一般口演10

咬筋運動ニューロン樹状突起での情報処理機構の発育変化

Postnatal development of dendritic processing in the jaw-closing motoneurons

○長田翔子^{1,2)}, 中村史朗²⁾, 望月文子²⁾, 中山希世美²⁾, 山本松男¹⁾, 井上富雄²⁾Shoko Nagata^{1,2)}, Shiro Nakamura²⁾, Ayako Mochizuki²⁾Kiyomi Nakayama²⁾, Matsuo Yamamoto¹⁾, Tomio Inoue²⁾¹⁾ 昭和大学歯学部歯周病学講座²⁾ 昭和大学歯学部口腔生理学講座¹⁾ Departments of Periodontology, Showa University School of Dentistry²⁾ Departments of Oral Physiology, Showa University School of Dentistry

I. 目 的

三叉神経運動ニューロンは、大脳皮質からの下行性入力や感覚入力、パタンジェネレーターからの入力など極めて多様な情報をシナプス入力として受け取り¹⁾、最終的な顎運動指令を開口筋や閉口筋に伝える^{2,3)}。三叉神経運動ニューロンは、成熟動物では細胞体から1 mm以上広がる極めてよく発達した樹状突起をもち、そこでシナプス入力を受ける。そのため、樹状突起遠位部にシナプス後電位が生じた場合、シナプス後電位を受動的に細胞体に伝えるだけでは細胞体まで伝導する間に振幅が著しく減弱する。しかし近年、大脳皮質や海馬のニューロンを用いた実験から、樹状突起に存在する電位依存性イオンチャンネルがシナプス後電位を増幅し、樹状突起自身が複雑な情報処理を行う可能性が考えられるようになってきた⁴⁾。したがって、三叉神経運動ニューロンにおいても、遠位樹状突起で発生したシナプス入力は減衰せず樹状突起に存在する電位依存性チャンネルによって増幅される可能性が考えられるが、樹状突起でどのようなシナプス入力情報処理が行われているのか、樹状突起にどのような種類の電位依存性チャンネルが分布するのか、またその分布密度や分布様式はどのようなパターンを示すのか、などについては未だ不明である。

そこで本研究では、生後2～13日齢のラット脳幹スライス標本上の咬筋運動ニューロンの樹状突起の様々な部位をレーザー光誘発性化学刺激法で刺激し、誘発される膜電位応答の応答パターン、応答に関わる電位依存性イオンチャンネルの種類およびそれらの発育変化について

電気生理学的に解析した。

II. 方 法

1. 咬筋運動ニューロンの同定

本研究は昭和大学動物実験実施指針に準拠して行った。実験には生後2～13日齢のWistar系ラットを用いた。イソフルラン麻酔下で蛍光トレーサーであるdextran tetramethylrhodamine lysine (DRL) を咬筋に注入し、咬筋を支配する運動ニューロンを逆行性軸索輸送により標識した。

2. 試料の作製

DRLを注入してから1～3日後、イソフルラン深麻酔下で脳幹を摘出し、ビブラトーム (VT 1000S, Leica) を用いて三叉神経運動核を含む前頭断脳幹スライス標本 (厚さ400 μm) を作製した。スライス標本を34°Cで1時間、室温で30分以上インキュベートした後記録用チャンバーに静置し、人工脳脊髄液を灌流させた。

3. ホールセルパッチクランプ記録

蛍光顕微鏡を用いて同定した咬筋運動ニューロンからホールセルパッチクランプ記録を行った。あらかじめスライス標本に灌流投与した4-methoxy-7-nitroindolinyl-caged L-glutamate (Tocris Cookson, 300 μM) に対してレーザー光を照射し局所的にグルタミン酸を解離させ、遊離グルタミン酸刺激により誘発される電流応答を解析した。レーザー光は、Micropoint レーザーシステム

(Photonic Instruments Kawasaki)を用いて、記録ニューロンを囲うように凹型に設定した39個の格子の中心点に照射した。

Ⅲ. 結果及び考察

生後2～5日齢の咬筋運動ニューロンでは、記録ニューロン細胞体周囲の樹状突起相当部へレーザー光を照射すると、潜時の極めて短い脱分極または活動電位が複数の箇所で誘発された($n = 16$)。電位依存性 Na^+ チャネル拮抗薬のテトロドトキシン ($1 \mu\text{M}$) 投与下では活動電位が抑制されたが、脱分極の大きさはほとんど減弱しなかった。したがって、これらの脱分極応答は、記録ニューロンの樹状突起をレーザー光により解離したグルタミン酸が直接刺激することで誘発された応答であることが示唆された。生後9～13日齢の幼若ラットでも、すべての記録ニューロンで、細胞体周囲のレーザー光化学刺激によって潜時の短い脱分極が誘発されたが($n = 22$)、脱分極の持続時間と振幅が生後2～5日齢よりも著しく減少した。また、生後2～5日齢、9～13日齢のグループともに、遠位部の刺激の方が近位部の刺激よりも大きい脱分極を示すニューロンが高い割合で認められた(生後2～5日齢: 16ニューロン中9ニューロン、生後9～13日齢: 22ニューロン中14ニューロン)。

以上の結果から、幼若期の咬筋運動ニューロンの樹状突起にはシナプス入力を増幅する機構が存在することが示唆され、シナプス入力情報の情報処理に寄与している可能性が考えられた。さらに、増幅機構および入力様式

が生後発育とともに変化する可能性も考えられた。

Ⅳ. 謝 辞

本研究は科学研究費助成金(若手研究B: No. 24791984, 基盤研究C: No. 70184760), および私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(平成22～26年)の補助を得て行った。

Ⅴ. 文 献

- 1) Yoshida A, Tsuru K, Mitsuhiro Y, et al. Morphology of masticatory motoneurons stained intracellularly with horseradish peroxidase. *Brain Res* 1987; 416: 393-401.
- 2) Inoue T, Masuda Y, Nagashima T, Yoshikawa K, Morimoto T. Properties of rhythmically active reticular neurons around the trigeminal motor nucleus during fictive mastication in the rat. *Neurosci Res* 1992, 14: 275-294.
- 3) Nakamura S, Inoue T, Nakajima K, et al. Synaptic transmission from the supratrigeminal region to jaw-closing and jaw-opening motoneurons in developing rats. *J Neurophysiol* 2008; 100: 1885-1896.
- 4) Stuart GJ, Sakmann B. Active propagation of somatic action potentials into neocortical pyramidal cell dendrites. *Nature* 1994, 367: 69-72.