

# 三叉神経中脳路核ニューロンと歯ぎしりの関係

村井 恵良 [北海道大学大学院歯学研究科／助手]

## 背景・目的

歯ぎしりは夜間発生率の高い生活習慣病で咀嚼運動の異常によって生じる。しかしながら、その発生機序については未だ不明な点が多い。咀嚼運動を司る重要な部位が三叉神経中脳路核(MesV)ニューロンであり、MesVニューロンの機能を調べることは歯ぎしりなどの咀嚼運動異常が発生するメカニズムを知る上で重要である。MesVニューロンの細胞体には $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)作動性シナプス入力が存在し、GABAチャネルを介して生じる細胞内Cl<sup>-</sup>濃度([Cl]<sub>i</sub>)の変動と神経活動が密接な関係をもつかどうかを検討した。

## 内容・方法

### 機械的細胞単離法

Wistar系雄ラットの脳前額断スライス標本(300 μm)を作製し、機械的細胞単離装置を用いて細胞体に微少神経終末が付着した単一シナプス・ブートン標本を作製した。

### 溶液交換

溶液交換はY-tube法を用いて行った。

### 溶液組成

記録用細胞外液(Std. sol.):(mM):NaCl 150, KCl 5, MgCl<sub>2</sub> 1, CaCl<sub>2</sub> 2, HEPES 10, glucose 10 (pH=7.4)

細胞内記録電極液(mM):CsCl 150, HEPES 10 (pH=7.2)

### 電気生理学的記録

電極抵抗は4~6M Ωのものを使用した。電圧固定下に穿孔パッチクランプ法によって記録を行い、電流はパッチクランプ用アンプを用いて増幅した。電流記録はオンラインでコンピュータに取り込んだ後に解析した(pCLAMP8)。全ての実験は室温(21-25 °C)で行った。

### 細胞内Cl<sup>-</sup>濃度の測定

グラミシン穿孔パッチ記録法を用いてGABA電流の逆転電位( $E_{GABA}$ )を測定し、この値から活性細胞内Cl<sup>-</sup>濃度( $aCl_i$ )を算出した。

## 結果・成果

三叉神経中脳路核(MesV)ニューロンのシナプス・ブートン標本を作製し、グラミシン穿孔パッチクランプ法を適用して細胞内Cl<sup>-</sup>濃度の日内変動が存在するかどうかを検討した。

### GABA電流の逆転電位( $E_{GABA}$ )と細胞内Cl<sup>-</sup>( $aCl_i$ )の関係

24時間を4つの時間帯に分け、MesVニューロンのGABA電流の逆転電位( $E_{GABA}$ )と細胞内Cl<sup>-</sup>( $aCl_i$ )を

測定した。測定時間帯は03:00~09:00、09:00~15:00、15:00~21:00と21:00~03:00の4時間帯に区分して実験を行った。03:00~09:00の時間帯の $aCl_i$ は $19.7 \pm 2.8$ mM ( $n=5$ )であった。09:00~15:00の時間帯では、 $aCl_i$ は $40.3 \pm 13.3$ mM ( $n=5$ )であった。15:00~21:00の時間帯の $aCl_i$ は $19.8 \pm 3.9$ mM ( $n=5$ )であり、21:00~03:00の時間帯の $aCl_i$ は $17.5 \pm 2.4$ mM ( $n=5$ )であった。09:00~15:00の時間帯の値が他の3つの時間帯の値に比べて有意に高い値を示した( $P<0.05$ )。以上の結果からMesVニューロンの $aCl_i$ は日内変動をもつことが確認でき、この結果はラットSCNニューロンからの記録と一致した。

ヒトにおいて、歯ぎしりの発生は夜間に生じることが多い。ラットは夜行性動物であり、ヒトの夜間に相当する昼間にMesVニューロンの細胞内Cl<sup>-</sup>濃度([Cl]<sub>i</sub>)が上昇することは、歯ぎしりとMesVニューロンの[Cl]<sub>i</sub>変動が密接に関与する可能性を示唆するといえる。MesVニューロンは後根神経節(DRG)ニューロンと同様に[Cl]<sub>i</sub>が高いためGABAによって膜電位が脱分極するという非常にユニークな特徴を持つ細胞である。夜間における[Cl]<sub>i</sub>ではGABAによってMesVニューロンは興奮する。しかしながら、大脳皮質からの抑制が強いためMesVニューロンで生じた活動電位は中枢枝側へは伝播しないのではなかろうか。一方、昼間での[Cl]<sub>i</sub>の上昇はMesVニューロンの膜電位を夜間よりも脱分極側に保持するために脱感作が生じ、大脳皮質からの抑制が少ないにもかかわらず、平常時において中枢側からの興奮は遮断されるのではなかろうか。このMesVニューロンの[Cl]<sub>i</sub>の日内変動に異常をきたすと、中枢からのシナプス入力によって細胞体の膜興奮性に変化を生じ、特に昼間において興奮性が促進されて活動電位を発生し、この活動電位が中枢枝側に伝播することで咀嚼運動リズムが崩壊して歯ぎしりが発生するのかもしれない。MesVニューロンにおける[Cl]<sub>i</sub>の日内変動リズムの破綻が歯ぎしり発生の引き金となる可能性があるのかもしれない。

## 今後の展望

本研究は、咬合調節に関与する三叉神経中脳路核(MesV)ニューロンの[Cl]<sub>i</sub>が日内変動することを示した。つまり、 $\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)作動性シナプス入力によって生じる[Cl]<sub>i</sub>には日内変動があり、特に日中で[Cl]<sub>i</sub>の上昇が生じるのである。この[Cl]<sub>i</sub>の日内変動のリズムが崩れると咀嚼運動の異常である歯ぎしりを発生するのではなかろうか。今後は、神経回路を保持したスライス標本及びin vivoでの検討、及び病態ラットを用いた実験を行い詳細な歯ぎしり発生機序におけるMesVニューロンの役割を調べていきたいと思う。