一般口演 5

閉口筋および開口筋運動ニューロンへの興奮性シナプス伝達の生後発達様式の比較

Comparison of postnatal development in excitatory synaptic inputs to the jaw-closing and jaw-opening motoneurons

○中村史朗, 中山希世美, 望月文子, 壇辻昌典, 井上富雄

Shiro Nakamura, Kiyomi Nakayama, Ayako Mochizuki, Masanori Dantsuji, Tomio Inoue

昭和大学歯学部口腔生理学講座

Department of Oral Physiology, Showa University School of Dentistry

I. 目 的

哺乳動物の摂食行動の特徴の一つは、母乳の吸啜運動から固形物の咀嚼運動へと生後大きく変化することである。この摂食行動の転換期には、末梢の感覚受容器、咀嚼筋、頭蓋顔面骨等の顎口腔諸器官が発達するとともに、顎運動を制御する中枢神経系も大きく変化すると考えられる。しかし、摂食行動に関わる神経機構が生後どのように変化するのかについては未だ不明である。

吸啜や咀嚼の際にみられる顎運動の基本運動パターンは、脳幹に存在するパターンジェネレーターで形成され、プレモーターニューロンを介して閉口筋または開口筋を支配する運動ニューロンへと伝達される。その後、最終的な運動指令がこれらの運動ニューロンから閉口筋および開口筋へと伝えられ、結果として顎運動が遂行される¹⁾。このなかで、プレモーターニューロン、三叉神経運動ニューロンおよび両ニューロン間のシナプス伝達の性質が、閉口筋および開口筋への出力を決定する重要な要素と考えられており、生後発達とともにこれらの性質が変化する可能性が示唆されてきた。我々はこれまで、三叉神経運動ニューロンの活動電位特性および発火特性²⁾、プレモーターニューロンから三叉神経運動ニューロンへのGABA性・グリシン性シナプス伝達³⁾が生後発育に伴い大きく変化することを報告してきた。しかし、閉口筋および開口筋運動ニューロンへの興奮性グルタミン酸性シナプス伝達機序が生後どのように変化するか、このシナプス伝達機序の生後変化様式が閉口

筋および開口筋運動ニューロン間で異なるのか等、不明な点が未だ多く残されている。

そこで本研究では、生後2～17日齢の幼若期ラットを用いて、閉口筋および開口筋運動ニューロンに誘発されるシナプス後電流をシナプス伝達様式の指標として記録し、両運動ニューロンへのグルタミン酸性シナプス伝達機序の生後発達様式を比較・検討した。

II. 方 法

1. 咬筋および顎二腹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2～17日齢のWistar系ラットを用いた。実験日の2～3日前に、逆行性蛍光トレーサーであるdextran tetramethylrhodamine lysine (DRL)をイソフルラン麻酔下で咬筋または顎二腹筋に注入し、閉口筋または開口筋を支配する運動ニューロンを標識した。

2. 試料の作成

DRLを注入してから2～3日後、イソフルラン深麻酔下で脳幹を摘出し、振動刃ミクローム(7000 smz, Campden Instruments)を用いて三叉神経運動核を含む厚さ400 μmの前頭断脳幹スライス標本作製した。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、人工脳脊髄液を灌流させた記録用チャンバーに静置した。

3. ホールセルパッチクランプ記録

咬筋または顎二腹筋運動ニューロンを蛍光顕微鏡下で

同定した後、近赤外微分干渉観察下でパッチクランプ記録を行い、興奮性微小シナプス後電流 (mEPSC) および電気刺激誘発性シナプス後電流 (eEPSC) を記録した。

Ⅲ. 結果及び考察

1. 咬筋運動ニューロンに誘発されるシナプス後電流

生後 2 ～ 5, 9 ～ 12, 14 ～ 17 日齢のいずれの日齢グループにおいても、グルタミン酸性 mEPSC が咬筋運動ニューロンで観察された。グルタミン酸受容体のうち、non-NMDA 型受容体を介した mEPSC の振幅と発生頻度は、生後発育に伴い増加する傾向にあったが各日齢群で有意な差はみられなかった。一方、NMDA 型受容体を介した mEPSC の振幅と発生頻度は、14 ～ 17 日齢よりも 2 ～ 5 日齢のほうが有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。また、プレモーターニューロンの存在部位である三叉神経上核を電気刺激して eEPSC を誘発させたところ、non-NMDA 成分に対する NMDA 成分の割合 (NMDA/non-NMDA 割合) が 2 ～ 5 日齢で最も高く、日齢が進むとともにその割合が有意に減少した。したがって、生後初期の咬筋運動ニューロンには豊富な NMDA 型受容体性興奮性シナプス入力が見られることが示唆された。

2. 顎二腹筋運動ニューロンに誘発されるシナプス後電流

咬筋運動ニューロンと同様に、生後 2 ～ 5, 9 ～ 12, 14 ～ 17 日齢のいずれのグループにおいても、グルタミン酸性 mEPSC が顎二腹筋運動ニューロンで観察された。non-NMDA 型受容体を介した mEPSC の振幅と発生頻度は咬筋運動ニューロンと同様に各日齢群で有意な差はみられなかった。しかし、咬筋運動ニューロンとは対照的に、NMDA 型受容体を介した mEPSC の振幅と発生頻度は、生後発達期を通して有意な変化が認めら

れなかった。三叉神経上核刺激で誘発された eEPSC の NMDA/non-NMDA 割合もまた生後発達期を通して有意な差は認められなかった。

以上の結果から、ラット咬筋運動ニューロンへの NMDA 型グルタミン酸性シナプス伝達が生後初期に豊富であること、またグルタミン酸性シナプス伝達の発育様式が運動ニューロンの種類で異なることが示された。この相異は、それぞれの運動ニューロンが支配する顎筋の発達期における機能の違いに関連すると考えられる。

Ⅳ. 謝 辞

本研究は JSPS 科研費 (JP16K11488, 17H04373)、および文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 (平成 26 ～ 30 年) の助成を受けて行なわれた。

Ⅴ. 文 献

- 1) Inoue T, Masuda Y, Nagashima T, et al. Properties of rhythmically active reticular neurons around the trigeminal motor nucleus during fictive mastication in the rat. *Neurosci Res* 1992; 14: 275-294.
- 2) Inoue T, Yamaoka A, Hironaka S, et al. Postnatal changes in the repetitive firing properties of rat jaw-closing motoneurons. *J Jpn Soc Stomatognath Funct.* 2013; 19: 137-144.
- 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.