

サテライトシンポジウム5 (SS5)

口腔機能と中枢神経系の研究を考える - ニューロンから全身まで -

座長：船橋 誠（北海道大学大学院 歯学研究科 口腔生理学教室）
井上富雄（昭和大学 歯学部 口腔生理学教室）

日時：9月23日（火）9:00～12:00

会場：D会場（TOC 有明コンベンションホール W-2）

口腔生理学の領域は多岐にわたっており、歯科基礎医学会ではこれら当該分野の研究者および大学院生が一同に集う。多用な口腔機能のうち、本サテライトシンポジウムは嚥下、顎運動、ブラキシズムなどの研究分野にスポットをあてると同時に、ニューロンレベルでの神経科学的な研究も含んだ最前線の研究を行っている研究者（できるだけ若手）に講演を依頼する。口腔機能学分野の最近の動向について情報を得ると同時に、当該分野における研究の現状を把握し、口腔生理学研究の将来について議論を深め、今後を展望することを目的とする。

SS5-1. 三叉神経中脳路核ニューロンが示す二つの機能モードとその電位依存的スイッチング

齋藤 充、姜 英男（大阪大学大学院 歯学研究科 高次脳口腔機能学講座 口腔生理学教室）

SS5-2. 睡眠中の骨格筋活動の heterogeneity と hierarchy

加藤隆史^{1,2,3}、増田裕次^{1,2}、森本俊文^{1,2}（¹松本歯科大学 総合歯科医学研究所、²松本歯科大学 大学院独立歯学研究科、³松本歯科大学病院 歯ぎしり睡眠時無呼吸症外来）

SS5-3. 咀嚼時感覚情報処理における大脳皮質の役割

山村 健介、黒瀬 雅之、山田 好秋（新潟大学大学院 医歯学総合研究科 口腔生理学分野）

SS5-4. 随意性嚥下における口腔感覚の役割：加齢による変化

矢作 理花、鈴木 哲也、北田 泰之（岩手医科大学 歯学部 歯科補綴学第一講座）

SS5-5. 脳弓下器官におけるニコチン受容体と口腔機能

小野 堅太郎、平瀬 正輝、稲垣 智浩、宮原 宣高、稲永 清敏（九州歯科大学 生命科学講座 生理学分野）

SS5-6. 急性単離神経細胞を用いた電気生理学的手法の工夫

小山 進（福岡大学 薬学部 臨床心身治療学教室）

SS5-1. 三叉神経中脳路核ニューロンが示す二つの機能モードとその電位依存的スイッチング

齋藤 充、姜 英男（大阪大学大学院歯学研究科 高次脳口腔機能学講座 口腔生理学教室）

ニューロンの軸索初節は、興奮性シナプス入力に応答して、最初に活動電位を生成する部位であり、また、軸索から細胞体への活動電位侵入において中心的な役割を果たすと考えられて来た。そして近年、デュアルパッチクランプ記録を用いた実験により、活動電位生成部位が軸索中に存在し、活動電位はそこから細胞体及び樹状突起へと逆伝播することが実証された。

脊髄後根神経節にある一次感覚ニューロンの細胞体には、極少数の例外を除きシナプス入力が存在せず、細胞体に生じる活動電位のそのほとんどは末梢感覚受容器に由来するため、一次感覚ニューロンにおける活動電位の逆伝播については詳しい報告がなされていない。生理的条件下では、末梢感覚受容器において発生し軸索末梢枝上を伝導してくる求心性インパルスは、幹軸索及び中枢枝の分岐部へと到達し、そこから細胞体及びシナプス前終末の両方へと伝播する。逆行性活動電位と同様に、求心性インパルスも幹軸索を通じ細胞体へと侵入することから、幹軸索は軸索上の活動電位を細胞体へと確実に伝導する様に特化されている可能性がある。しかし、一次感覚ニューロンの細胞体は、神経原性疼痛の様な病理的条件下、あるいは、極限られた生理的条件下において活動電位を生成することも知られている。

歯根膜機械受容器及び閉口筋筋紡錘を支配する三叉神経中脳路核(MTN)ニューロンは中脳に存在することから、一次感覚ニューロンとしては例外的に、細胞体上に存在する様々な神経伝達物質の受容体にシナプス入力を受けており、シナプス入力によって活動電位を生成することができる。また、MTNニューロンは、数mmにも及ぶ非常に長い有髄幹軸索を有している点においても特徴的である。

従って、MTNニューロンの細胞体では2種の活動電位を呈しうる。つまり、ひとつは、感覚受容器から軸索末梢枝を伝導してくるインパルスが細胞体へ侵入して生じるものであり、もうひとつは、細胞体へのシナプス入力によって生じるものである。ここで、以下の3つの疑問が起こる。(1) MTNニューロンでは、活動電位がどこで生成されるか、また、活動電位生成にあたり逆伝播は見られるか？ (2) MTNニューロンの細胞体で観察される2種の活動電位間に差異が認められるか？ (3) もし差異があるなら、それはどの活動電位が軸索分岐部から中枢枝を通じてシナプス前終末へと送られたかを反映するか？

MTNニューロンにおけるこれらの疑問を明らかにすることを目的に、シングル及びデュアルパッチクランプ記録と、免疫組織化学的技法を用いて実験を行なったところ、MTNニューロンは膜電位のレベルに応じて切り換えられる二つの機能モードを有する可能性が明らかとなった。

SS5-2. 睡眠中の骨格筋活動の heterogeneity と hierarchy

加藤隆史^{1,2,3}, 増田裕次^{1,2}, 森本俊文^{1,2} (¹松本歯科大学 総合歯科医学研究所、²松本歯科大学 大学院独立歯学研究科、³松本歯科大学病院 歯ぎしり睡眠時無呼吸症外来)

睡眠中、骨格筋活動は低下するか抑制される。しかし正常睡眠でも身体の様々な部位で骨格筋活動や運動が観察される。さらに、睡眠関連運動異常症では、身体の限局した部位に骨格筋活動の過剰な亢進が認められる。例えば、睡眠時ブラキシズムでは咀嚼筋活動の過剰な亢進が認められ、その結果閉口筋群の筋疲労や疼痛を誘発したり悪化させたりすると考えられている。しかし、睡眠関連運動異常症の生理的機構は未だ不明な点が多いため、動物モデル（モルモット）を用いて睡眠中の骨格筋活動の生理学的特性について検討を行ってきた。

睡眠中の骨格筋の活動レベルは、覚醒中の平均活動レベルと比べると相対的に低下する。しかし、咀嚼筋と頸筋ではその低下率が異なる。頸筋活動レベルは、ノンレム睡眠からレム睡眠へ移行すると低下するが、咬筋の活動レベルはノンレム睡眠とレム睡眠で差がない。一方、同じ三叉神経系において咬筋と顎二腹筋の活動レベルを比較すると、共に睡眠の違いによる差は認められないが、筋活動レベルは咬筋のほうが顎二腹筋より高い。また、咬筋と顎二腹筋の活動レベルは睡眠中に変動を示すが、2つの筋の変動は時間的に一致しなかった。つまり、睡眠中の頸筋や開閉口筋運動ニューロンへの興奮性入力が高質的および時間的に不均一である可能性がある。

また、ノンレム睡眠中の咬筋と顎二腹筋それぞれの活動レベルが上昇するに従い、心拍数は上昇し徐波活動量は低下する。さらに、頸筋を含めた3種の筋が全て活動すると、単一もしくは二種類の筋のみが活動するときと比べて心拍数が高く徐波活動が低かった。したがって、睡眠中の骨格筋活動の発現には、同一筋における活動レベルや動員される骨格筋数の増加という階層性があり、それらが覚醒強度の上昇と関連していると考えられる。

以上の結果から、睡眠時ブラキシズムをはじめとする睡眠運動異常症では、覚醒強度に応じて生じる興奮性入力は何らかの要因によって特定の筋種に特異的に集中するために、身体の一部に過剰な骨格筋活動が認められると考えられる。

SS5-3. 咀嚼時感覚情報処理における大脳皮質の役割

山村健介、黒瀬雅之、山田好秋（新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生理学分野）

摂食行動は生命維持のための栄養摂取の観点からみるとその第一段階に過ぎないが、実際には栄養摂取にかかわる生体諸機能の中で最も脳活動が盛んな期間である。このことは、摂食行動の主要な過程である咀嚼運動が口腔顔面領域の多数の筋の協調活動により遂行されることから明らかである。このような咀嚼運動制御には脳幹咀嚼中枢をはじめ大脳皮質、大脳基底核など様々な脳部位が関与するが、運動を円滑に遂行する上では、咀嚼に伴って生じる口腔からの感覚情報が不可欠で、これら感覚情報は反射的に、あるいは随意的に運動を修飾することに寄与する。

しかし、摂食行動時の感覚情報は運動制御に利用されるだけではなく、その中枢神経系での最終的な役割は食物の味や物性、運動感覚など摂食行動に伴う様々な感覚として認知され、情動に影響を与えたり、記憶にとどめられたりすることである。これらの認知機能は摂食行動時の脳活動の重要な要素を占め、その後続く消化・吸収などの植物系機能に影響を与えるだけではなく、「食事を楽しむ」「おいしく食べる」など QOL に直結する問題に関与する。例えば「おいしく食べる」ためには食物のフレーバー（味・匂いなど）とテクスチャー（舌触り・歯ごたえなど）が的確に認知されることが基本となる。しかし、咀嚼時の感覚情報の認知のしくみはほとんど明らかにされていないのが現状である。感覚情報が認知されるためには、感覚上行路を介して大脳皮質に到達した感覚情報が皮質内神経回路において統合される必要があるが、その際の情報の流れは一方向ではなく、感覚認知に関わる様々な皮質部位の間で情報が双方向的にやりとりされる。今回はその一例として、1) 咀嚼時体性感覚の皮質内回路への主要な入力部である一次顔面運動野ニューロンの咀嚼時活動様式についての動物での電気生理学的な研究結果と我々が最近行った2) ガム咀嚼時のヒト前頭連合野の血流変化に関する実験結果を紹介し、咀嚼時に生じる口腔からの感覚情報が脳皮質でどのような処理を受けているのかを考察したい。

SS5-4. 随意性嚥下における口腔感覚の役割：加齢による変化

矢作理花、鈴木哲也、北田泰之（岩手医科大学歯学部歯科補綴学第一講座）

口腔粘膜からの感覚入力が随意性嚥下を促進することが知られている。随意性嚥下において感覚入力と上位中枢入力は延髄孤束核に存在する嚥下の central pattern generator (CPG)に収斂し、CPG の神経活動を高め嚥下を誘発させると考えられている。我々はヒトの随意性嚥下において感覚入力を減少させ、上位中枢入力優位にすると嚥下実行能力に著しい個人差のあることを見出した。また、このような嚥下実行能力の低い（嚥下がし難い）被験者ほど感覚入力による嚥下促進効果が大きいことを見出し、感覚入力は単に嚥下を促進させるだけでなく嚥下の困難さを補償する重要な意味を持つことを明らかにしてきた。今回、高齢者の嚥下機能の特質を明らかにする目的で、高齢者と若年者の随意性嚥下における口腔感覚の役割を比較した。

若年健常者 21 名（23-37 歳）と高齢健常者 23 名（60-84 歳）を被験者とし、咽頭部に細いチューブを通じて水あるいは 0.3 M NaCl 液を注入した。刺激液の注入中、被験者にはできるだけ繰り返し嚥下するように指示した。舌骨上筋群の筋電図記録から嚥下間隔時間 (SI) を測定した。水は水受容器を興奮させ、0.3 M NaCl 液はその興奮を抑制する。咽頭部への 0.3 M NaCl 液注入は塩味を起ささない。機械的刺激を出来るだけ避けるため低速 (0.2 ml/min) でこれらの液を注入した。水注入による SI の短縮を water effect と呼ぶ。また、0.3 M NaCl 液は咽頭部で化学刺激にならないことは分かっている。0.3 M NaCl 液を 0.2 から 5.0 ml/min へ注入速度を速めると機械的受容器が刺激され SI が短縮した。これを mechanical effect という。

弱い感覚刺激 (0.2 ml/min で 0.3 M NaCl 液注入) では、若年者も高齢者も SI の個人差が著しく大きく、中枢の嚥下実行能力に個人差のあることが分かった。しかし、若年者と高齢者で嚥下能力において有意差は見られなかった。一方、感覚刺激による嚥下促進効果は若年者と高齢者で大きな違いが見られた。若年者では嚥下実行の中枢能力の低い被験者ほど、water effect および mechanical effect が大きく、感覚入力が確実に中枢へ送られていることを示した。一方、高齢者では加齢による感覚入力の減少が明らかになった。自発性嚥下は無意識下での感覚入力による反射として起こり、咽頭・喉頭部の清掃に役立っていると考えられている。高齢者による感覚受容器の感度の減少は自発性嚥下の頻度を少なくし、誤嚥性肺炎の危険性を高めることが考えられる。本実験の結果は嚥下障害の治療を考える上で重要な知見であると思われる。

SS5-5. 脳弓下器官におけるニコチン受容体と口腔機能

小野 堅太郎、平瀬正輝、稲垣智浩、宮原宣高、稲永清敏（九州歯科大学 生命科学講座 生理学分野）

第三脳室前壁に位置する半球状の中枢神経核である脳弓下器官(Subfornical organ: SFO)は血液脳関門を欠いているためホルモン等の血行性物質に感受性が高いとされており、喉の渇き誘発（飲水行動）や循環調節などの機能に関与することが知られている。これまでの報告にて脳室内カルバコール投与による飲水行動やSFOニューロンへのカルバコール投与による興奮性反応がほぼムスカリン受容体拮抗薬より消失することから、SFOにおけるニコチン受容体の機能に関しては否定的に考えられていた。しかしながら、5年前、我々はラットSFOスライス標本へのニコチン投与により多くのニューロンで神経興奮が引き起こされることを見出した。

喫煙は歯周病の増悪因子であるが、この喫煙によりニコチンは容易に血中に吸収される。よって、ニコチンがSFOに作用することにより口腔機能に何らかの影響を与えるのではないかと考えた。既にウサギへのニコチン末梢投与により歯肉血流を減少させるとの報告があったが、中枢への影響に関しては不明であった。そこで、ラットにおいて脳室内ニコチン投与を行ったところ、末梢へのニコチン作用がないにも関わらず歯肉血管コンダクタンスの減少が引き起こされた(Nakamura et al., J Periodontal Res, 2005)。同様の実験後、神経活動のマーカーとなるc-Fos蛋白の発現について調べたところ、SFOならびにその下流に位置する視床下部でのc-Fos発現は顕著に増加しており、中枢神経系でのニコチン受容体の活性化が歯肉血流量を減少させ、歯周病の増悪に関与する可能性が示唆された(Ono et al., Dentistry in Japan, 2007)。

これらの結果を受け、中枢ニコチン受容体刺激による喉の渇き誘発に関して再検討を行った。その結果、ラットにおける脳室内ニコチン投与は非常にごく微量の飲水ではあるものの、有意に飲水開始時間の短縮を引き起こした。加えて、SFOニューロンでのニコチンと代表的な口渇誘発物質であるアンギオテンシンIIによる興奮作用時間を検討したところ、ニコチンによる神経興奮時間はアンギオテンシンIIの反応と比べて非常に短かった(Ono et al., NeuroReport, 2008)。G蛋白共役型受容体で作用が長いアンギオテンシンII受容体やムスカリン受容体と異なり、ニコチン受容体はリガンド開口型受容体であるため作用が非常に短く、またそれにより持続的な飲水行動誘発が起きないために、これまでの報告ではSFOニューロンでのニコチン興奮性反応やニコチン刺激誘発飲水行動を見落としてしまったと考えられる。

さらにSFOにおけるニコチン受容体サブタイプについて検討した。ニコチン受容体は多くのサブユニットから構成される5量体である。RT-PCR法により $\alpha 2, 3, 4, 6, 7$ ならびに $\beta 2, 4$ の7つのサブユニットのSFO組織での存在が示された。ラット急速単離SFOニューロンにおいて、パッチクランプ全細胞記録法によるニコチン受容体へ薬理的な特徴より、 $\alpha 4\beta 2$ を基本としたサブタイプの存在が示唆された。一方、 $\alpha 7$ に対する免疫染色法により、 $\alpha 7$ はニューロンではなくグリア細胞に発現していることがわかった(Ono et al., Neurosci, 2008)。

SS5-6 急性単離神経細胞を用いた電気生理学的手法の工夫

小山 進 (福岡大学薬学部 臨床心身治療学教室)

本演題では、ラット脳スライス標本より神経細胞を急性単離する方法を紹介し、どのように電気生理学の実験を進めてゆくかについて述べる。

(1) 酵素処理を行った急性単離神経細胞

[特徴] 神経細胞の自発活動における電位依存性イオンチャネルの役割の解析等に適している。

[作成方法] 生後 2 週齢のラットを麻酔下に断頭後、脳切片作製機を用いて厚さ $400\ \mu\text{m}$ の脳スライス標本を作る。クレブス液で脳スライスを還流後、パパインによる酵素処理後、機械的神経単離装置を用いて、ペトリ・ディッシュ内で脳スライスから神経細胞を急性単離する。急性単離は、ペトリ・ディッシュ底にアンカーで定位した脳スライス表面から、ガラス・スタイルスの水平振動 (約 20Hz) により神経細胞を削ぎおとす要領で行う。急性単離終了後、ペトリ・ディッシュから脳スライスを除去する。約 20 分間放置後、ペトリ・ディッシュ底に近位樹状突起を伴う神経細胞体が付着しているのを確認し、実験を開始する。

[ホールセル・パッチ記録] 脱分極性電位パルスを与えた時に記録される比較的大きなイオン電流の電位エラーを最小限に抑え、正確な記録と解析ができる利点をもつ (例 A-type K^+ 電流)。

[ナイスタチン穿孔パッチ記録] 抗真菌薬ナイスタチンは、細胞膜に約 $4\ \text{\AA}$ の孔をあける。この孔は 1 価の陽・陰イオンを通過させ電気的アクセスを可能とするが、細胞内巨大分子は通過させない。したがって、細胞内セカンド・メッセンジャーなどの影響を強く受ける電位依存性イオンチャネル電流を安定して記録するのに適している (例 M-type K^+ 電流)。

(2) 酵素処理を行わない機械的単離神経細胞 (シナプス・ブトン標本)

[特徴] シナプス神経終末 (急性単離神経細胞体に付着した) からの神経伝達物質放出機序の詳細な解析を行うことが可能である。

[作成方法] 酵素処理の過程を省略すること以外は、上記作成方法に同じ。

[シナプス電流の記録] 薬理的に分離した GABA_A 受容体作動性抑制性シナプス電流の安定した記録が可能である。

[Y-チューブ法との併用] Y-チューブ法によるシナプス・ブトン標本に対する迅速な薬液交換により、シナプス神経終末に存在するリガンド作動性イオンチャネルを介した一過性の神経伝達物質放出修飾機序の解析が可能である (例 5-HT_3 受容体を介した GABA_A 受容体作動性抑制性シナプス電流頻度の促進)。