anat Embryol (Berl)*. 165:1–18.
- Iida C, Oka A, Moritani M, Kato T, Haque T, Sato F, Nakamura M, Uchino K, Seki S, Bae YC, Takada K, Yoshida A (2010) Corticofugal direct projections to primary afferent neurons in the trigeminal mesencephalic nucleus of rats. *Neuroscience*. 169:1739–57.
- Ikeda M (1979) Projections from the spinal and the principal sensory nuclei of the trigeminal nerve to the cerebellar cortex in the cat, as studied by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol*. 184:567–86.
- Ito M (1984) Cerebellar Function. In: *The Cerebellum and Neural Control*, pp. 353–464, Raven Press, New York.
- Jasmin L, Courville J (1987) Distribution of external cuneate nucleus afferents to the cerebellum: II. Topographical distribution and zonal pattern—an experimental study with radioactive tracers in the cat. *J Comp Neurol*. 261:497–514.
- Joseph JW, Shambes GM, Gibson JM, Welker W (1978) Tactile projections to granule cells in caudal vermis of the rat's cerebellum. *Brain Behav Evol*. 15:141–9.
- Kelly RM, Strick PL (2003) Cerebellar loops with motor cortex and prefrontal cortex of a nonhuman primate. *J Neurosci*. 23:8432–44.
- Kishimoto H, Bae YC, Yoshida A, Moritani M, Takemura M, Nakagawa S, Nagase Y, Wada T, Sessle BJ, Shigenaga Y (1998) Central distribution of synaptic contacts of primary and secondary jaw muscle spindle afferents in the trigeminal motor nucleus of the cat. *J Comp Neurol*. 391:50–63.
- Kobayashi Y (1995) Distribution and size of cerebellar and thalamic projection neurons in the trigeminal principal sensory nucleus and adjacent nuclei in the rat. *Kaibogaku Zasshi*. 70:156–71.
- Kosinski RJ, Azizi SA, Mihailoff GA (1988) Convergence of cortico- and cuneopontine projections onto components of the pontocerebellar system in the rat: an anatomical

- and electrophysiological study. *Exp Brain Res.* 71:541–56.
- Koziol LF, Budding D, Andreasen N, D'Arrigo S, Bulgheroni S, Imamizu H, Ito M, Manto M, Marvel C, Parker K, Pezzulo G, Ramnani N, Riva D, Schmahmann JD, Vandervert L, Yamazaki T (2014) Consensus paper: the cerebellum's role in movement and cognition. *Cerebellum.* 13:151–77.
- Lingenhöhl K, Friauf E (1991) Sensory neurons and motoneurons of the jaw-closing reflex pathway in rats: a combined morphological and physiological study using the intracellular horseradish peroxidase technique. *Exp Brain Res.* 83:385–96.
- Manni E, Petrosini L (1997) Luciani's work on the cerebellum a century later. *Trends Neurosci.* 20:112–6.
- Manni E, Petrosini L (2004) A century of cerebellar somatotopy: a debated representation. *Nat Rev Neurosci.* 5:241–9.
- Marvel CL, Desmond JE (2010) The contributions of cerebro-cerebellar circuitry to executive verbal working memory. *Cortex.* 46:880–95.
- Matsushita M, Ikeda M, Okado N (1982) The cells of origin of the trigeminothalamic, trigeminospinal and trigeminocerebellar projections in the cat. *Neuroscience.* 7:1439–54.
- Mihailoff GA (1983) Intra- and interhemispheric collateral branching in the rat pontocerebellar system, a fluorescence double-label study. *Neuroscience.* 10:141–60.
- Mihailoff GA, Burne RA, Azizi SA, Norell G, Woodward DJ (1981) The pontocerebellar system in the rat: an HRP study. II Hemispherical components *J Comp Neurol.* 197:559–77.
- Mihailoff GA, Kosinski RJ, Azizi SA, Border BG (1989) Survey of non-cortical afferent projections to the basilar pontine nuclei: a retrograde tracing study in the rat. *J Comp Neurol.* 282:617–43.
- Mihailoff GA, Lee H, Watt CB, Yates R (1985) Projections to the basilar pontine nuclei

- from face sensory and motor regions of the cerebral cortex in the rat. *J Comp Neurol.* 237:251–63.
- Na J, Sugihara I, Shinoda Y (2019) The entire trajectories of single pontocerebellar axons and their lobular and longitudinal terminal distribution patterns in multiple aldolase C-positive compartments of the rat cerebellar cortex. *J Comp Neurol.* 527:2488–511.
- Nomura S, Mizuno N (1985) Differential distribution of cell bodies and central axons of mesencephalic trigeminal nucleus neurons supplying the jaw-closing muscles and periodontal tissue: a transganglionic tracer study in the cat. *Brain Res.* 359:311–9.
- Palay SL, Chan-Palay V (1974) Introduction. In: *Cerebellar cortex: Cytology and organization*, pp. 1–10, Springer-Verlag, Berlin.
- Paxinos G, Watson C (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th ed. Sydney: Academic Press
- Paxinos G, Watson C (2014) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 7th ed. Sydney: Academic Press
- Phelan KD, Falls WM (1991) A comparison of the distribution and morphology of thalamic, cerebellar and spinal projection neurons in rat trigeminal nucleus interpolaris. *Neuroscience.* 40:497–511.
- Quy PN, Fujita H, Sakamoto Y, Na J, Sugihara I (2011) Projection patterns of single mossy fiber axons originating from the dorsal column nuclei mapped on the aldolase C compartments in the rat cerebellar cortex. *J Comp Neurol.* 519:874–99.
- Rosén I, Sjölund B (1973) Organization of group I activated cells in the main and external cuneate nuclei of the cat: identification of muscle receptors. *Exp Brain Res.* 16:221–37.
- Ruigrok TJH (2003) Collateralization of climbing and mossy fibers projecting to the nodulus and flocculus of the rat cerebellum. *J Comp Neurol.* 466:278–98.
- Sasaki K, Oka S, Jinnai K, Yasuda T (1977) Mossy fibre and climbing fibre responses

- produced in the cerebellar cortex by stimulation of the cerebral cortex in monkeys. *Exp Brain Res.* 29:419–28.
- Sato F, Kado S, Tsutsumi Y, Tachibana Y, Ikenoue E, Furuta T, Uchino K, Bae YC, Uzawa N, Yoshida A (2020) Ascending projection of jaw-closing muscle-proprioception to the intralaminar thalamic nuclei in rats. *Brain Res.* 1739:146830.
- Schmahmann JD (2004) Disorders of the cerebellum: ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 16:367–78.
- Serapide MF, Parenti R, Pantò MR, Zappalà A, Cicirata F (2002) Multiple zonal projections of the nucleus reticularis tegmenti pontis to the cerebellar cortex of the rat. *Eur J Neurosci.* 15:1854–8.
- Shambes GM, Beermann DH, Welker W (1978a) Multiple tactile areas in cerebellar cortex: another patchy cutaneous projection to granule cell columns in rats. *Brain Res.* 157:123–8.
- Shambes GM, Gibson JM, Welker W (1978b) Fractured somatotopy in granule cell tactile areas of rat cerebellar hemispheres revealed by micromapping. *Brain Behav Evol.* 15:94–140.
- Sherrington CS (1906) The Physiological position and dominance of the brain. In: *The integrative action of the nervous system*, pp. 346–48, Yale University Press, London.
- Shigenaga Y, Yoshida A, Tsuru K, Mitsuhiro Y, Otani K, Cao CQ (1988) Physiological and morphological characteristics of cat masticatory motoneurons—intracellular injection of HRP. *Brain Res.* 461:238–56.
- Somana R, Kotchabhakdi N, Walberg F (1980) Cerebellar afferents from the trigeminal sensory nuclei in the cat. *Exp Brain Res.* 38:57–64.
- Stoodley CJ, Schmahmann JD (2009) Functional topography in the human cerebellum: a meta-analysis of neuroimaging studies. *Neuroimage.* 44:489–501.

- Stoodley CJ, Schmahmann JD (2010) Evidence for topographic organization in the cerebellum of motor control versus cognitive and affective processing. *Cortex*. 46:831–44.
- Suzuki DA, Yamada T, Yee RD (2003) Smooth-pursuit eye-movement-related neuronal activity in macaque nucleus reticularis tegmenti pontis. *J Neurophysiol*. 89:2146–58.
- Swanson LW (1992) *Brain maps: structure of the rat brain*. Amsterdam: Elsevier
- Taylor A (1990) Periodontal Mechanoreceptors and Their Function. In: *Neurophysiology of the Jaws and Teeth*, pp. 70–6, Macmillan Press, London.
- Thier P, Möck M (2006) The oculomotor role of the pontine nuclei and the nucleus reticularis tegmenti pontis. *Prog Brain Res*. 151:293–320.
- Torigoe Y, Blanks RH, Precht W (1986) Anatomical studies on the nucleus reticularis tegmenti pontis in the pigmented rat. I. Cyto-architecture, topography, and cerebral cortical afferents. *J Comp Neurol*. 243:71–87.
- Tsutsumi Y, Mizuno Y, Haque T, Sato F, Furuta T, Oka A, Moritani M, Bae YC, Yamashiro T, Tachibana Y, Yoshida A (2021) Widespread corticopetal projections from the oval paracentral nucleus of the intralaminar thalamic nuclei conveying orofacial proprioception in rats. *Brain Struct Funct*. 226:1115–33.
- Turner BM, Paradiso S, Marvel CL, Pierson R, Ponto LLB, Hichwa RD, Robinson RG (2007) The cerebellum and emotional experience. *Neuropsychologia*. 45:1331–41.
- Uemura Y, Haque T, Sato F, Tsutsumi Y, Ohara H, Oka A, Furuta T, Bae YC, Yamashiro T, Tachibana Y, Yoshida A (2020) Proprioceptive thalamus receiving forelimb and neck muscle spindle inputs via the external cuneate nucleus in the rat. *Brain Struct Funct*. 225:2177–92.
- Watson CR, Switzer RC 3rd (1978) Trigeminal projections to cerebellar tactile areas in the rat—origin mainly from n. interpolaris and n. principalis. *Neurosci Lett*. 10:77–82.
- Welker W, Shambes GM (1985) Tactile cutaneous representation in cerebellar granule

cell layer of the opossum. *Didelphis virginiana* Brain Behav Evol. 27:57–79.

Wiesendanger R, Wiesendanger M (1982) The corticopontine system in the rat. II. The projection pattern J Comp Neurol. 208:227–38.

Wu HS, Sugihara I, Shinoda Y (1999) Projection patterns of single mossy fibers originating from the lateral reticular nucleus in the rat cerebellar cortex and nuclei. J Comp Neurol. 411:97–118.

Yoshida A, Fujio T, Sato F, Ali MS, Haque T, Ohara H, Moritani M, Kato T, Dostrovsky JO, Tachibana Y (2017) Orofacial proprioceptive thalamus of the rat. Brain Struct Funct. 222:2655–69.

Yoshida A, Inoue M, Sato F, Morita Y, Tsutsumi Y, Furuta T, Uchino K, Akhter F, Bae YC, Tachibana Y, Inoue T (2021) Efferent and afferent connections of supratrigeminal neurons conveying orofacial muscle proprioception in rats. Brain Struct Funct. doi: 10.1007/s00429-021-02391-9.

Yoshida A, Mukai N, Moritani M, Nagase Y, Hirose Y, Honma S, Fukami H, Takagi K, Matsuya T, Shigenaga Y (1999) Physiologic and morphologic properties of motoneurons and spindle afferents innervating the temporal muscle in the cat. J Comp Neurol. 406:29–50.

Yoshida A, Tsuru K, Mitsuhiro Y, Otani K, Shigenaga Y (1987) Morphology of masticatory motoneurons stained intracellularly with horseradish peroxidase. Brain Res. 416:393–401.

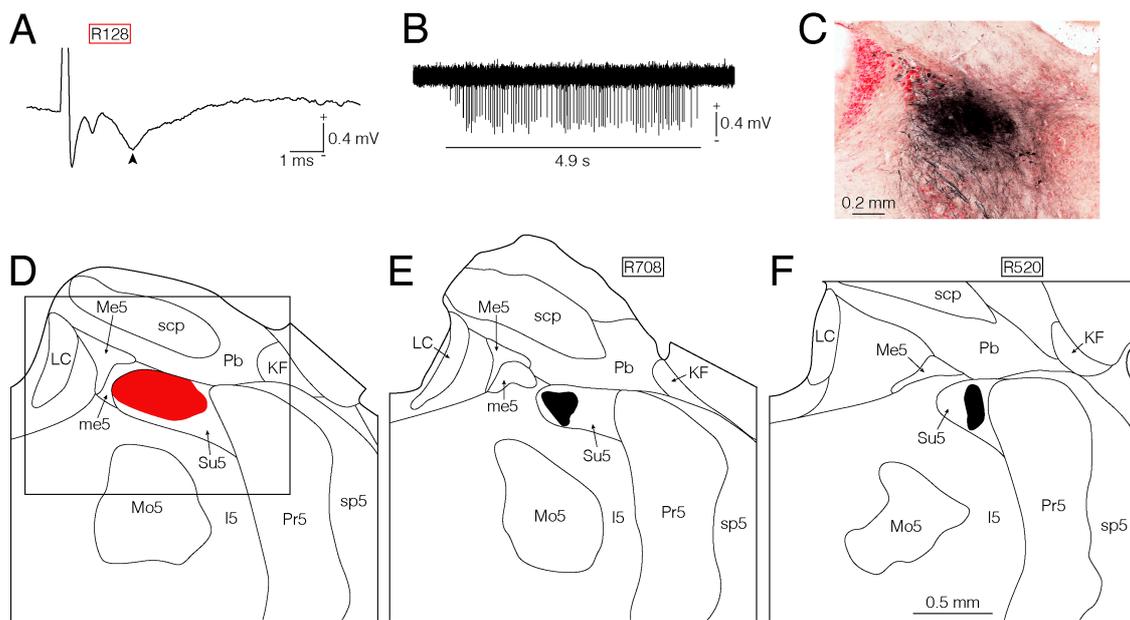


図1. 三叉神経上核 (Su5) で記録された応答 (A, B) と、その記録部位で注入した順行性神経トレーサーであるビオチン化デキストランアミン (BDA) の注入部位 (C-F)。A-D: ラット R128 で得たもの。A: 右側の咬筋神経の電気刺激に対する応答。矢頭は、刺激から 2.2 ミリ秒の潜時を示す。B: 下顎の受動的下制 (閉口筋の筋紡錘が伸張) (横線で示す 4.9 秒間) に対する応答を示す。C: A と B の記録部位に注入した BDA の注入部位の顕微鏡写真。切片はニュートラルレッドで対比染色している。D: A と B の記録部位に注入した BDA の注入部位のトレース。赤く塗られた部位が注入された BDA。四角で囲まれた部位の顕微鏡写真が C である。E, F: ラット R708 と R520 に注入した BDA の注入部位のトレース。黒く塗られた部位が注入された BDA。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

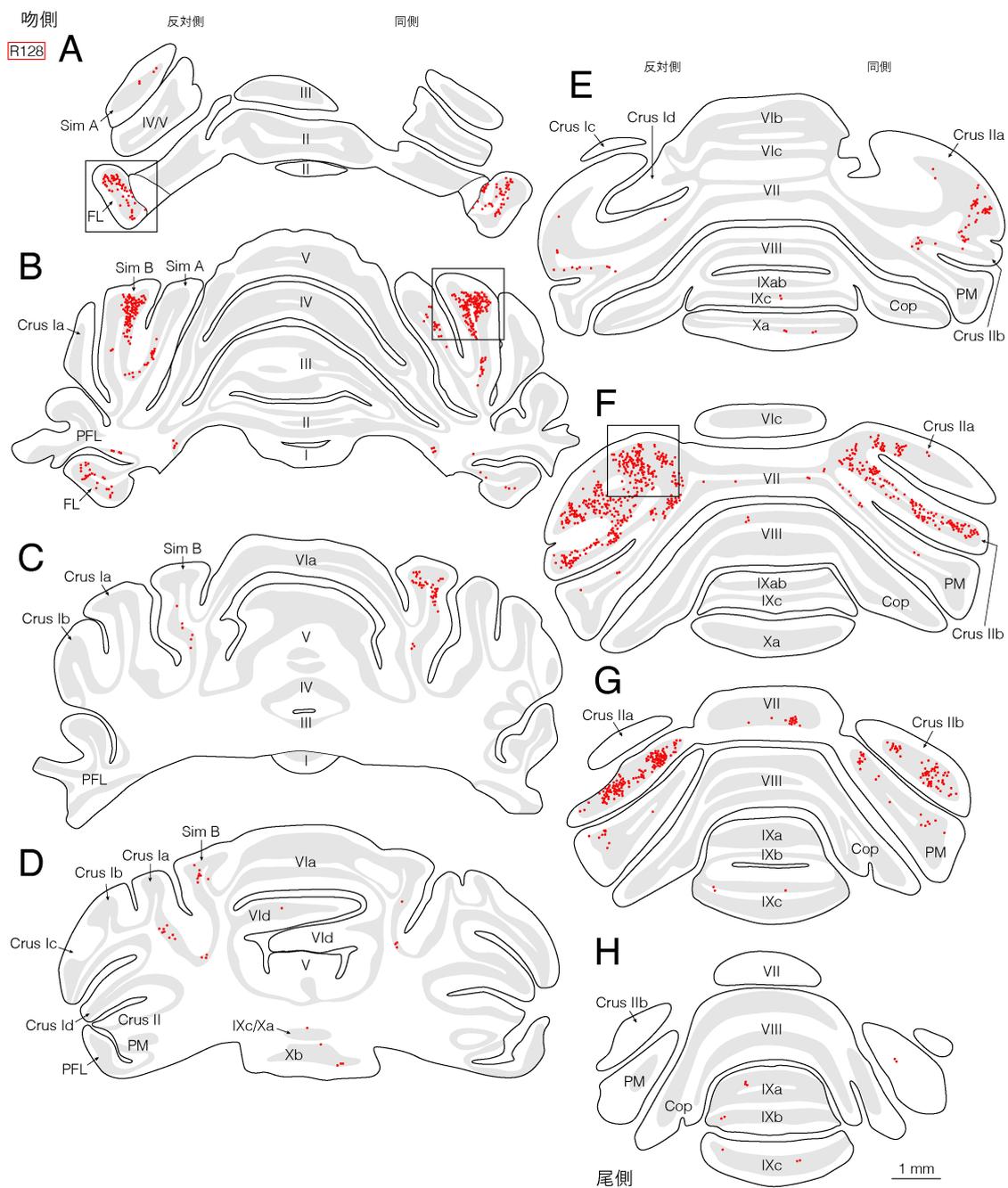


図2. ラット R128 の右側の Su5 に BDA を注入した後に、小脳皮質に認めた BDA 標識軸索終末（赤点）の分布。BDA の注入部位は図 1C, D に示している。小脳皮質の冠状断切片を吻尾的に A から H に並べている。各トレースの右側が BDA 注入部位と同側、左側が反対側である。A, B, F の四角で囲まれた部位の顕微鏡写真が、それぞれ図 3A, B, C である。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

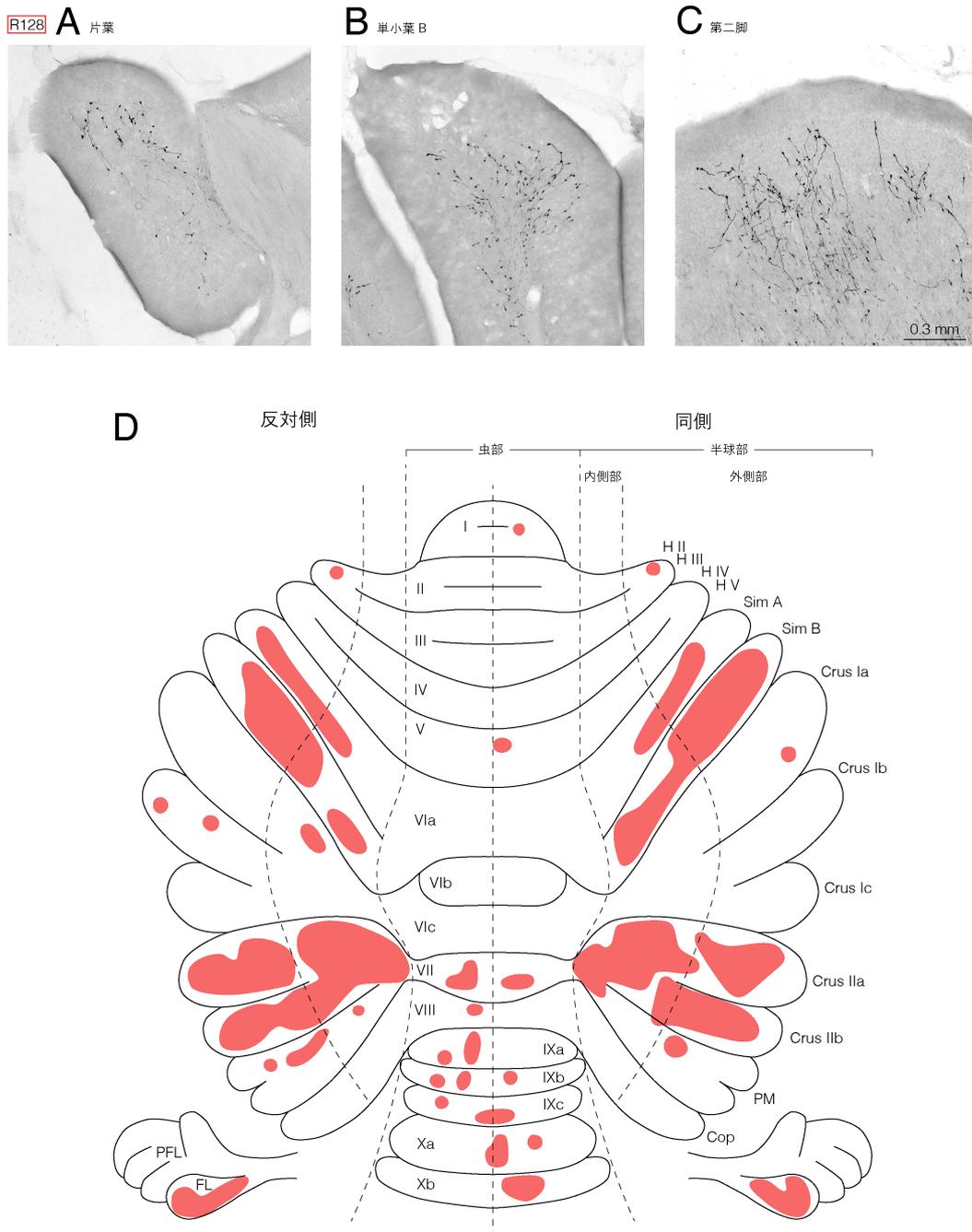


図 3. ラット R128 の Su5 に BDA を注入した後、小脳皮質の冠状切片上に認められた BDA 標識軸索終末の顕微鏡写真 (A-C) と分布域の図 (赤色の領域) (D)。A-C: 片葉 (A)、単小葉 B (B)、係蹄状小葉第二脚 (C) に認められた標識軸索終末の写真で、図 2 の A, B, F 中の四角で囲まれた部位にそれぞれ対応している。D: 図 2 A-H を含む冠状断切片上で認められた BDA 標識軸索終末を、ラット小脳皮質の展開表面図 (Buisseret-Delmas 1988) に再構築した図。小脳皮質虫部第 VI d 小葉、小脳皮質半球部の第一脚 d (Crus Id) の吻側部は、図 2 には示されているが、この展開表面図には現れていないことに注意。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

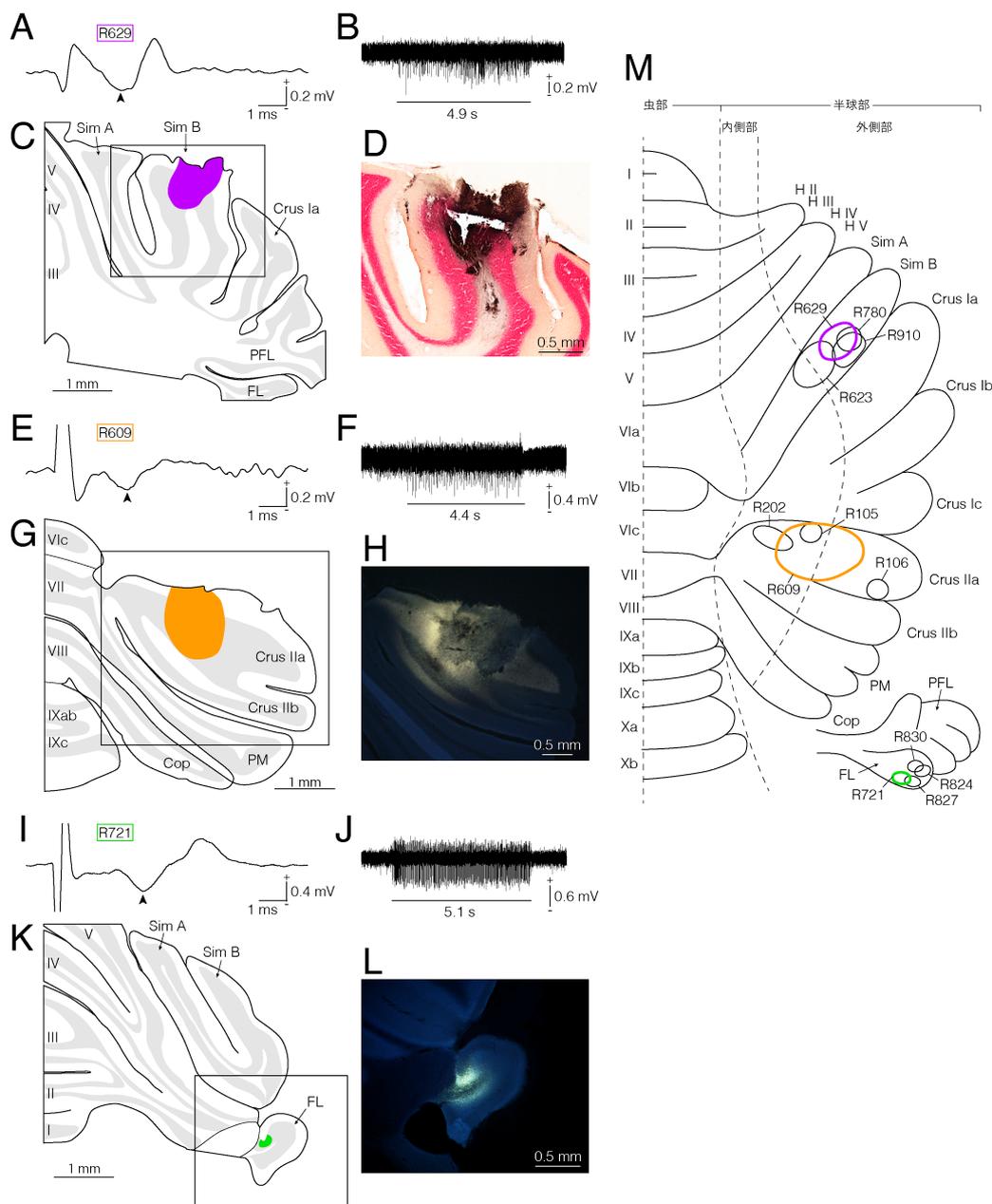


図4. 小脳皮質の単小葉 B (A, B)、第二脚 (E, F)、片葉 (I, J) で記録された応答と、その記録部位で注入した逆行性トレーサーの注入部位 (C, D, G, H, K-M)。A-D、E-H、I-L：それぞれ、ラット R629、R609、R721 で得られた応答とトレーサー注入部位。A、E、I：それぞれ単小葉、第二脚、片葉で記録した、右側の咬筋神経の電気刺激に対する応答。矢頭はそれぞれ、刺激から 2.4 ミリ秒、2.6 ミリ秒、3.3 ミリ秒の潜時を示す。B、F、J：それぞれ単小葉、第二脚、片葉で記録した、下顎の受動的な下制に対する応答。それぞれの下顎の受動的な下制の時間を横線で示している。C、D：A と B の記録部位に注入したコレラ毒素 B サブユニット (CTb) の注入部位のトレース (紫で塗られた部位) (C) と四角で囲まれた部位の顕微鏡写真 (D)。D：切片はニュートラルレッドで対比染色している。G、H：E と F の記録部位に注入した Fluorogold (FG) の注入部位のトレース (オレンジで塗られた部位) (G) と四角で囲まれた部位の蛍光顕微鏡写真 (H)。H：無反応で無染色の切片。K、L：I と J の記録部位に注入した FG の注入部位のトレース (黄緑で塗られた部位) (K) と四角で囲まれた部位の蛍光顕微鏡写真 (L)。L：無反応で無染色の切片。M：ラット小脳皮質の展開表面図に示した、ラット R629、R609、R721 を含む 12 匹のラットでの逆行性トレーサーの注入部位。各注入部位にはそのラットの番号を記載してある。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

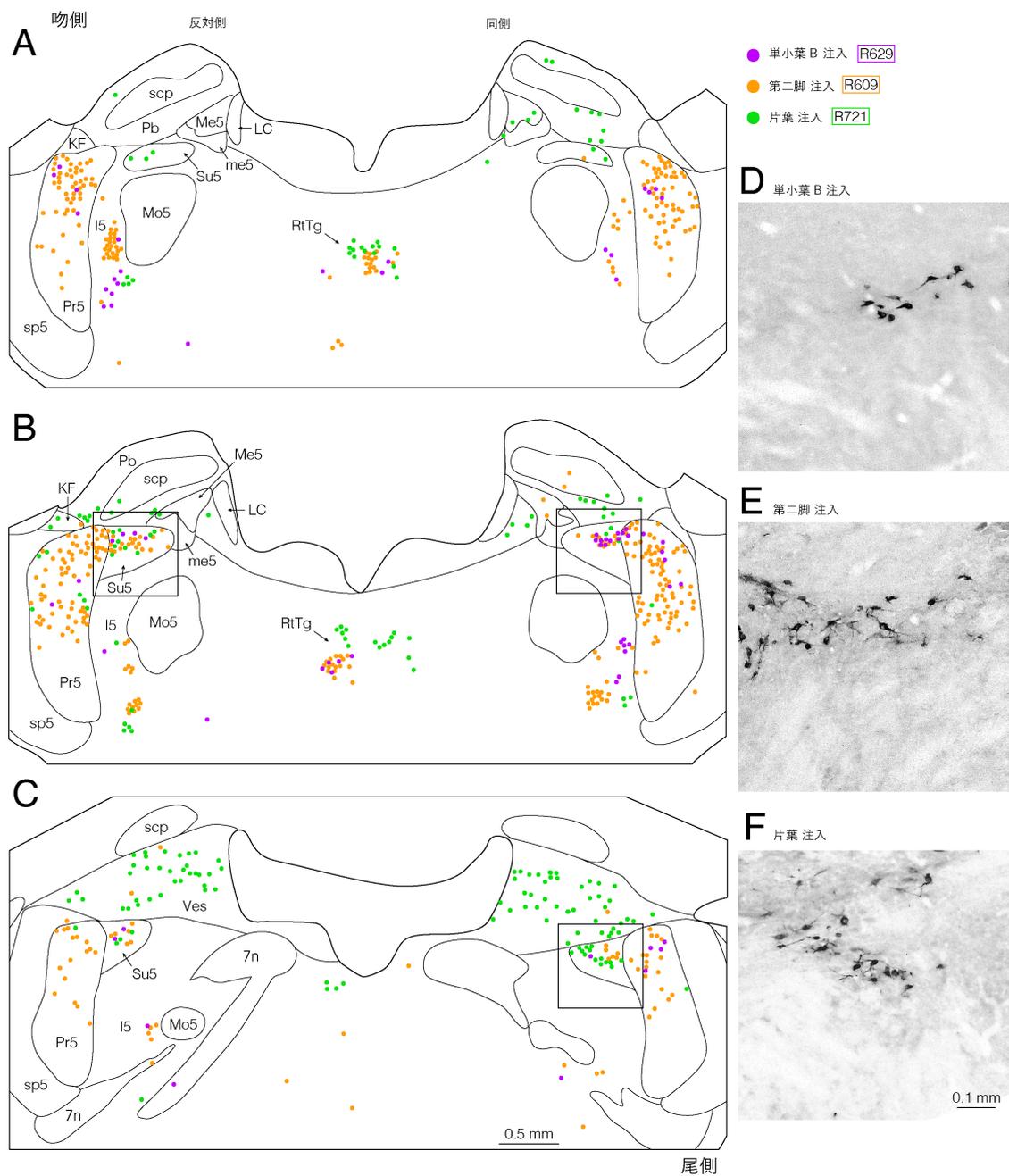


図5. 小脳皮質の単小葉 B に CTb を注入、第二脚と片葉に FG を注入した後に、Su5 およびその周辺に認められた標識細胞体の分布。A-C：それぞれ、Su5 の吻側、中央、尾側の冠状断切片である。単小葉 B、第二脚、片葉の同定のために記録された応答と逆行性トレーサーの注入部位は、図 4 に示されている。これら 3 部位への注入の後に標識された細胞体を、それぞれ紫、オレンジ、黄緑の点で表現している。各トレースの右側が小脳皮質への注入部位と同側、左側が反対側である。D-F：それぞれ、B の同側、B の反対側、および C の反対側にある四角で囲まれた部位の顕微鏡写真である。いずれの切片も対比染色はされていない。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

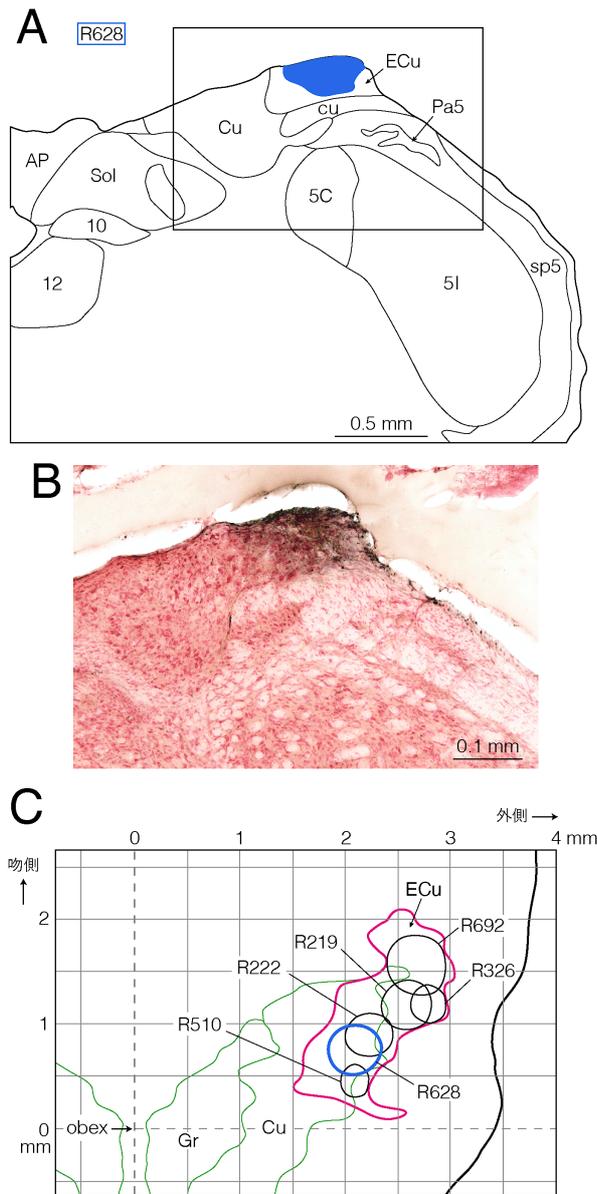


図6. 外側楔状束核 (ECu) に注入された BDA の注入部位。A, B: ラット R628 の BDA 注入部位を含む冠状断切片のトレース (A) と顕微鏡写真 (B)。A: 青く塗られた部位が BDA の注入部位。四角で囲まれた部位は B の顕微鏡写真に対応する。C: ラット R628 を含む 6 匹のラットでの BDA の注入部位を、ラット延髄の背側に投影した図。目盛りは obex からの距離 (mm) を示しており、上側が吻側、右側が外側である。各注入部位にはそのラットの番号を記載してある。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

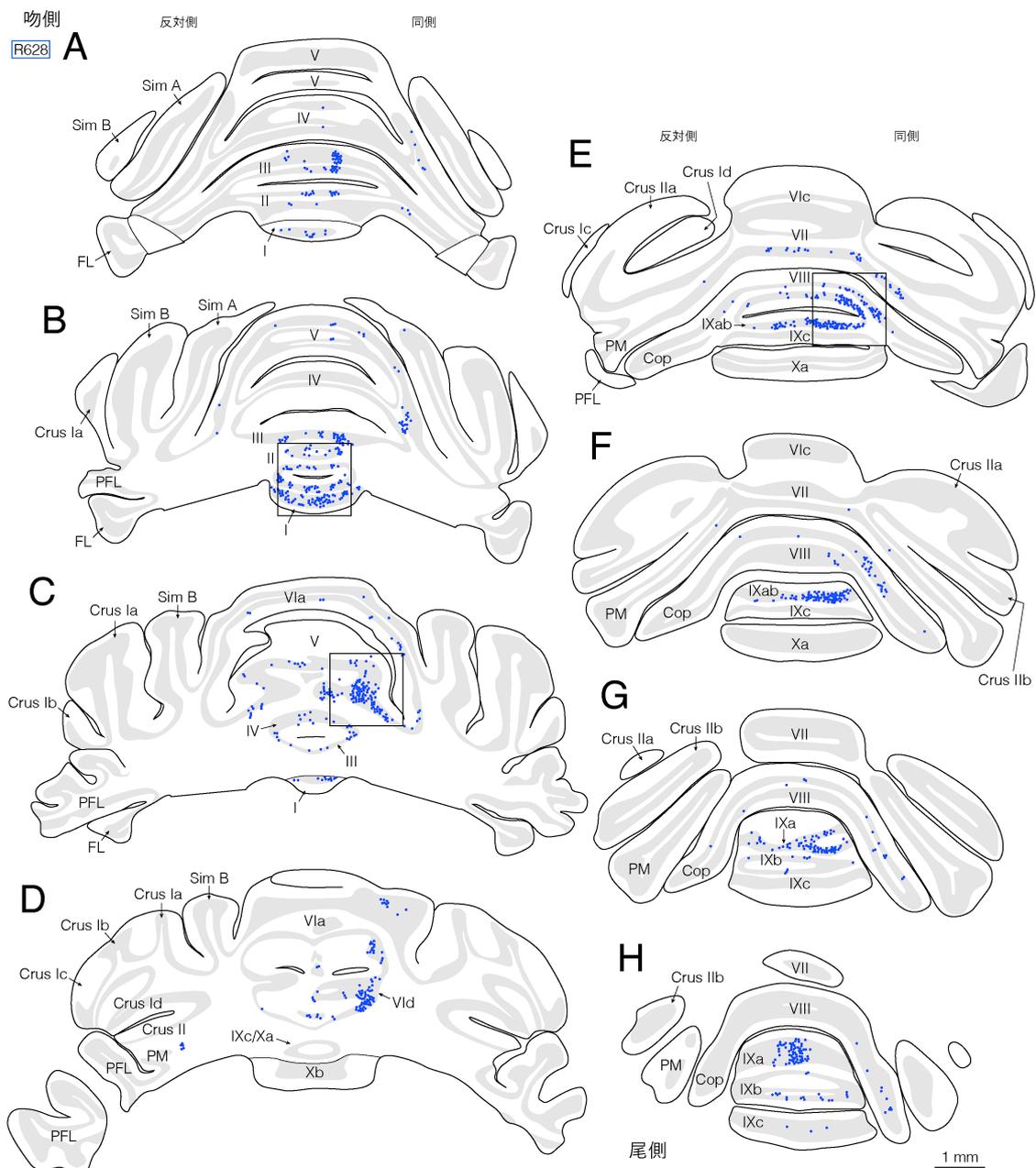


図7. ラット R628 の ECU に BDA を注入した後に小脳皮質に認めた BDA 標識軸索終末 (青点) の分布。ECU への注入部位は図 6 に示している。小脳皮質の冠状断切片を吻尾的に A から H に並べている。B, C, E の四角で囲まれた部位は、それぞれ図 8A, B, C の顕微鏡写真に対応している。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

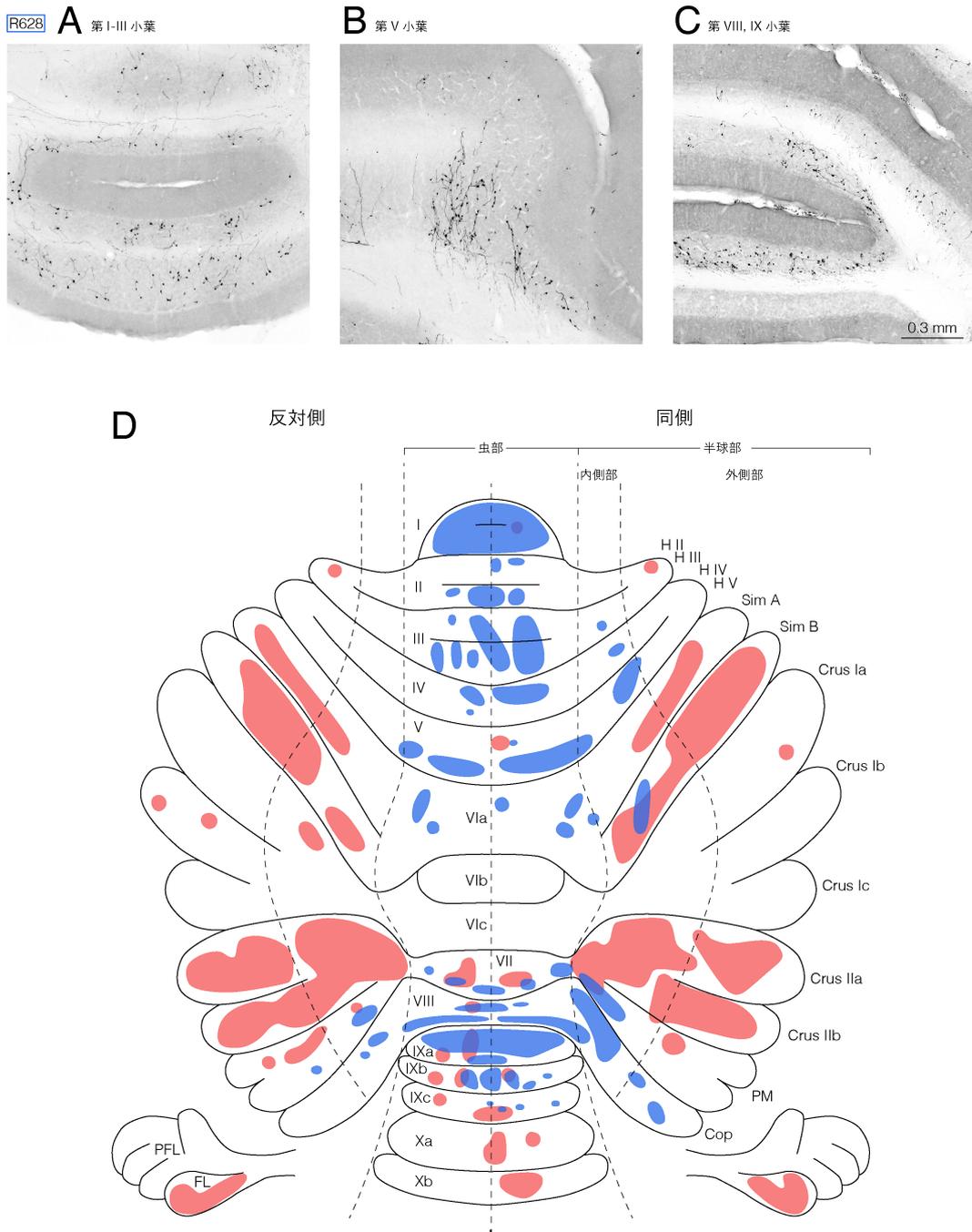


図8. ラット R628 の ECU に BDA を注入した後の、小脳皮質虫部の第 I-III 小葉、第 V 小葉、第 VIII、IX 小葉に認められた BDA 軸索終末の顕微鏡写真（それぞれ A, B, C）と、ラット小脳皮質の展開表面図における分布（青色の領域）（D）。A-C：それぞれ図7の B, C, E 中の四角で囲まれた部位に対応している。D：図7の冠状切片上で認められた BDA 標識軸索終末を、ラット小脳皮質の展開表面図へ再構築した分布（青色の領域）。比較しやすいように、図3で示した Su5 から小脳皮質への投射の分布（赤色の領域）を重ねて示している。他の略語の正式名称は略語一覧表を参照。

[謝辞]

稿を終えるにあたり、本研究の遂行に際し終始御懇切なる御指導とご高閲を賜りました
系統・神経解剖学講座（旧 口腔解剖学第二教室）古田貴寛教授ならびに吉田篤名誉教授に
心より謝意を表します。また最後に、本研究に対して多大なる御協力と御支援を頂きました
系統・神経解剖学講座（旧 口腔解剖学第二教室）の教室員の方々に深く御礼申し上げます。