原	著
---	---

舌下神経運動ニューロンに直接投射する 延髄網様体の呼吸ニューロン

小 野 卓 史

東京医科歯科大学歯学部第2 歯科矯正学教室（指導：黒田敬之教授）

東京医科歯科大学歯学部口腔生理学教室（指導：中村嘉男教授）

（1990年6月11日 受付）

Respiratory Neurons in Medullary Reticular Formation Which Directly Project to Hypoglossal Motoneurons in Cats

Takashi Ono

The 2nd Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

(Director : Prof. Takayuki Kuroda)

Department of Physiology, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

(Director : Prof. Yoshio Nakamura)

The present study was carried out to determine the location of the excitatory premotor neurons projecting to the hypoglossal motoneurons (XII MNs) that show respiratory activities in pentobarbital-anesthetized cats. Projections from these hypoglossal premotor neurons to the phrenic motoneurons were also investigated. The following results were obtained.

(1) Injection of a fluorescent dye (Fast Blue, FB) into the hypoglossal nucleus and another fluorescent dye (Nuclear Yellow, NY) into the phrenic nucleus the cells in the medullary reticular formation labelled retrogradely with FB and/or NY mainly in the region ventrolateral to the nucleus of the tractus solitarius (vl-NTS) and dorsomedial to the nucleus ambiguus (dm-AMB).

(2) There were respiratory neurons in the region vl-NTS and dm-AMB which antidromically responded to the stimulation of the hypoglossal nucleus. Some of them antidromically responded also to the stimulation of the phrenic nucleus.

(3) Averaging of the hypoglossal and phrenic nerve discharges by spontaneous spikes of single respiratory neurons in the region vl-NTS and dm-AMB revealed a facilitation in the hypoglossal nerve discharge. In some of these excitatory hypoglossal premotor neurons, a facilitation was also revealed in the phrenic nerve discharge.

It was concluded that there were respiratory neurons in the region vl-NTS and dm-AMB which were excitatory premotor neurons projecting to the XII MNs showing respiratory activities. Some of them had excitatory projections to both the hypoglossal and phrenic motoneurons via the bifurcating axons.

I. 緒 言

口腔のもつ機能に舌は重要な役割を果たしてい

る。この舌の口腔内での位置の制御には、三叉神経^{1~7)}や舌咽神経^{5,8,9)}、上喉頭神経^{4,10,11)}、舌下神経^{12~14)}などを介する末梢からの感覚入力や、

大脳皮質^{15~17)}や脳幹に位置する呼吸^{18,19)}、咀嚼^{15,20,21)}、嚥下^{11,16,22)}などのパタン発生器からの中枢性入力に関与していると考えられている²³⁾。これらの要因のうちでも呼吸性入力に関しては、呼吸様式の異常が顎顔面領域の成長に影響を与える²⁴⁾といわれていることから臨床的にも注目されている。

舌の運動を司る舌下神経運動ニューロンに対する呼吸性制御に関して、Withington-Wray et al.²⁵⁾は、舌下神経運動ニューロンの一部には、呼吸に関連したリズム活動がみられ、膜電位の変動が主としてEPSPとそれに重畳するスパイクによることを報告している。しかしながら、呼吸性リズム活動を示す舌下神経運動ニューロンに投射する興奮性 premotor neuron の存在部位はいまだ明らかではない。

一方、Ezure and Manabe²⁶⁾によって、脊髄へ投射する吸息ニューロンが延髄網様体に存在し、これらのニューロンの軸索は分岐して副呼吸筋を支配する迷走神経運動ニューロンに直接投射することが明らかにされた。さらにこれらのニューロンの軸索は、舌下神経核周囲でも分岐していることが形態学的研究からも報告されている²⁷⁾。しかし、舌下神経運動ニューロンに直接シナプス結合しているか否かは不明である。

そこで本研究は、舌下神経運動ニューロンの呼吸性リズム活動の発現に関与する興奮性 premotor neuron の局在、ならびに軸索の投射様式を形態学的・電気生理学的手法を用いて検索した。

II. 方 法

1. 形態学的方法

1) 標本の作製

実験には9匹のネコ（体重2.4~4.2 kg）を用い、術前2日より適量の抗生物質の投与を行った。

Chlorpromazine hydrochloride (2mg/kg, 筋注) および atropine sulfate (0.05mg/kg, 筋注) で前処理を施し、約30分後に ketamine

hydrochloride (40mg/kg, 筋注) で麻酔を導入した。その後、Nembutal (30mg/kg) を腹腔内注射して深麻酔した後、自発呼吸下で手術を開始した。

頭部を定位固定装置に固定した後、両側側頭筋の起始部を骨から剥離し反転させ、後頭骨の一部および小脳の一部を除去し、延髄背側門 (obex) 付近の第4脳室底を露出した。さらに第5頸椎の棘突起および椎弓とその直下の硬膜を一部除去し、脊髄を露出した。

体温は、腹部に当てたヒーターと上方からの白熱灯の輻射熱によって37℃に保持した。

2) 蛍光色素の注入および組織学的検索

蛍光色素の注入に際しては、溶液を Hamilton microsyringe (針外径1.2 mm, 容量1.0 μ l) に満たし、針先を注入予定点に刺入してその部位に固定後10分以上経過してから約2時間かけて圧注入法によって注入した。

舌下神経核には、0.05 μ l の5% Fast Blue (FB)^{28~30)}を定量的に注入した。また、横隔膜に一对のエナメル被覆スチール線電極（極間距離10mm）を刺入して刺激電極とし、脊髄に刺入したタングステン電極から最大の逆行性陰性細胞外電位が記録される部位を横隔神経核と同定した。次にその位置に Hamilton microsyringe を刺入し直し、0.05 μ l の2% Nuclear Yellow (NY)^{28,30,31)}を注入した。注入終了後、創面を縫合し、適量の抗生物質およびブドウ糖の投与を行った。

注入終了72時間後に Nembutal (80mg/kg) を腹腔内注射し、0.9%生理食塩水および10% cacodylate buffered formalin (pH 7.2) にて灌流固定した。脳幹を摘出し、30% cacodylate buffered sucrose (pH 7.2) 中に遮光して2~4℃で保存した³⁰⁾。

24時間後に厚さ50 μ m の凍結連続前頭断標本作製し、蛍光色素によって逆行性に標識されたニューロンの存在部位を蛍光顕微鏡下（励起波長360 nm）で観察した。

2. 電気生理学的方法

1) ニューロン発射活動による解析

(1) 標本の作製

実験には19匹のネコ（体重2.7～4.5 kg）を用いた。形態学的方法に準じて、麻酔前投薬および導入を行った。気管カニューレおよび浅橈骨静脈へのカテーテル挿入を行い、以後の手術は人工呼吸下で、1.5～2.0% halothane 吸入麻酔ならびに lidocaine の局所麻酔を併用して行った。体温は、腹部に当てたヒーターと上方からの白熱灯の輻射熱によって、37℃に保持した。

両側の舌下神経を周囲組織から可能な限り長く分離し、末梢を切断後、中枢端にカラー型双極電極（極間距離5 mm）を装着した。一部の実験においては、両側の迷走神経を頸部で切断した。両側の横隔神経を頸静脈と鎖骨下静脈の分岐部で周囲組織から分離し、切断した。

ついで頭部を定位固定装置に固定した後、両側側頭筋の起始部を骨から剝離し、反転させた。後頭骨の一部および小脳の一部を除去し、第4脳室底を露出した。第5および第6頸椎の棘突起および椎弓とその直下の硬膜を一部除去し、脊髄を露出した。

広頸筋と板状筋の間の結合組織を分離し、あらかじめ分離、切断しておいた横隔神経に背側から到達しスリーブ型双極電極（極間距離3 mm）を装着した後、halothane 麻酔を中止して手術を終了した。気管内圧は、人工呼吸器に接続した吸気側のチューブの気管カニューレに最も近い部位における圧変化をモニターした。記録中は pancuronium bromide (0.1 mg/kg/h) で非動化し、Nembutal (10～15 mg/kg/h) で麻酔を維持した。

(2) 呼吸ニューロンの単一ニューロン活動の細胞外記録

一侧の舌下神経および両側の横隔神経に装着した電極を刺激電極とし、舌下神経核および横隔神経核に定位的に刺入したタングステン電極から最大の逆行性陰性細胞外電位が記録される部位にそれぞれ電極を固定した。なお、刺激の artifact を

極力小さくするために、舌下神経核には2本のタングステン電極（極間距離2 mm）を刺入し、双極刺激を行った。呼吸ニューロン^{32,33}の検索範囲は、前述の形態学的研究の結果を参考にし、延髄背側の門（obex）の吻側3 mm～尾側3 mm、正中から1.5～4.5 mm の範囲とした。記録にはタングステン微小電極（先端抵抗10～20 MΩ）を用いた。対象とするニューロンの同定は、①呼吸に一致した周期的なスパイク発射活動を示す、②舌下神経核および横隔神経核の微小電気刺激に対し一定の短潜時で応答を示し、③自発性スパイクと collision を起こす逆行性スパイクが誘発されることにより行った。これらの延髄呼吸ニューロン活動の記録時には、気管内圧の変化と舌下神経および横隔神経に装着した双極電極により発射活動を同時記録した。

(3) 組織学的検索

実験終了後、Nembutal を静脈内投与して深麻酔しタングステン微小電極を介して、20 μA の直流電流を20秒間通電し、1回の実験につき1個の呼吸ニューロンの記録部位に微小破壊巣を作製した後、致死量のNembutal を静脈内投与して脳幹を摘出した。10% formalin 溶液中で1週間固定後、厚さ75 μm の前頭凍結連続切片を作製し、Nissl 染色を施して刺激および記録部位を組織学的に確認した。

(4) データ処理

ニューロン発射活動ならびに細胞外電位の記録は、陰極線オシロスコープに表示すると同時に磁気テープに記録し（周波数帯域：DC～3 kHz）、実験終了後に再生しデータ処理を行った。

細胞外記録した呼吸ニューロンの性質の解析には、その自発性発火をトリガーとして、全波整流した舌下神経および横隔神経の発射活動を加算平均することにより行った。

III. 結 果

1. 蛍光色素により逆行性に標識されたニューロン

Obex のレベルで舌下神経核にFBを(図1)、第5頸髄のレベルで横隔神経核にNYを(図2)、

図1 Fast Blue の注入部位

図3 Fast Blue によって逆行性に標識されたニューロン

図2 Nuclear Yellow の注入部位

図4 Nuclear Yellow によって逆行性に標識されたニューロン

図5 Fast Blue および Nuclear Yellow によって逆行性に二重標識されたニューロン

それぞれ限局性に注入すると、これらの色素により逆行性に標識されたニューロンが脳幹に見い出された。図3は、FBにより逆行性に標識されたニューロンで、細胞質に色素が取り込まれている。このニューロンは注入側と同側の孤束核の腹外側部に存在した。図4は、NYにより逆行性に標識されたニューロンで、核に色素が取り込まれている。このニューロンは注入側と反対側の孤束核の腹外側部に存在した。図5は、FBとNYにより逆行性に二重標識されたニューロンで、核にNYが、細胞質にFBがそれぞれ取り込まれている。このニューロンは注入側と反対側の疑核の背内側部に存在した。

これらの蛍光色素により逆行性に標識されたニューロンを橋・延髄の前頭断切片上にプロットして代表的な一例が図6である。この標本においては、NY、FBはともに左側に注入している（FB：P11.5～13.5, NY：C₅）。NYで標識されたニューロン（△印）は、主としてobex付近の同側および対側の疑核の背内側部および孤束核の腹外側部、同側のKölliker-Fuse (KF) 核付近に存在し、FBで標識されたニューロン（●印）は、主

としてobex付近の対側の疑核の背内側部および孤束核の腹外側部、同側のKF核付近に存在した。NYおよびFBにより二重標識されたニューロン（★印）は、主としてobex付近の対側の疑核の背内側部および孤束核の腹外側部に存在した。

この標本においては、FBによってのみ標識されたニューロンは133個（同側56個、対側77個）、NYによってのみ標識されたニューロンは70個（同側25個、対側45個）、FBおよびNYにより二重標識されたニューロンは7個（同側1個、対側6個）であり、すべて対側優位に存在した。他の8例においても、NY、FB、NYおよびFBによって標識されたニューロンは、すべて対側優位に存在した。

以上のことから、obex付近の孤束核から疑核にかけての領域に、舌下神経運動ニューロンの呼吸リズム活動の発現に関与するpremotor neuronが存在する可能性が形態学的に確認された。

2. 舌下神経運動ニューロンに直接投射する呼吸ニューロン

舌下神経核および横隔神経核の刺激に対して逆行性スパイク応答を示すことから、舌下神経運動ニューロンおよび横隔神経運動ニューロンに投射するpremotor neuronと考えられる呼吸ニューロン54個について解析を行った。

1) 舌下神経運動ニューロンにのみ直接投射する呼吸ニューロン

舌下神経運動ニューロンにのみ直接投射する呼吸ニューロン33個のうち、典型的な一例を図7に示す。

対側の舌下神経核の55 μ Aの刺激に対し、0.5 msの一定の潜時でスパイク応答を示し（図7-Aa）、これが自発性スパイクとcollisionを起こす（図7-Cb）呼吸ニューロンの単一ニューロン活動が疑核の背内側部で記録された（図7-Aa）。このニューロンは横隔神経に発射活動がみられる相、すなわち吸息相に一致して群発発射を示すtonic type¹⁸⁾の吸息ニューロンである（図7-A, B）。

図6 舌下神経核および横隔神経核に注入した蛍光色素により逆行性に標識された橋・延髄網様体のニューロンの存在部位

舌下神経核、横隔神経核ともに蛍光色素は左側に注入している（斜線および点で示した領域）。3枚の連続切片上に存在したニューロンを1枚の切片上にまとめてプロットした。

●：Fast Blue で逆行性に標識されたニューロン

△：Nuclear Yellow で逆行性に標識されたニューロン

★：Fast Blue および Nuclear Yellow で逆行性に二重標識されたニューロン

BC：結合腕，TRC：被蓋網様核，LLV：外側毛帯腹側核，TB：台形体，KF：KF核

VLD：前庭神経外側核，VMN：前庭神経内側核，VIN：前庭神経下核，PH：舌下神経前位核

RFN：後顔面神経核，7：顔面神経核，SO：上オリーブ核，AMB：疑核，IO：下オリーブ核

S：孤束，DM：迷走神経背側運動核，12：舌下神経核，5ST：三叉神経脊髄路，5SP：三叉神経脊髄路核

この吸息ニューロンの自発性スパイクをトリガーとして、横隔神経および舌下神経の発射活動を加算平均すると、吸息ニューロンの negative deflection の onset から 1.7 ms の潜時で舌下神経の発射活動に促通がみられた（図7-Db）。このとき、横隔神経の発射活動には促通はみられなかった（図7-Dc）。

2) 舌下神経運動ニューロンおよび横隔神経運動ニューロンの両者に直接投射する呼吸ニューロン

舌下神経運動ニューロンおよび横隔神経運動ニ

ューロンの両者に直接投射する呼吸ニューロン9個のうち、典型的な一例を図8に示す。

対側の舌下神経核の40 μ A の刺激に対し、0.4 msの一定の潜時でスパイク応答を示し（図8-Ca），対側の横隔神経核の90 μ A の刺激に対し、2.0 msの一定の潜時でスパイク応答を示す（図8-Da） tonic type の吸息ニューロンの単一ニューロン活動が疑核の背内側部で記録された（図8-A，B）。このニューロンは、舌下神経核刺激および横隔神経核刺激に対して一定潜時のスパイク応答を示し、これが自発性スパイクと collision を起

図7 舌下神経運動ニューロンに直接投射する呼吸ニューロン

A : a ;呼吸ニューロンの単一ニューロン活動

b ; 1 秒当りのスパイク数 (200 ms/bin)

c ; 瞬時発火頻度

d ; 横隔神経の nerve discharge を全波整流した記録

e ; 舌下神経の nerve discharge を全波整流した記録

f ; 気管内圧

B : A の下線部を fast sweep で示したもの

C : a ; 舌下神経核刺激により誘発された逆行性スパイク応答

b ; collision test

D : A の呼吸ニューロンの自発性発火をトリガーとして、横隔神経および舌下神経の nerve discharge を1,500回加算平均したもの。矢印は促通の onset を示す。

a ; トリガーとした呼吸ニューロンの自発性スパイク

b ; 舌下神経

c ; 横隔神経

した (図8-Cb, Db)。

この吸息ニューロンの自発性スパイクをトリガーとして、横隔神経および舌下神経の発射活動を加算平均すると、吸息ニューロンの negative deflection の onset から1.4 ms の潜時で舌下神経活動に促通がみられた (図8-Eb)。さらに、横隔神経活動にも3.1 ms の潜時で促通がみられ

た (図8-Ec)。

3) 記録されたニューロンの存在部位

吻尾方向には obex から尾側へ2 mm、吻側へ3 mm、また、内外側方向には1.5 mm から4.5 mm の範囲で検索した結果、記録された54個のニューロンの存在部位を前頭断面上にプロットしたものが図9である。記録された54個のニューロ

ンの逆行性スパイク応答については、対側の舌下神経核刺激にのみ応じたニューロンが29個、同側の舌下神経核刺激にのみ応じたニューロンが4個、対側の横隔神経核刺激にのみ応じたニューロンが8個、同側の横隔神経核刺激にのみ応じたニューロンが4個記録された。また、対側の舌下神

経核および横隔神経核の両者の刺激に応じたニューロンが8個、同側の舌下神経核および横隔神経核の両者の刺激に応じたニューロンが1個記録された。しかしながら、一侧の舌下神経核およびこれと対側の横隔神経核の両者の刺激に応じたニューロンは記録されなかった。以上まとめる

図9 記録されたニューロンの存在部位

- : 対側の舌下神経核刺激に反応したニューロン
- : 同側の舌下神経核刺激に反応したニューロン
- ▲ : 対側の横隔神経核刺激に反応したニューロン
- △ : 同側の横隔神経核刺激に反応したニューロン
- ★ : 対側の舌下神経核および横隔神経核刺激に反応したニューロン
- ☆ : 同側の舌下神経核および横隔神経核刺激に反応したニューロン

と、舌下神経運動ニューロンに投射する興奮性 premotor neuron は、主として吻尾方向には、obex から吻側へ 0.5 mm、尾側へ 1.5 mm、また矢外側方向には、正中から 2 mm から 3.5 mm の範囲の孤束核の腹外側部から疑核の背内側部にかけての領域に存在した。

IV. 考 察

1. 蛍光色素によるニューロンの逆行性標識

舌下神経運動ニューロンに投射する premotor neuron の存在部位に関しては、舌下神経核に注入した HRP により逆行性に標識されたニューロンが、両側の舌下神経核の腹側および腹外側部の小細胞性網様体に多く存在したという報告³⁴⁾がな

されている。

一方, Rikard-Bell et al.³⁵⁾は, 横隔神経核に注入した HRP によって逆行性に標識されたニューロンが, 対側優位に両側の孤束核の腹外側部(延髄背側呼吸ニューロン群: DRG^{32, 33, 36, 37)}) および疑核周囲(延髄腹側呼吸ニューロン群: VRG^{32, 33, 36, 37)}) に多く存在したと報告している。

これらの二つの実験結果を考え合わせると, 逆行性に標識されたニューロンの局在部位で共通する領域は, 舌下神経核の腹外側部の延髄網様体であることが分かる。したがって, この領域に, 舌下神経核に直接投射して呼吸に関する情報を伝達するニューロンが存在し, さらにこのなかの一部のニューロンは, 軸索を分岐して横隔神経核にも同時に直接投射している可能性が考えられる。そこで著者は, 舌下神経核および横隔神経核の両者に異なる標識物質を注入し, それらによって逆行性に標識されたニューロンの存在部位を同一切片上で検索した。

異なる標識物質によるニューロンの逆行性標識に関しては, HRP と放射性物質を用いた方法³⁸⁾や, HRP と蛍光色素を用いた方法³⁹⁾などが報告されているが, 組織学的検索の際の簡便さを考慮し, 本研究では2種類の蛍光色素, FB および NY を用いた。注入に際しては, NY のほうが急速に輸送されること³⁰⁾から C₅ ないし C₆ の横隔神経核⁴⁰⁾に NY を, 舌下神経核に FB を注入し, survival time が長すぎると NY が細胞から流出すること²⁹⁾から, survival time は72時間とした。

本研究の結果, 舌下神経核に注入した FB によって逆行性に標識されたニューロンは, やや対側優位に両側の孤束核の腹外側部から疑核の背内側部にかけての領域, 舌下神経核の腹側から腹外側部の領域, 両側の小細胞性網様核の領域, 同側の KF 核周囲に存在した。また, 横隔神経核に注入した NY によって逆行性に標識されたニューロンは, 対側優位に両側の孤束核の腹外側部から疑核の背内側部にかけての領域, 両側の小細胞性網様

核の領域, 同側の KF 核周囲に存在した。以上の結果は, Takada et al.³⁴⁾ および Rikard-Bell et al.³⁵⁾の報告とはほぼ一致している。

本研究でとくに注目すべき点は, FB および NY によって二重標識されたニューロンが少数ではあるが対側優位(同側1個, 対側6個)に, 孤束核の腹外側部から疑核の背内側部にかけての領域に存在したことである。これらのニューロンは軸索を分岐して舌下神経核および横隔神経核の両者に投射する“dual projection neuron”⁴¹⁾である可能性が考えられる。しかしながら, 蛍光色素がマイクロシリッジの刺入に伴って傷ついた神経線維や舌下神経核および横隔神経核外に漏出し周囲の構造物から取り込まれた可能性も否定できない。また, 逆行性に標識されたニューロンが呼吸ニューロンか否かはこの種の研究方法では追求しえないことから, さらに電気生理学的方法を用い“dual projection neuron”の存在およびその生理学的特徴を検索した。

2. 舌下神経運動ニューロンにのみ直接投射する呼吸ニューロンおよび“dual projection neuron”

形態学的方法によって孤束核の腹外側部から疑核の背内側部にかけての領域に, 舌下神経核および横隔神経核の両者に投射するニューロンが存在する可能性が示された。

その領域に舌下神経運動ニューロンに呼吸性の情報を伝達する premotor neuron が存在するか否かを, 電気生理学的方法を用いて検索した。その結果, 舌下神経運動ニューロンにのみ直接投射する呼吸ニューロンおよび舌下神経運動ニューロンと横隔神経運動ニューロンの両者に直接投射する呼吸ニューロンの二つのタイプの呼吸ニューロンが, 孤束核の腹外側部から疑核の背内側部にかけての領域に存在することが明らかになった。

Premotor neuron の同定においては, 舌下神経核あるいは横隔神経核の微小電気刺激に対し一定の短潜時で発射し, 自発性スパイクと collision を起こす逆行性スパイク応答を指標としたが, この方法のみでは舌下神経核あるいは横隔神経核内およびその近傍を通過する神経線維を刺激する可

能性がある⁴²⁾。したがって本研究ではさらに、全皮整流した舌下神経ならびに横隔神経の発射活動を、細胞外記録した呼吸ニューロンの自発性スパイクで加算平均するいわゆる spike-triggered averaging (STA) 法を併用し、記録された呼吸ニューロンから舌下神経ならびに横隔神経運動ニューロンへの単シナプス性投射の有無を検索した。

図7のニューロンは、舌下神経核刺激に対する逆行性スパイク応答の潜時が0.5 msであったので、utilization time を0.2 ms とする⁴³⁾と、伝導時間は0.3 ms となる。また、舌下神経刺激によって誘発される舌下神経核における逆行性陰性細胞外電位の negative deflection の onset が0.8 ms であったので、シナプス遅延を0.3~0.4 ms とする⁴⁴⁾と、合計で1.4~1.5 ms となる。トリガーとした呼吸ニューロンの negative deflection の onset から1.7 ms の潜時で舌下神経に促通がみられたが、仮にシナプスをもう一つ介するとすれば、潜時は少なくとも1.7 ms になり、仮定したニューロンに興奮が伝達されてからスパイクを発生し、インパルスが軸索をシナプスまで伝導する合計時間が0 ms となる。したがってもう一つシナプスを介することは考えられず、この呼吸ニューロンから舌下神経運動ニューロンへの単シナプス性の興奮性投射が存在することが明らかになった。基線の揺れは、呼吸リズムに特有の現象 (high frequency oscillation : HFO)^{37, 45)}あるいは舌下神経運動ニューロンに特有の性質 (repetitive discharge)¹⁹⁾などを反映するものと考えられる。横隔神経核刺激に対する逆行性スパイク応答を示さないこと、および横隔神経に短潜時の促通がみられないことからこのニューロンから横隔神経運動ニューロンへの直接の投射は存在しないと考えられる。

図8のニューロンは舌下神経核刺激に対する逆行性スパイク応答の潜時が0.4 ms であったので、utilization time を0.2 ms とすると、伝導時間は0.2 ms となる。また、舌下神経刺激によって誘発される舌下神経核における逆行性陰性細

胞外電位の negative deflection の onset が0.8 ms であったので、シナプス遅延を0.3~0.4 ms とすると、合計で1.3~1.4 ms となる。また、横隔神経核刺激に対する逆行性スパイク応答の潜時が2.0 ms であったので、utilization time を0.2 ms とすると、逆行性伝導時間は1.8 ms となる。横隔神経刺激によって誘発される横隔神経核における逆行性陰性細胞外電位の negative deflection の onset が0.8 ms であったので、シナプス遅延を0.3~0.4 ms とすると、合計で2.9~3.0 ms となる。トリガーとした呼吸ニューロンの negative deflection の onset から1.4 ms の潜時で舌下神経に、3.1 ms の潜時で横隔神経に促通がみられた。仮にシナプスをもう一つ介するとすれば、潜時はそれぞれ少なくとも1.6 ms および3.2 ms となることから、この呼吸ニューロンから舌下神経運動ニューロンおよび横隔神経運動ニューロンの両者への単シナプス性の興奮性投射が存在することが明らかになった。このときの基線の揺れも前述の HFO あるいは repetitive discharge などを反映するものと考えられる。

脊髄へ投射する延髄呼吸ニューロンは主として対側脊髄を下行し、脊髄前角に存在する呼吸筋の運動ニューロンに単シナプス結合し^{37, 45~49)}、延髄内でも軸索側枝が対側の VRG の吸息ニューロン⁵⁰⁾や迷走神経運動ニューロン²⁶⁾に単シナプス性の興奮性結合をしているという報告がなされている。今回の電気生理学的研究においては、対側の横隔神経核刺激に応じた呼吸ニューロンが16個、同側の横隔神経核刺激に応じた呼吸ニューロンが5個であり、対側脊髄を下行し横隔神経運動ニューロンに直接投射するニューロンが多かった(16/21)。さらに、対側の横隔神経運動ニューロンに直接投射する呼吸ニューロン16個のうち、8個は軸索を分岐し対側の舌下神経運動ニューロンにも直接投射し、同側の横隔神経運動ニューロンに直接投射する呼吸ニューロン5個のうち、1個は軸索を分岐し同側の舌下神経運動ニューロンにも直接投射していた。このように電気生理学的実験からも“dual projection neuron”の存在比は

8 : 1 と対側優位であった。

Sasaki et al.²⁷⁾は、形態学的研究から VRG の吸息ニューロンの一部は、脊髄に下行する途中で軸索側枝を出し、舌下神経核付近にシナプス終末を形成することを報告し、“dual projection neuron” の存在を示唆したが、本実験結果はこのニューロンの軸索側枝が舌下神経運動ニューロンと実際にシナプス結合していることを電気生理学的に証明したものと見える。

ここで舌下神経運動ニューロンに直接投射する呼吸ニューロンの同側および対側における存在比について考えてみる。電気生理学的実験結果から同側の舌下神経運動ニューロンに投射する呼吸ニューロン5個に対し、対側の舌下神経運動ニューロンに投射する呼吸ニューロンは37個であり、その比は約1 : 7であることが明らかになった。これは、形態学的実験から得られた“dual projection neuron”の同側に対する対側の比、すなわち1 : 6に近い値であることから、舌下神経運動ニューロンに直接投射する呼吸ニューロンは、同側1に対し、対側には6ないし7に近い比で対側優位に存在することが示唆される。また、同側の舌下神経運動ニューロンに投射する呼吸ニューロン5個中“dual projection neuron”は1個であり、対側の舌下神経運動ニューロンに投射する呼吸ニューロン37個中“dual projection neuron”は8個であった。したがって、それらの呼吸ニューロン群が投射する舌下神経運動ニューロンが同側であろうが対側であろうが、その約1/5が“dual projection neuron”であることが示唆される。今回の電気生理学的実験においては一側の舌下神経核刺激に応答した呼吸ニューロンでこれと対側の横隔神経核刺激に応答するものはなかった。また、形態学的実験においても蛍光色素を注入する舌下神経核および横隔神経核を同側としたために、一側の舌下神経核およびこれと対側の横隔神経核の両者に投射するニューロンについての検索はなされなかった。

Withington-Wray et al.²⁵⁾は、吸息性のリズム活動を示す舌下神経運動ニューロンの呼息相の

膜電位に IPSP が関与していることを報告している。今回の実験において記録された premotor neuron はすべて興奮性^{51, 52)}の吸息ニューロンであったことから、舌下神経運動ニューロンの呼吸リズム活動の形成に関与する抑制性 premotor neuron^{6, 53, 54)}は、おそらく他の部位に存在するものと思われる。

3. 舌の位置の呼吸性制御

歯科矯正学においては、不正咬合の一因として、安静時あるいは機能時の舌の位置の異常があげられている^{55, 56)}。

一方、呼吸に伴って外舌筋、とくにオトガイ舌筋（舌突き出し筋）にリズムカルな筋電図活動がみられることはよく知られており^{57~62)}、近年注目を浴びている^{63, 64)}睡眠時無呼吸症候群（Sleep Apnea Syndrome : SAS）のうち閉塞型（Obstructive Sleep Apnea Syndrome : OSAS）の一因としてもオトガイ舌筋の機能低下による上気道の閉塞があげられている⁶⁴⁾。

本研究において、孤束核の腹外側部から疑核の背内側部の延髄網様体に舌下神経運動ニューロンに呼吸情報を伝達する興奮性 premotor neuron が存在し、さらにその一部は横隔神経運動ニューロンにも同時に投射する“dual projection neuron”であることが明らかになった。このような“dual projection neuron”あるいは“bifurcating projection neuron”⁴¹⁾の機能的意義に関しては、Cajal⁶⁵⁾が、単一の型のニューロンが複数の標的に情報伝達をする際の最も効率的な方法であると示唆して以来、数々の考察がなされてきた^{29, 41, 66~68)}。本研究において、舌下神経運動ニューロンおよび横隔神経運動ニューロンの両者に投射するというかたちで明らかにされた“dual projection neuron”の存在は、吸気時の気道確保という目的を達成するためには非常に効率的あるいは合理的であるといえよう。さらにこのニューロンの存在は、舌と横隔膜の活動との密接な関係を示唆するばかりでなく、舌が呼吸という生命維持に関わる重要な機能の一翼を担っていることを明確に示すものである。

以上のような事実を総括すると、舌の位置は呼吸という因子によっても明らかに制御されていると考えられ、本研究で明らかになったニューロン機能（呼吸様式⁶⁹⁾や頭位⁷⁰⁾の変化によりどのような影響を受けるかという点をさらに追究することが、顎顔面領域の形態形成と口腔機能とくに呼吸機能との関連性を解明する端緒となると考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始懇切なご指導とご校閲を賜った黒田敬之教授、ならびに中村嘉男教授に深甚なる謝意を表します。

また、直接数々のご指導、ご教示をいただきました第2矯正学教室・石渡靖夫博士に心より感謝致します。

さらに、本研究に協力を惜しまれなかった口腔生理学教室、矯正学教室の諸先生方に厚くお礼申し上げます。

本研究の一部は平成2年度科学研究費補助金（奨励研究A（特別研究員））No.02954164 によった。

文 献

- 1) Takata, M. : Inhibitory postsynaptic potentials evoked in hypoglossal motoneurons by lingual nerve stimulation. *Exp. neurol.* 75 : 103-111, 1982.
- 2) Takata, M. and Tomomune, N. : Properties of postsynaptic potentials evoked in hypoglossal motoneurons by inferior alveolar nerve stimulation. *Exp. Neurol.* 93 : 117-127, 1986.
- 3) Ishiwata, Y., Ono, T., Kuroda, T. and Nakamura, Y. : Synaptic potentials of hypoglossal motoneurons evoked by temporal muscle afferents. *J. Dent. Res.* 67(4), Abstr. nr 97 : 735, 1988.
- 4) Schmitt, A., Yu, S.-K. J. and Sessle, B. J. : Excitatory and inhibitory influences from laryngeal and orofacial areas on tongue position in the cat. *Arch. Oral Biol.* 18 : 1121-1130, 1973.
- 5) Sauerland, E. K. and Mizuno, N. : A protective mechanism for the tongue : suppression of genioglossal activity induced by stimulation of trigeminal proprioceptive afferents. *Experientia* 26 : 1226-1227, 1970.
- 6) Sumino, R. and Nakamura, Y. : Synaptic potentials of hypoglossal motoneurons and a common inhibitory interneuron in the trigemino-hypoglossal reflex. *Brain Res.* 73 : 439-454, 1974.
- 7) Lowe, A. A. : Mandibular joint control of genioglossus muscle activity in the cat and monkey (*Macaca Irus*). *Arch. Oral Biol.* 23 : 787-793, 1978.
- 8) Duggan, A. W., Lodge, D. and Biscoe, T. J. : The inhibition of hypoglossal motoneurons by impulses in the glossopharyngeal nerve of the rat. *Exp. Brain Res.* 17 : 261-270, 1973.
- 9) Hunter, I. W. and Porter, R. : Glossopharyngeal influences on hypoglossal motoneurons in the cat. *Brain Res.* 74 : 161-166, 1974.
- 10) Sumi, T. : Synaptic potentials of hypoglossal motoneurons and their relation to reflex deglutition. *Jpn. J. Physiol.* 19 : 68-79, 1969.
- 11) Lowe, A. A. : Excitatory and inhibitory inputs to hypoglossal motoneurons and adjacent reticular formation neurons in cats. *Exp. Neurol.* 62 : 30-47, 1978.
- 12) Lindquist, C. and Martensson, A. : Reflex responses induced by stimulation of hypoglossal afferents. *Acta Physiol. Scand.* 77 : 234-240, 1969.
- 13) Hanson, J. and Widen, L. : Afferent fibers in the hypoglossal nerve of the cat. *Acta Physiol. Scand.* 79 : 24-36, 1970.
- 14) Morimoto, T. and Kawamura, Y. : Inhibitory postsynaptic potentials of hypoglossal motoneurons of the cat. *Exp. Neurol.* 37 : 188-198, 1972.
- 15) Porter, R. : Cortical actions on hypoglossal motoneurons in cats : A proposed role for a common internuncial cell. *J. Physiol.* 193 : 295-308, 1967.
- 16) Sumi, T. : Activity in single hypoglossal fibers during cortically induced swallowing and chewing in rabbits. *Pflügers Arch.* 314 : 329-346, 1970.
- 17) Lund, J. P. and Dellow, P. G. : Rhythmical masticatory activity of hypoglossal motoneurons responding to an oral stimulus. *Exp. Neurol.* 40 : 243-246, 1973.
- 18) Hwang, J.-C., D. Bartlett, Jr. and St. John, W. M. : Characterization of respiratory-modulated activities of hypoglossal motoneurons. *J. Appl. Physiol. : Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 55 : 793-798, 1983.
- 19) Sumi, T. : Functional differentiation of hypoglossal motoneurons in cats. *Jpn. J. Physiol.* 19 : 55-67, 1969.
- 20) Dellow, P. G. and Lund, J. P. : Evidence for central timing of rhythmical mastication. *J.*

- Physiol. 215 : 11-13, 1971.
- 21) Morimoto, T. and Kawamura, Y. : Properties of tongue and jaw movements elicited by stimulation of the orbital gyrus in the cat. Arch. Oral Biol. 18 : 361-372, 1973.
 - 22) Sumi, T. : Changes of hypoglossal nerve activity during inhibition of chewing and swallowing by lingual nerve stimulation. Pflügers Arch. 317 : 303-309, 1970.
 - 23) Lowe, A. A. : The neural regulation of tongue movement. Progress in Neurobiology 15 : 295-344, 1981.
 - 24) McNamara, J. A. Jr. : Naso-respiratory function and craniofacial growth. Michigan, 1979. CHGD.
 - 25) Withington-Wray, D. J., Mifflin, S. W. and Spyer, K. M. : Intracellular analysis of respiratory modulated hypoglossal motoneurons in the cat. Neuroscience 25 : 1041-1051, 1988.
 - 26) Ezure, K. and Manabe, M. : Monosynaptic excitation of medullary inspiratory neurons by bulbospinal inspiratory neurons of the ventral respiratory group in the cat. Exp. Brain Res. 74 : 501-511, 1989.
 - 27) Sasaki, H., Otake, K., Mannen, H., Ezure, K. and Manabe, M. : Morphology of augmenting inspiratory neurons of the ventral respiratory group in the cat. J. Comp. Neurol. 282 : 157-168, 1989.
 - 28) Kuypers, H. G. J. M., Bentivoglio, M., Catsman-Berrevoets, C. E. and Bharos, T. B. : Double retrograde neuronal labeling through divergent axon collaterals, using two fluorescent tracers with the same excitation wavelength which label different features of the cell. Exp. Brain Res. 40 : 383-392, 1980.
 - 29) Keizer, K. and Kuypers, H. G. J. M. : Distribution of corticospinal neurons with collaterals to lower brain stem reticular formation in cat. Exp. Brain Res. 54 : 107-120, 1984.
 - 30) Bentivoglio, M., Kuypers, H. G. J. M. and Catsman-Berrevoets, C. E. : Retrograde neuronal labeling by means of bisbenzimidazole and Nuclear Yellow (Hoechst S 769121). Measures to prevent diffusion on the tracers out of retrogradely labeled neurons. Neurosci. Lett. 18 : 19-24, 1980.
 - 31) Bentivoglio, M., Kuypers, H. G. J. M., Catsman-Berrevoets, C. E., Loewe, H. and Dann, O. : Two new fluorescent retrograde neuronal tracers which are transported over long distances. Neurosci. Lett. 18 : 25-30, 1980.
 - 32) 福原武彦 : 呼吸中枢の神経機構. 神経進歩 30 : 209-227, 1986.
 - 33) 江連和久 : 延髄呼吸ニューロン群とそれらの間の相互作用. 日本生理誌 51 : 193-207, 1989.
 - 34) Takada, M., Itoh, K., Yasui, Y., Mitani, A., Nomura, S. and Mizuno, N. : Distribution of premotor neurons for the hypoglossal nucleus in the cat. Neurosci. Lett. 52 : 141-146, 1984.
 - 35) Rikard-Bell, G. C., Bystrzycka, E. K. and Nail, B. S. : Brainstem projection to the phrenic nucleus : A HRP study in the cat. Brain Res. Bull. 12 : 469-477, 1984.
 - 36) 三浦光彦 : 呼吸上位中枢のトポグラフィー—横隔神経核への投射を中心とした考察—, 生体の科学 39 : 220-224, 1988.
 - 37) Cohen, M. I. : Neurogenesis of respiratory rhythm in the mammal. Physiol. Rev. 59 : 1105-1173, 1979.
 - 38) Stewart, O., Scoville, S. A. and Vinsant, S. L. : Analysis of collateral projections with a double retrograde labeling technique. Neurosci. Lett. 5 : 1-5, 1977.
 - 39) Steiger, H.-J. and Buttner-Ennever, J. : Relationship between motoneurons and internuclear neurons in the abducens nucleus : a double retrograde tracer study in the cat. Brain Res. 148 : 181-188, 1978.
 - 40) Webber, C. L., Jr., Wurster, R. D. and Chung, J. M. : Cat phrenic nucleus architecture as revealed by horseradish peroxidase mapping. Exp. Brain Res. 35 : 395-406, 1979.
 - 41) Killackey, H. P., Koralek, K.-A., Chiaia, N. L. and Rhoades, R. W. : Laminar and areal differences in the origin of the subcortical projection neurons of the rat somatosensory cortex. J. Comp. Neurol. 282 : 428-445, 1989.
 - 42) 篠田義一 : 破壊と刺激, 伊藤正男・塚原仲晃 : 神経生理学総論 (新生理科学大系第8巻). 東京, 1989, 医学書院, 132-150.
 - 43) Jankowska, E. and Roberts, W. J. : An electrophysiological demonstration of the axonal projections of single spinal interneurons in the cat. J. Physiol. 222 : 597-622, 1972.
 - 44) Jankowska, E. and Roberts, W. J. : Synaptic actions of single interneurons mediating reciprocal Ia inhibition of motoneurons. J. Physiol. 222 : 623-642, 1972.
 - 45) Davies, J. G. McF., Kirkwood, P. A. and Sears, T. A. : The detection of monosynaptic connexions from inspiratory bulbospinal neurones to inspiratory motoneurons in the cat. J. Physiol. 368 : 33-62, 1985.
 - 46) Cohen, M., Piercey, M. F., Gootman, P. M. and Wolotsky, P. : Synaptic connections between

- medullary inspiratory neurons and phrenic motoneurons as revealed by cross-correlation. *Brain Res.* 81 : 319-324, 1974.
- 47) Feldman, J. L. and Speck, D. F. : Interactions among inspiratory neurons in dorsal and ventral respiratory groups in cat medulla. *J. Neurophysiol.* 49 : 472-490, 1983.
- 48) Fedorko, L., Merrill, E. G. and Lipski, J. : Two descending medullary inspiratory pathways to phrenic motoneurons. *Neurosci. Lett.* 43 : 285-291, 1983.
- 49) Davies, J. G. McF., Kirkwood, P. A. and Sears, T. A. : The distribution of monosynaptic connexions from inspiratory bulbospinal neurones to inspiratory motoneurons in the cat. *J. Physiol.* 368 : 63-87, 1985.
- 50) Manabe, M. and Ezure, K. : Excitatory connection between inspiratory neurons of the ventral respiratory group. *J. Physiol. Soc. Jpn.* 50 : 586, 1988.
- 51) Kuypers, H. G. J. M., Bentivoglio, D., Van Der Kooy, D. and Catsman-Berrevoots, C. E. : Retrograde transport of bisbenzimidazole propidium iodide through axons to their parent cell body. *Neurosci. Lett.* 12 : 1-7, 1979.
- 51) 橋本信行, 佐原資謙, 中村嘉男 : 舌下神経核に投射する premotor neuron の局在. 歯基礎誌 26(補冊) : 357, 1984.
- 52) 橋本信行, 佐原資謙, 中村嘉男 : 舌下神経核に投射する延髄網様体ニューロンの皮質咀嚼野連続刺激に対する応答様式. 歯基礎誌 27(補冊) : 166, 1985.
- 53) Ishiwata, Y., Ono, T., Kuroda, T. and Nakamura, Y. : Central pathway evoking synaptic potentials of hypoglossal motoneurons by temporal muscle afferents. *J. Physiol. Soc. Jpn.* 50 : 455, 1988.
- 54) 小野卓史, 石渡靖夫, 黒田敬之, 中村嘉男 : 嚥下時における舌下神経核周囲ニューロンの活動様式. 歯基礎誌 30(補冊) : 100, 1988.
- 55) Graber, T. M. : Extrinsic factors. *Am. J. Orthod.* 44 : 26-45, 1958.
- 56) Moyers, R. E. : Handbook of Orthodontics 3rd edition. Chicago, 1973, Year Book Medical Publishers Incorporated.
- 57) Lowe, A. A. and Sessle, B. J. : Tongue activity during respiration, jaw opening and swallowing in cat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 51 : 1009-1011, 1973.
- 58) Sauerland, E. K. and Mitchell, S. P. : Electromyographic activity of intrinsic and extrinsic muscle of the human tongue. *Texas Rep. Biol. Med.* 33 : 445-455, 1975.
- 59) Lowe, A. A., Gurza, S. C. and Sessle, B. J. : Regulation of genioglossus and masseter muscle activity in man. *Arch. Oral Biol.* 22 : 579-584, 1977.
- 60) Sauerland, E. K. and Harper, R. M. : The human tongue during sleep : Electromyographic activity of the genioglossus muscle. *Exp. Neurol.* 51 : 160-170, 1978.
- 61) Brouillette, R. T. and Thach, B. T. : Control of genioglossus muscle inspiratory activity. *J. Appl. Physiol. : Respirat. Environ. Exercise Physiol.* 49 : 801-808, 1980.
- 62) Megirian, D., Hinrichsen, C. F. L. and Sherrey, J. H. : Respiratory roles of genioglossus, sternohyoid, and sternohyoid muscles during sleep. *Exp. Neurol.* 90 : 118-128, 1985.
- 63) Guilleminault, C., Tilkian, A. and Demet, W. C. : The sleep apnea syndromes. *Annu. Rev. Med.* 27 : 465-484, 1976.
- 64) 末次 勸, 他 : 睡眠呼吸障害. 呼吸と循環 37 : 3-55, 1989.
- 65) Cajal, S. R. : Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. vol. I, Maloine, Paris, 1911.
- 66) Schwartz, M. L. and Goldman-Rakic, P. S. : Single cortical neurones have axon collaterals to ipsilateral and contralateral cortex in fetal and adult primates. *Nature* 299 : 154-155, 1982.
- 67) Bullier, J. and Kennedy, H. : Axonal bifurcation in the visual system. *TINS* 10 : 205-210, 1987.
- 68) Keizer, K. and Kuypers, H. G. J. M. : Distribution of corticospinal neurons with collaterals to the lower brain stem reticular formation in monkey (*Macaca fascicularis*). *Exp. Brain Res.* 74 : 311-318, 1989.
- 69) Basner, R. C., Simon, P. M., Schwartzstein, R. M., Weinberger, S. E. and Weiss, J. W. : Breathing route influences upper airway muscle activity in awake normal adults. *J. Appl. Physiol.* 66 : 1766-1771, 1989.
- 70) Bonora, M., Bartlett, D. Jr. and Knuth, S. L. : Changes in upper airway muscle activity related to head position in awake cats. *Respir. Physiol.* 60 : 181-192, 1985.