

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14854

研究課題名（和文）痛覚と逃避行動を結びつける上位中枢神経系の役割の解明

研究課題名（英文）Exploring the neural circuit underlying nociception induced escape behavior

研究代表者

尾崎 弘展 (Osaki, Hironobu)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：30747697

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：大脳皮質一次体性感覚野（以下、S1）は、触覚のみならず痛覚も処理している。しかし、S1において、痛覚がどのように触覚情報と区別され処理されているのか不明確であり、痛覚情報がどのように逃避行動へと変換されるのか、といったことに関わる中枢神経系は解明されていなかった。そこで本研究では、電気生理学的手法を用いてS1内での痛覚と触覚、それぞれの情報処理に関わる領域を明確にし、痛覚情報処理にS1のdysgranular領域が関与していることを明らかにした。さらに自由行動下の動物が侵害刺激から逃避する際に、dysgranular領域の活動が逃避行動に関与していることを光遺伝学的手法を組み合わせ示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

齧歯類マウスの大脳皮質一次体性感覚野（S1）において、痛覚と触覚が異なる領域で分離して処理されており、痛覚受容細胞がdysgranular領域に集積していること、その部位を抑制すると逃避行動が減弱することを電気生理学的手法・行動実験等を用いて初めて示すことに成功した。

S1はヒトを含む霊長類においても、機能的・形態学的に複数部位に分かれており、今回示された痛覚受容細胞が集積している部位であるdysgranular領域は霊長類のS1におけるarea 3aに相当すると考えられることから、今回齧歯類で得られた知見はヒトにおける痛み研究・治療に役立つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The primary somatosensory cortex (S1) processes nociception as well as tactile sensation. However, the separation of the two modalities within S1 remains unclear. Rodent S1 contains two subregions based on the cytoarchitecture: the granular region known as the barrel field (BF) and the dysgranular region (Dys). In this study, the neural response to noxious input and tactile input was recorded across S1 subregions. We found that Dys selectively processes the nociceptive, whereas BF mainly contributes to the tactile processing. To determine the functional role of Dys on pain behavior, such as escape from harmful stimuli, we monitored the behaviors of head-restrained animals freely moving on a spherical treadmill in response to noxious stimuli. Optogenetic inhibition of the neuronal activity of Dys can decrease escape behavior from noxious stimuli. Thus, Dys is important for processing of somatic discriminative aspect of pain, which generates proper escape behavior from noxious inputs.

研究分野：神経生理学

キーワード：痛覚 運動 体性感覚野 触覚

1. 研究開始当初の背景

「痛み」は感覚成分と情動成分といった様々な要素を併せ持ち、そのため大脳皮質体性感覚野・前部帯状回・島皮質・扁桃体など多くの神経回路が関わっていると考えられる。大脳皮質一次体性感覚野 S1 は、「痛み」の部位・強さ・質といった痛みの感覚成分である「痛覚」を処理する上位中枢である(文献 1 - 3)。

「痛覚」は、身体への侵害刺激によって誘発され、身体に及ぶ危険を察知し、それから逃げる・回避するための適切な運動の誘発に繋がり、生体の防御・維持機構に欠かせない。

侵害刺激が加わったとき脊髄反射の回路により、すばやい逃避行動が引き起こされる。しかし、生物が様々な危険から回避するには、上位中枢も脊髄レベルの回路のみでは出来ない複雑な逃避行動を引き起こし、脊髄反射の回路とも協調的に働く必要がある。例えば、外部環境に応じて引き起こされる逃避行動は、刻々と変化する姿勢(深部覚・位置覚)の情報、さらには視覚・聴覚・触覚から得られる外部の情報を統合して決定する必要がある。しかしながら、S1 内のどこで痛覚が処理されているのかといったことについて不明な点も多く、S1 に到達した痛覚情報を様々な情報と統合し、適切な「逃避行動」に変換する神経基盤は全く未解明である。

2. 研究の目的

本研究では、「痛覚」を処理している S1 に着目し、詳細な痛覚受容細胞の S1 内の分布様式を明らかにし、痛覚情報処理機構を解明するとともに、S1 内の神経回路が「痛覚」に誘発された逃避行動の制御に関わっているのかを新たな痛覚行動実験システムを用いて解明することを目指した。

齧歯類マウス S1 は形態学的に大脳皮質 4 層が発達している granular 領域と、大脳皮質 4 層が薄い dysgranular 領域(以下、Dys)に大きく分けることが出来る。granular 領域は視床からの感覚(主に触覚)入力が豊富であり、とくに齧歯類ではヒゲ 1 本 1 本に対する感覚入力に特化した領域がバレル構造をもつことからバレル野(Barrel field, 以下 BF 領域)と呼ばれる。一方、dysgranular 領域(以下 Dys 領域)については、その他の体性感覚(深部感覚・位置覚など)を処理していると考えられてきた(図 1)。

我々は、こうした構造に着目し、Dys 領域および BF 領域それぞれの侵害刺激応答特性を調べることで、それぞれの領域の機能分化を解明することを目指した。さらに、明らかになった痛覚情報処理に関わる機能構造に対して神経活動制御を行い、動物が侵害刺激から逃避する際の動きを調べ、痛覚情報に基づく適切な逃避行動への変換に関わる領域の解明を目的として研究を行った。

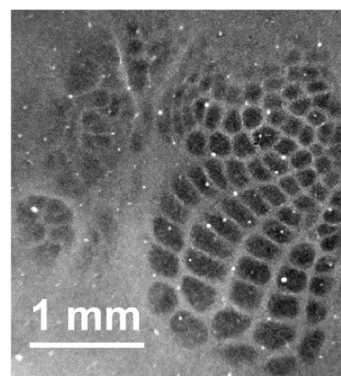


図 1 S1 第 4 層のチトクロム染色像。濃く染まっている部位がバレル野。薄い部位が dysgranular 領域。

3. 研究の方法

(1) in vivo 電気生理学的手法

2 次元平面状に電極が配置された多チャンネル電位記録システムを用いて、麻酔下マウス S1 の Dys 領域および BF 領域から同時に細胞外活動電位記録を行った。刺激には、侵害刺激としてペルチエ素子を用いた熱刺激をヒゲパッド領域に与え、触刺激としてヒゲ刺激を行った(図 2)。

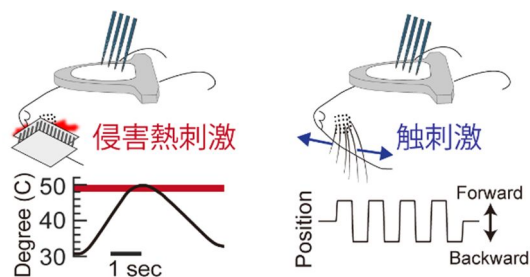


図 2 左,侵害熱刺激。右,触刺激。

(2) トラックボールを用いた自由行動下マウスの逃避行動観察システム

空気圧により浮上するトラックボールシステムを用いて頭部のみ固定された自由行動下の動物の侵害刺激に対する逃避行動を観察した。侵害刺激として赤外線レーザーをヒゲパッドに照射した。赤外線レーザーパワーは 0.09 J/mm^2 (非侵害熱刺激) および 0.27 J/mm^2 (侵害熱刺激) それぞれ皮膚温度を約 39 および 52 に上昇させる)のとおりとした。コントロール刺激としてレーザー照射しない試行も行った。それぞれの刺激に対する応答を動物に対して左側面・右側面・背面に配置されたカメラ(30Hz)で記録し、行動解析を行った(図 3)。

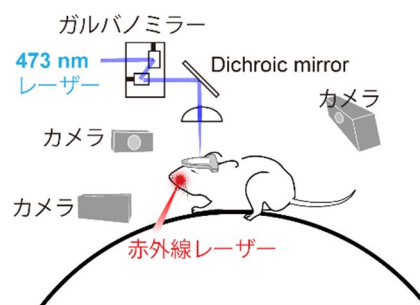


図 3 行動実験システム

さらに光遺伝学的手法を用いて脳活動を制御するため、473nm レーザーを脳表に対して照

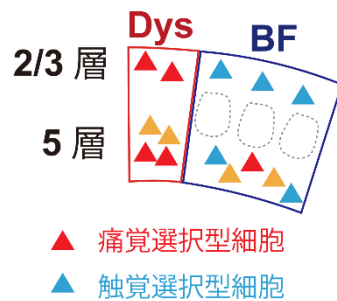
射するシステムを導入した。Dys 領域と BF 領域は互いに近接しているため、それぞれ単独の光刺激は困難である。そのため、ガルバノミラーを用いて、複数箇所を刺激し、Dys 領域を中心にした刺激と BF を中心にした刺激をそれぞれ比較することで、Dys 領域と BF 領域の活動制御がそれぞれ逃避行動に及ぼす影響を観察した。

動物は 8 週齢以降の野生型マウス (C57BL/6N)、および抑制性介在細胞である Parvalbumin 陽性 (PV) 細胞に対して cre が発現した PV-Cre マウスと cre 依存的にチャンネルロドプシン (ChR2) が発現した Ai32 マウスを掛け合わせて PV に ChR2 を発現したマウス (PV-Ai32) を用いた。

4. 研究成果

(1) in vivo 電気生理学的手法による痛覚受容細胞の集積部位の同定

Dys 領域および BF 領域から侵害熱刺激に対する神経活動を同時に記録した結果、Dys 領域の方が BF 領域よりも侵害刺激に応答する細胞が多く集積していた。一方、触刺激に対する応答では、BF 領域の方が Dys 領域よりも応答する細胞が多かった (図 4)。さらに詳細に細胞単位で活動を観察したところ、大脳皮質の 2/3 層では、侵害刺激と触刺激の両方に応答する細胞が少なかったのに対して、5 層では侵害刺激と熱刺激の両方に対して応答する細胞が最も多かった。以上の結果は、侵害刺激に対して Dys 領域が中心的な役割を果たしており、2/3 層から 5 層にかけて情報処理の階層構造が上がり、異なる種類の感覚情報を統合処理するようになってきていることを示唆している。



▲ 痛覚選択型細胞
▲ 触覚選択型細胞
▲ 痛覚・触覚混合型細胞
図 4 痛覚・触覚応答細胞の分布様式 (文献 6 より改編して抜粋)

(2) 逃避行動観察システムを用いた Dys 領域の機能的役割の同定

熱刺激を用いた逃避行動観察システムを作成し、行動解析を行ったところ、侵害熱刺激となる赤外線レーザー刺激により、有意に走行スピードが上昇した。また、逃避方向も刺激から遠ざかる方向へと変化し、逃避行動が誘発されることが定量的に示された。また侵害刺激に伴う瞬きも有意に増加しており、この行動観察システムが痛みに伴う逃避行動を評価できていることが示された (図 5)。

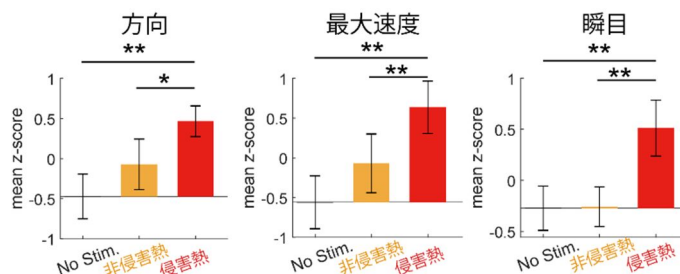


図 5 侵害刺激に対する応答の定量評価。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ (文献 6 より改編して抜粋)

次に PV-ChR2 マウスに対して、侵害熱刺激を行っている際に脳の特定位の活動を抑制することで逃避行動が抑制されるのかを検証した。その結果、Dys 領域が抑制されているときに逃避行動も有意に減弱しており、その他の領域の抑制では影響が見られなかった (図 6)。このことは Dys 領域が痛覚受容に基づく逃避行動に関与していることを示している。

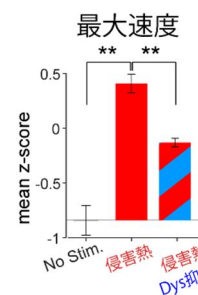


図 6 Dys 領域抑制により逃避速度が低下した

以上の結果から、Dys 領域は S1 内における痛覚応答細胞が最も集積している部位であり、この領域の活動を抑制すると痛覚受容に基づく逃避行動を抑制できた。このことは Dys 領域が痛覚情報を逃避行動に変換するのに重要な役割を担っていることを示唆している。

ヒトをはじめとする霊長類において、S1 は Brodmann の分類に従って前方から 3a 野、3b 野、1 野、2 野に分かれており、例えば触覚においては 3b 野から 1 野、2 野へと階層的な処理がなされている。一方、痛覚に関しては、3a 野で痛覚選択的な処理がされているという説と、3b 野を含む幅広い領域で処理されているという説があり、未だに議論が続いている (文献 4, 5)。

この 3a 野は皮質構造的には第 4 層が少なく Dys 領域を形成しており、一方 3b 野は皮質第 4 層が厚い granular 領域を形成しているという特徴があり、3a 野は齧歯類における Dys 領域、3b 野は granular 領域 (パレル野) とそれぞれ進化的に相同な領域とみなすことができる (文献 5)。従って、今回の研究成果は、S1 の痛覚応答細胞が集積する Dys 領域を制御することによって痛みを減弱できる可能性を示唆している。

引用文献

- 1 Apkarian, V. A., Bushnell, C. M., Treede, R.-D. & Zubieta, J.-K. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *European Journal of Pain* 9, 463-463, doi:10.1016/j.ejpain.2004.11.001 (2005).

- 2 **Kenshalo, D. R. & Isensee, O. Responses of primate SI cortical neurons to noxious stimuli. *Journal of Neurophysiology* 50, 1479-1496, doi:10.1152/jn.1983.50.6.1479 (1983).**
- 3 **Bushnell, M. C. *et al.* Pain perception: Is there a role for primary somatosensory cortex? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96, 7705-7709, doi:10.1073/pnas.96.14.7705 (1999).**
- 4 **Chen, L. Cortical Representation of Pain and Touch: Evidence from Combined Functional Neuroimaging and Electrophysiology in Non-human Primates. *Neuroscience Bulletin* 34, 165-177, doi:10.1007/s12264-017-0133-2 (2018).**
- 5 **Whitsel, B. L., Vierck, C. J., Waters, R. S., Tommerdahl, M. & Favorov, O. V. Contributions of Nociceptive Area 3a to Normal and Abnormal Somatosensory Perception. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, doi:10.1016/j.jpain.2018.08.009 (2018).**
- 6 **Osaki, H., Kanaya, M., Ueta, Y., & Miyata, M. Distinct nociceptive region in mouse primary somatosensory cortex. *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2021.04.14.439725> (2021).**

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fukui Atsushi, Osaki Hironobu, Ueta Yoshifumi, Kobayashi Kenta, Muragaki Yoshihiro, Kawamata Takakazu, Miyata Mariko	4. 巻 10
2. 論文標題 Layer-specific sensory processing impairment in the primary somatosensory cortex after motor cortex infarction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3771
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-60662-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Osaki Hironobu, Kanaya Moeko, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko	4. 巻 ePub
2. 論文標題 Distinct nociresponsive region in mouse primary somatosensory cortex.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 ePub
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.04.14.439725	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Daisuke Ishii, Hironobu Osaki, Arito Yozu, Kiyoshige Ishibashi, Kenta Kawamura, Satoshi Yamamoto, Mariko Miyata, Yutaka Kohno	4. 巻 401
2. 論文標題 Ipsilesional spatial bias after a focal cerebral infarction in the medial agranular cortex: A mouse model of unilateral spatial neglect	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 113097
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbr.2020.113097	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Ishii Daisuke, Osaki Hironobu, Yozu Arito, Ishibashi Kiyoshige, Kawamura Kenta, Miyata Mariko, Kohno Yutaka
2. 発表標題 Role of the right frontal orienting field in visuospatial attention
3. 学会等名 The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Osaki Hironobu, Kanaya Moeko, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko
2. 発表標題 Area- and layer-specific distribution of nociceptive neurons in the mouse primary somatosensory cortex
3. 学会等名 International Workshop on Frontiers in Defensive Survival Circuit Research (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福井敦, 尾崎弘展, 植田禎史, 村垣善浩, 川俣貴一, 宮田麻理子
2. 発表標題 一次運動野脳梗塞マウスモデルの一次感覚野での層特異的な感覚情報処理障害に関する研究
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第78回学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Osaki Hironobu, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko
2. 発表標題 The area- and layer-specific distribution of nociceptive neurons in the primary somatosensory cortex of mice
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Osaki Hironobu, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko
2. 発表標題 Dysgranular area in the primary somatosensory cortex selectively encodes noxious information
3. 学会等名 The 41st annual meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hironobu Osaki, Mizuki Kawashima, Mizuki Yasuda and Mariko Miyata
2. 発表標題 Nociceptive neurons in the primary somatosensory cortex: area and layer specific distribution
3. 学会等名 2nd International Symposium on Embodied-Brain Systems Science (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 尾崎弘展
2. 発表標題 大脳皮質一次体性感覚野における痛覚受容細胞の分布様式の電気生理学的検証
3. 学会等名 第1回東京女子医科大学・早稲田大学融合創出ワークショップ
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 尾崎弘展, 植田禎史, 宮田麻理子
2. 発表標題 大脳皮質一次体性感覚野での痛覚受容はdysgranular領域で行われている
3. 学会等名 第40回日本疼痛学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hironobu Osaki, Moeko Kanaya, Yoshifumi Ueta, Mariko Miyata
2. 発表標題 The dysgranular area in the primary somatosensory cortex modulates nociception induced escape behavior
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------