

令和元年6月14日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10363

研究課題名(和文)皮質応答の光学的測定と視床刺激の組み合わせによる迷走神経内臓感覚上行路の検討

研究課題名(英文) identification of vagal ascending pathways by means of optical recording of cortical activity in response to thalamic stimulation

研究代表者

伊藤 真一 (ito, shin-ichi)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・准教授

研究者番号：10145295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：迷走神経刺激法の作用機序を解明する上で、内臓感覚情報をどの脳部位がどこから受けどこに送るのかを解明する必要がある。体性感覚皮質口腔領域近傍の迷走神経投射領域(内臓感覚野)への上行路を明らかにするため、視床中継核の生理学的同定を試みた。迷走神経刺激に短潜時で応答する視床部位が腹側基底核の腹内側部に見いだされた。ここは解剖学的にも体性感覚野口腔領域に投射する部位であり、この部位が中継核として働くと考えられる。この核の刺激により内臓感覚野に限局した応答が出現することを証明すべく、当該皮質の応答を光学的方法で測定するシステムを開発した。迷走神経刺激に対する応答を記録できるところまできている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

迷走神経刺激法の適用をさらに広げよりよい療法にしてゆくためには、作用機序の解明が必要であり、関連脳部位の回路網レベルでの解明が必要である。近年、三叉神経刺激でも類似効果のあることがわかってきており、2つの感覚系の関連が注目される。本研究では体性感覚系における迷走神経上行路を視床のレベルで明らかにしており、三叉神経系に迷走神経入力のあることを示した。この結果は脳幹レベルの伝導路に問題を帰着させるものであり、新たな展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：To understand the mechanisms of the 'vagus nerve stimulation' therapy, it is necessary to know the central vagal pathways. Previously we showed that there is a vagal region within the somatosensory cortex, raising a question how the vagal input arrives there. We tried to identify the thalamic relay nucleus. Responses to vagal stimulation were searched, and a short latency-response was found in a restricted region in the thalamus. Together with the previous anatomical observation that this region projects to the cortex around the vagal region, it was suggested that this region serves as the vagal relay nucleus. In addition, we tried to demonstrate that stimulation of this thalamic region evokes responses exclusively in the cortical vagal region. To do this, we developed an optical recording system and successfully obtained two-dimensional map of the cortical vagal response. Thalamic stimulation-induced cortical responses are under investigation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：迷走神経刺激 神経活動光学的記録法 体性感覚皮質 視床中継核 電場電位

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究は、難治てんかんや難治うつ病の治療法として注目されている迷走神経刺激法の作用機序解明を遠くから「迷走神経刺激が脳のどこに影響をおよぼすのか」を明らかにしてゆこうとする研究の一環である。刺激電極と小型電気刺激装置を体内に埋め込み、迷走神経を慢性的に刺激する本法は、その適応の可能性を炎症性疾患、免疫疾患など神経疾患以外にまで急速に広げつつあるが、作用機序は分かっていない。関連脳部位の回路網レベルでの解明が必要である。現在までに、迷走神経刺激により興奮・抑制を受ける多くの脳部位がヒトの機能画像法で明らかになっているが、脳幹より上位の部位で、どこから内臓感覚情報を受けどこに送るのかわかっているものはごく一部に限られる。

(2) われわれは迷走神経の脳内上行路を調べる過程で体性感覚野に迷走神経の投射があることを見いだした。島皮質への投射は既知であるが体性感覚野への内臓感覚入力は全く知られていない。脳幹と皮質をつなぐ未知の経路があるはずである。皮質応答の解析から視床経由であることが強く示唆された。視床中継核がどこにあるかは、解剖学的知見から推測できる。

### 2. 研究の目的

体性感覚野の迷走神経投射野に投射する視床部位を生理学的に同定する。対比のため島皮質に投射する視床部位も生理学的に同定する。以下の2点から攻める。(1)と(2)が合致するところ、それが視床中継核である。

(1) 迷走神経刺激に短潜時で応答する視床部位として。

(2) 迷走神経投射皮質に応答を生じさせる視床部位として。

① 迷走神経刺激に応答する皮質領域を探す。

② 上記皮質領域に反応を生じさせる視床刺激部位を探す。

各刺激に対して広範な皮質領域の反応を調べる必要がある。これをシステムティックかつ簡便に行う方策として電位感受性色素による光学的記録法を採用する。

### 3. 研究の方法

ラットを麻酔し大脳皮質を露出して行う急性実験である。

(1) 光学的記録

① 電位感受性色素を用い、皮質神経活動を光学信号に変換して多チャンネル光センサーで記録する。

② 迷走神経誘発反応を記録し、内臓感覚野の部位と拡がり定める。

③ 視床に電極を刺入し、移動させながら各点で刺激し、皮質反応を調べる。

④ 内臓感覚野に反応を発生させる視床刺激部位を探す。

⑤ 脳を灌流固定して切片をつくり、視床刺激部位を検索する。

⑥ 刺激部位を組織学的に同定し、また、周辺諸核の感覚再現地図との位置関係をあきらかにする。

(2) 電気生理学的記録

① 視床に電極を刺入し、移動させながら各点で迷走神経刺激に対する反応を調べる。

② 短潜時の反応のある場所を探す。

③ 脳を灌流固定して切片をつくり、記録部位を検索する。

④ 刺激部位を組織学的に同定し、また、周辺諸核の感覚再現地図との位置関係をあきらかにする。以上をもって視床のどの核がどのような内臓入力をどのように内臓皮質に送るのかを明らかにする。

### 4. 研究成果

(1) 光学的記録装置の改良：

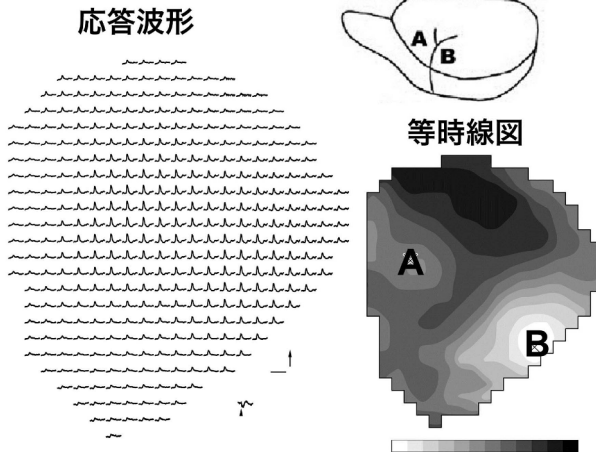
これまで体性感覚皮質を対象としてきた光学的記録法を当該皮質に適用し、さらに視床刺激と組み合わせるに当たって、装置にさまざまな改良を加える必要があった。第一に、われわれの光学的記録システムは固定式であるため、脳の当該部位を直視下に置くためには記録される脳の側を動かす必要がある。従来の使用例では、水平に置いた脳を前後左右上下に移動させて所定の位置に保持したが、本研究の対象皮質領域が側頭部に位置するため、ラットを実験台全体ごと回転して保持することになる。この点で、従来の脳定位固定装置（実験台）はどれも使えないことがわかった。記録装置一励起光照射装置が広く覆いかぶさっており、実験台を水平に置く限りは問題ないが、回転させるとぶつかるのである。第二に、本研究では視床刺激を併用するため、実験台は視床電極用のマニピュレータを搭載する。ラットとマニピュレータを載せた実験台全体を空中に保持して自在に移動させられる、そういうものが必要である。これらの要求を満たす新たな脳定位固定装置を設計、作成した。

(2) 皮質反応の光学的記録：

電気生理学の知見から皮質の2箇所でも反応が発生することがわかっており、これを光学的方法で確認することから始めた。既知の皮質機能地図との対応を記録中に知る手がかりとして体性感覚野舌領域を取り上げ、舌刺激に対する反応のある部位と迷走神経刺激に対する反応のある部位と

を検索した。その結果は、舌刺激、迷走神経刺激に対する応答はともに体性感覚野・口腔領域の広範囲で出現してしまい、応答部位を特定することは不可能であった。これは、電気刺激に対する筋収縮で微小な振動が発生し、その振動によるアーチファクトが真の応答に重畳しているものと考えられた。その対策として非動化（人工呼吸が必要）を導入し、筋収縮を除去した上での記録を始めた。

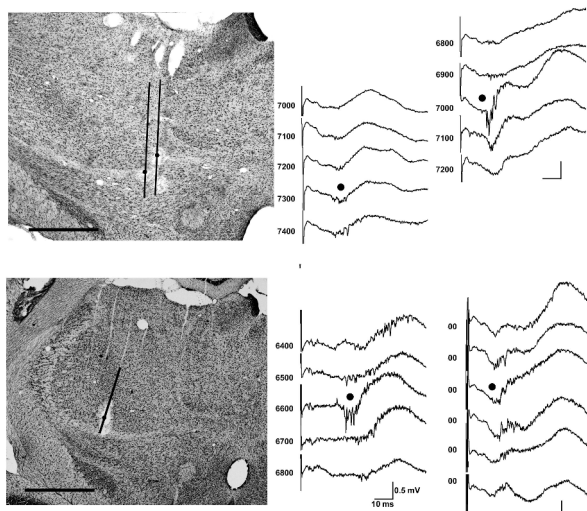
次に現れた問題は、事前には重視していなかった光学的記録特有の性質であった。末梢刺激に対する皮質応答は電気生理学では特定の部位に局限して現れるが、電位感受性色素を用いての光学的記録では一点に発した応答が全皮質に拡張するのである。迷走神経刺激に対する応答でも同様のことが起こり、単純に応答の有無に基づいて内臓感覚皮質の部位を特定することは不可能であった。対応策として、応答の等時線を描き、その中心点（初発点）として二つの内臓感覚皮質を浮かび上がらせる方法を開発した。



図はそのような記録例で、左の応答波形では応答が広範囲に広がってどこが中心なのか一瞥しただけではとてもわからないが、右下の等時線図においては明瞭に2カ所の応答初発部位（A、B）が識別できる。この2点は右上図・ラット大脳皮質の側面図のA、Bに対応するもので、電気生理学的に同定されている2領域（A：体性感覚野、B：島）に合致する。なお、舌刺激の応答はA、Bの中間に現れる。この皮質興奮の伝播自体についての基本的知見を得るため、複数の興奮が同時期に発生した場合の興奮波の振る舞いを体性感覚野において（手、足の刺激に対する応答）やや詳しく調べた。

等時線図による方法は手間がかかるうえ常に良い結果が得られるわけではない。皮質興奮の水平方向の伝播を選択的に抑制できれば初発部位に応答を局限できるはずで、その検討を行っている。

### (3) 視床の応答：



視床においては広範な部位で様々な迷走神経刺激応答があった。（このことは皮質応答が体性感覚野・口腔領域の広範囲で出現してしまったこととおそらく対応している。皮質応答の局在性が非動化によって改善されたことから、視床応答の検索でも非動化の導入が有効である

と考えられる。）  
広範囲での応答ではあるが、短潜時に絞って見ると2領域に収束しているように見える。

上図は記録例で、左側に記録部位、右側に応答を示している。上は腹側基底核の吻側部、下は尾側部である。組織写真上の縦の実線（2本づつ）は電極痕で、そこで記録された応答が右に示されている。応答は上下方向の0.1~0.2 mmに局限して見られる。また、これより内側でも外側でも得られない。

応答の得られた部位をまとめてみると（右図）、後内側腹側核の内側端（黒丸）と後外側腹側核の最内側（星印）とに集中している。この2領域は解剖学的にはそれぞれ第一次体性感覚野と第2次体性感覚野の口腔領域に投射しており、まさに2つの内臓感覚皮質に対応する視床部位である。すなわちこの2カ所が、目指す視床中継核で



あると考えられる。

現在、その応答の生理学的特性を検討すると同時に、近隣の体性感覚中継核の体部位再現との位置関係を詳しく調べている。これは、当該部位を視床の機能地図上に位置づけるとともに、可及的少ない回数の電極刺入で速やかに当該部位をヒットする上で重要な手がかりとなる。

#### (4) 視床刺激：

脳定位固定装置の座標に従って電極を刺入し、腹側基底核の底部近傍で微小刺激を行ってその皮質応答を光学的記録で検索している。応答が体性感覚野の口腔領域に現れるのは、刺激電極が後内側腹側核の口腔領域にあることを示唆する。この対応関係を手がかりに、電極を内臓感覚中継核に導こうとしているが、これについてはまだ見るべき成果を得ていない。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① [Hama N](#), [Kawai M](#), [Ito S](#), Hirota A. Optical study of interactions among propagation waves of neural excitation in the rat somatosensory cortex evoked by forelimb and hindlimb stimuli. *Journal of Neurophysiology*, 119: 1934-1946, 2018. DOI: 10.1152/jn.00904.2017

[学会発表] (計 1 件)

- ① [Ito S](#). Thalamic sites projecting to the vagal-somatic convergent region in the insular and sensorimotor cortex in rats. 日本神経科学学会第 41 回大会、神戸、2018.

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

### 6. 研究組織

#### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：河合 美菜子

ローマ字氏名：(KAWAI, minako)

所属研究機関名：島根大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号 (8 桁)：50710109

研究分担者氏名：濱 徳行

ローマ字氏名：(HAMA, noriyuki)

所属研究機関名：島根大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：60422010

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。