



# 三叉運動神經核末端聯絡神經元研究

採訪整理／王郁涵（生命科學系四年級）

資料提供（含圖片）／閔明源（生命科學系助理教授）

一個動作的完成要靠腦的高層次動作中心（High Motor Center）下達命令經由中層次動作中心（Middle Motor Center）協調出一套動作的程序，再給低層次動作中心（Lower Motor Center）做最後執行的步驟。好比腦下達『要走路』命令後，一系列的「抬腿與轉移重心」，就是靠著中層次動作中心下傳的運動指令直接或間接興奮位於脊髓左右各一的 pattern generator center（PGC）；此一 PGC，不斷交互穿插著節律性的放電刺激運動神經元，使右腳屈肌興奮、抑制伸肌而彎起右腳，左腳屈肌受抑制、伸肌興奮時打直左腳，下一時刻彎起左腳打直右腳；構成一個完整的節律運動控制迴路。

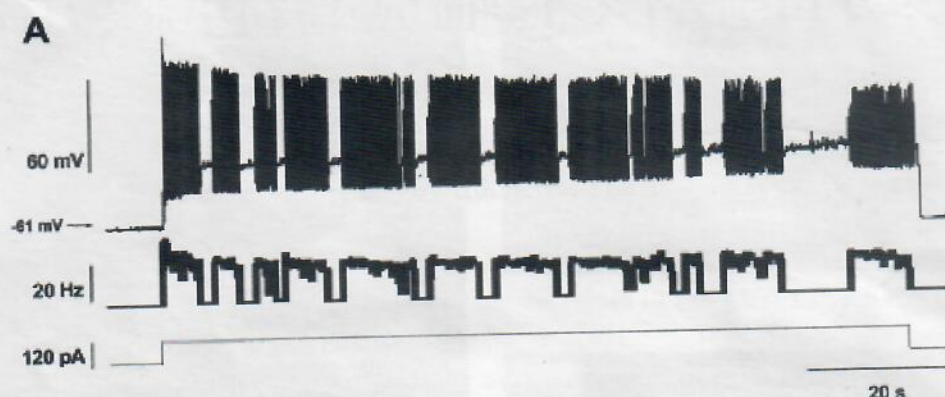
同樣的，除非咬到嘴邊的肉，讓你知道你正大力地咬著嘴裡的食物，否則我們甚少察覺到我們沒花多大的心思就讓咀嚼的動作自然地進行下去。研究發現，只要興奮一個管理咀嚼的迴路運動皮質區，下傳的運動指令再興奮位於腦幹的咀嚼 PGC，再刺激三叉運動神經核（Trigeminal Motor Nucleus），進一步命令下顎肌肉做出縮放的動作，就可以達到 Rhythmical Jaw Movements（RJM）的效果。三叉運動神經核控制著咀嚼的肌肉，它分成背側方的次神經核，以及腹側中間位置的次神經核，前者控制著使下顎關閉的肌肉，後者則控制使下顎打開的肌肉，而有許多聯絡神經元也連到此運動神經核的側面和背面，引發運動神經出現興奮或抑制的表現。

閔明源教授過去五年專注於兩個研究主題：「三叉神經運動系統之局部迴路分析」與「海馬突觸可塑性之機制研究」。已有兩篇 SCI 論文發表於 Journal of

Biomedical Science 與 European Journal of Neuroscience。主要探討 GABAB receptor 對控制與咀嚼有關的肌肉如 masseters、medial pterygoid、temporalis 等三叉運動神經，其興奮性神經突觸傳入的調控。最近，研究室利用 Visualized whole-cell patch recording 技術，將五到八天的大鼠做腦幹切片，利用近紅外光照之顯微鏡，找到在三叉運動神經元和顏面運動神經元中間的聯絡神經元，直接在此長工作距的水鏡下對仍具有活性的神經元利用 Patch pipettes 對聯絡神經元作 whole-cell patch recording，並打入追蹤劑 biocytin，用 HRP（山葵的萃取物）作為標記，完成對該細胞的生理、形態分析。

利用此技術，在顯微鏡下可清楚地看見呈橢圓形的三叉運動神經核，將倍數放大到四十倍，其末端浮現許多小小的神經細胞本體，這些神經細胞的軸突都有投射到三叉神經運動核及 parvocellular reticular formation（PCRt）神經核的細胞上，也會接收由口腔肌肉傳入的反射，藉此調控口腔的運動神經。之前的研究指出：產生咀嚼動作指令的聯絡神經位於三叉神經運動核和顏面神經運動核之間，和閔博士紀錄到的神經位於同一位置，證明這些神經可能就是產生節律性咀嚼運動的主要聯絡神經（也就是 RJM 的位置）。過去兩、三年，閔老師轉向研究聯絡神經元：聯絡神經元究竟如何下達 RJM 的命令？其細胞膜特性如何？長得什麼樣子？功用又是如何？

施以去極化的電流刺激，紀錄神經的生理特徵發現，所紀錄的 127 個聯絡神經元依據其放射動作電位特徵分為 Type I（tonic firing）、Type II（phasic



Type II 聯絡神經節律性放電情形。

firing)、Type-III (Spike adaptive)。令人興奮的是，當給予一段持續穩定的去極化電流，Type II 聯絡神經元卻出現了節律性的放電，與 Type I、Type III 有明顯的不同。是否意謂 Type II 聯絡神經元在產生節律性訊息至三叉神經運動神經元的地位上扮演關鍵性的角色？研究發現某些 Type II 聯絡神經元在電刺激結束之後，出現明顯且短暫的過極化 (hyperpolarization) 現象，他進一步用 TTX 灌流，以阻斷動作電位的產生，再連續給予不同強度的正、負電流，發現當給予負電流後，在回復靜止膜電位的過程中會繼續引發後續的去極化 (depolarization) 高起；但放在沒有鈣離子的 ACSF medium 中，這些現象都會消失。回到不以 TTX 灌流的情形下，將放在沒有鈣離子的 ACSF 中與正常 ACSF 的 Type II 聯絡神經元加以比較，發現原本節律

性的放電現象消失，變成了持續性的放電。

與剔除鈣離子的 Type II 細胞做比對，再佐以 Immunohistochemical 染色標示出鈣離子通道的存在，證明了 Type II 確實有鈣離子通道做為調控節律性放電的重要機制。當一經刺激，電壓上升接近閾質時，鈣離子通道就會打開，此時大量鈣離子湧入細胞造成一次 firing，我們注意到只要稍微增加一點電壓就會引發鈣離子通道的開啓，於是命名此通道為“low threshold voltage-dependent calcium channel (LTVDCC)”。隨後鈣離子作為次級訊息物質誘發鉀離子通道 (Calcium-dependent K<sup>+</sup> channels) 打開，鉀離子湧出電位下降產生過極化，firing 終止。閔博士進一步推測，過極化又會誘發鈉離子通道 (Hyperpolarization activated cation channels) 的打開，鈉離子湧入造成鈣離子通道第二次自發性的去極化，又一次 firing 出現。如此循環交互開啓，便產生了節律性放電的現象。

再配合共同主持人楊琇雯博士的 RT-PCR 技術，利用施於 Patch 電極後方約 100mm 水柱的壓力，抽取單一神經細胞的 mRNA，再將收集到的細胞質內含物置入反轉錄的緩衝溶液中，經過一連串培養後將混合液加入微量欲分析的 primers 進行 PCR cycle，例如加入合成抑制性神經傳導物質合成酶 glutamic acid decarboxylase (GAD) primer，如果細胞帶有 GAD 就代表此神經元就是抑制性神經元。只要丟入合適的 primer 進去，若能釣取到欲證明的物質存在，將可有力地驗證所推



被紀錄到的聯絡神經。

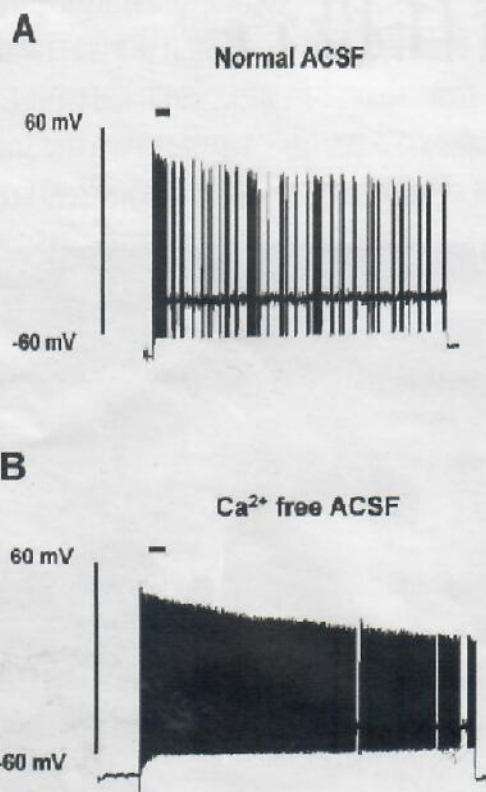


Figure showing Type II neurons in the presence of calcium ions (A) and absence of calcium ions (B) under physiological recording conditions.

測的細胞物質特性。目前利用此技術已證明 Type I 神經細胞正是帶有 GAD 的抑制性神經元。另一方面 Immunomorphological 的研究也發現，在這些聯絡神經元分佈的地區有 glutamate、GAD 以及合成 GABA、glycine 的酵素；顯示聯絡神經元作為調控功能的機制更加明顯。

閔博士觀察利用 biocytin 所染的三種聯絡神經元其平均神經體表面積並沒有明顯的差異，樹突的長度和數量也都大同小異。但 Type II 較 Type I 向腹側深入，並且有的 Type II 軸突長長地往上延伸至中腦以及頸部的脊髓，有的更是往下延伸到胸腔的脊髓，這也許意味著咀嚼的動作會受到呼吸或是頸部與前肢攝食行為的協調，而改變其節律的咀嚼動作。

這些發現逐漸建構出顯微鏡下的神經細胞與活體動物行為之間聯繫的線索，將是閔博士在神經生理浩瀚而神秘的領域所要積極探索的方向。 (本欄本期策劃：生命科學系李心予助理教授)

## 參考文獻

1. Yang, H.-W., Lin, Y.-W., Yen, C.-D and Min, M.-Y. (2002) Change in bi-directional plasticity at CA1 synapses in hippocampal slices taken from 6-hydroxy-dopamine treated rats: the role of endogenous norepineprine. *Eur. J. Neurosci.*, 16: 1117-1128.
2. Min, M.-Y., Appenteng, K.A., Yang, H.-W. (2002) Role of GABAB receptor in the regulation of excitatory synaptic transmission in trigeminal motoneurons. *J. Neurosci.*, 23: 4173-4181.
3. Min, M.-Y., Hsu, P.-C. and Yang, H.-W. (2003) The physiological and Morphological characteristics of premotoneurons caudal to the trigeminal motor nucleus in rats. *Eur. J. Neurosci.*, 18:2981-2998.
4. Lin, Y.-W., Min, M.-Y., Chiu, T.-H., and Yang, H.-W. (2003) Enhancement of associative long-term potentiation by activation of b-adrenergic receptors at CA1 synapses in rat hippocampal slices. *J. Neurosci.*, 23:4173-4181.

## 閔明源教授 小檔案

1965 年生，台灣大學動物系漁生組畢業，英國里茲大學博士。1998 年 10 月返國，在陽明大學解剖研究所，鑽研神經解剖十多年，今（93）年回到母系任教。

大學暑假曾在動物系生理實驗室待過，對於生理學的興趣也在那段時間悄悄醞釀。為報考研究所，細讀組織學、動物解剖學、生物物理學等，而發現自己未來在生理學領域的方向。專長動物生理學、神經生物學。發過數篇 SCI 論文，其中有半數期刊在神經科學領域居於領導地位。

