

令和 4 年 6 月 5 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16278

研究課題名（和文）マウスヒゲシステムを用いた小脳への体性感覚信号経路の解析

研究課題名（英文）Perioral sensory signaling pathways to the cerebellum in the mouse

研究代表者

久保 怜香（Kubo, Reika）

広島大学・医系科学研究科（医）・助教

研究者番号：20835962

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、マウスの口辺ヒゲ領域から小脳への体性感覚信号伝達経路の同定を目的に、研究を遂行した。その結果、これまで詳細な経路が不明であった口辺ヒゲ領域から大脳皮質をまわって橋を介して小脳に伝達する経路に、中継核として視床 中脳領域area parafascicularis prerubralis（PfPr）と橋灰白質が含まれることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

体性感覚情報処理過程において、大脳皮質への信号伝達経路はセントラル・パスウェイであり、多くの研究が開示されているが、皮質下の脳領域への信号伝達経路については、不明な点が多かった。本研究では、体性感覚信号伝達経路に様々な中脳領域が関与することを初めて見出した。この成果により、未だ明らかになっていない皮質下における感覚情報処理の役割の解明に繋がることを期待される。

研究成果の概要（英文）：The aims of this research project was to identify the perioral sensory signaling pathways to the cerebellum. We found that the area parafascicularis prerubralis (PfPr) and the pontine gray relay the perioral sensory signals to the cerebellum via the cerebral cortex and the pons.

研究分野：神経生理学

キーワード：体性感覚 小脳

1. 研究開始当初の背景

触覚などの体性感覚情報は脳皮質に伝達され、周りの環境を把握し、それに相応した行動・運動を行うために活用される。マウスはヒゲを用いて探索行動をするが、ヒゲで受容した触覚信号は、眼窩下神経 (Infraorbital nerve (ION)) を経由して、三叉神経核に伝達後、視床を通過して脳皮質に送られる。この脳皮質への信号伝達は、触覚情報処理におけるセントラル・パスウェイであり、その経路を含め多くの研究が展開されている。一方、触覚情報は脳皮質以外の脳領域にも伝達されるが、その伝達経路については不明な点が多い。

本研究では、皮質下の脳領域への体性感覚信号伝達の一つとして、口辺ヒゲ領域から小脳への触覚信号伝達に着目し、その伝達経路について探る。過去の研究から、口辺ヒゲ刺激で小脳プルキンエ細胞にて complex spike (CS) と simple spike (SS) が発生することが知られている。CS は下オリーブ核を介して小脳プルキンエ細胞に伝達する経路の活性化を、SS は橋などの脳領域から小脳皮質顆粒細胞を経てプルキンエ細胞に伝達される経路の活性化を反映する。我々は、2018 年に口辺ヒゲ刺激による CS 誘発経路について解析し、口辺ヒゲ領域→三叉神経核→視床→中脳領域 (area parafascicularis prerubralis (PfPr)) →下オリーブ核→小脳の経路を発見した (Kubo et al., 2018)。ただ、SS 誘発経路の全貌については未だ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、口辺ヒゲ領域から小脳プルキンエ細胞への体性感覚信号経路の同定を目的とした。我々の過去の研究で CS 誘発経路に PfPr が含まれることが分かっていたが、我々の予備的な研究から、SS 誘発経路に PfPr を介する経路が存在することが確認されていたため、PfPr を経由する SS 誘発経路に着目してその経路の同定を目指し研究を遂行した。

3. 研究の方法

生後2ヶ月以上のケタミン/キシラジン混合麻酔下の C57BL/6J マウスにおいて、口辺ヒゲ領域を支配する眼窩下神経 (Infraorbital nerve (ION)) を露出させタングステン双極電極による電気刺激を行い、小脳皮質 CrusII プルキンエ細胞からガラス電極を用いて単一細胞外記録を行うことにより、誘発される spike を解析した。

また、信号伝達経路に関与する脳領域特定のために、候補の脳領域に微量注入装置を用いて GABA_A 受容体アゴニストである muscimol を局所投与し、その脳領域の神経活動を抑制させた。

さらに、関与する脳領域同士の入出力関係を明らかにするため、逆行性トレーサー Fluoro-Gold あるいは逆行性に GFP を神経細胞に発現させるアデノ随伴ウイルスを微量注入装置により特定の脳領域に局所注入を行った。その後、ホルマリンによる脳灌流固定を行い、電動スライサーを用いて脳切片を作成し、蛍光顕微鏡により脳切片の観察を行った。

4. 研究成果

麻酔下マウスにおいて、ION 電気刺激を行い、刺激している ION と同側の小脳皮質 CrusII のプルキンエ細胞から、単一細胞外記録を行うと、ION 刺激により小脳プルキンエ細胞にて SS が誘発された。誘発された小脳プルキンエ細胞の SS には、刺激後 10 ms 前後で発生する早い潜時の成分と、刺激後 20~40 ms で発生する遅い潜時の成分があり、それに続いて SS の発生が抑えられる期間 (SS silence) が存在した。これらの成分があることは、過去の研究でも報告されている。PfPr に muscimol を投与すると、SS の遅い潜時の成分と、SS silence が阻害された。SS の早い潜時の成分は、三叉神経核から直接小脳皮質顆粒細胞に伝達した後、プルキンエ細胞に到達する短い信号伝達経路を介して発生する一方、SS の遅い潜時の成分は、三叉神経核から視床を経て脳皮質を通過して橋から小脳に伝達する長い経路を介すると言われている。そのため、PfPr は、脳皮質をまわる長い経路に中継核として含まれることが示唆された。さらに、SS silence を誘発させる経路にも PfPr が関与することが分かった。

次に、脳皮質をまわる長い経路は橋を経由するが、橋のどの神経核で中継されているかを明らかにするために、我々が記録している小脳 CrusII に強く投射している橋の神経核、橋灰白質に muscimol を投与すると、PfPr の場合と同様、SS の遅い潜時の成分と、SS silence が阻害された。この結果から、脳皮質をまわる経路に橋灰白質が含まれること、また、SS silence を発生する経路に橋灰白質が関与することが分かった。

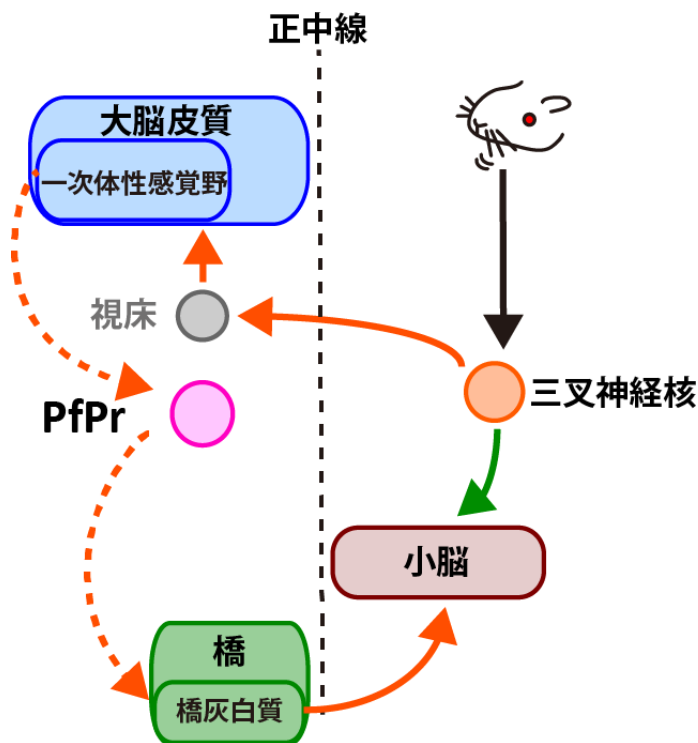
さらに、PfPr と橋灰白質の入出力関係について調べるために、橋灰白質に逆行性トレーサー

Fluoro-Gold を注入し、橋灰白質に直接投射する細胞を染色すると、PfPr の領域に細胞の染色像が見られ、PfPr から橋灰白質への直接的な神経投射が形態学的に証明された。

また、最近の研究から、大脳皮質一次体性感覚野上唇領域周辺が SS の遅い潜時の成分に関与することが明らかになっていることを踏まえ、大脳皮質一次体性感覚野上唇領域周辺から PfPr への直接投射の存在を確認するために、PfPr に逆行性に GFP を神経細胞に発現させるアデノ随伴ウイルスを注入し、PfPr に直接投射する神経細胞に GFP を発現させると、大脳皮質一次体性感覚野上唇領域周辺の神経細胞に GFP の発現が確認された。このことから、大脳皮質一次体性感覚野上唇領域周辺から PfPr に直接投射があることが確認できた。

以上の結果から、口辺ヒゲ領域から大脳皮質及び橋を介して小脳に到達する経路に、PfPr と橋灰白質が中継核として含まれることが分かり、さらに SS silence を発生させる信号伝達経路に PfPr と橋灰白質が関与することも明らかとなった。

これまで、口辺の感覚刺激により小脳プルキンエ細胞で SS が誘発される信号伝達は、大脳皮質から橋への直接投射を経由するといわれてきたが、本研究結果により、大脳皮質から橋への直接投射以外に、中脳領域である PfPr を通る経路が見出された。PfPr は、線条体を含む様々な脳領域から信号が入る領域であり、口辺の感覚信号処理が想像以上に多様な修飾を受けている可能性がある。今後は、より詳細な感覚信号伝達経路を探索し、明らかとなった経路を実験的に操作することにより、口辺感覚信号処理がもたらす機能の解明に迫っていききたい。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kouichi Hashimoto, Yosuke Yamawaki, Kenji Yamaoka, Takayuki Yoshida, Kana Okada, Wanqin Tan, Miwako Yamasaki, Yoshiko Matsumoto-Makidono, Reika Kubo, Hisako Nakayama, Tsutomu Kataoka, Takashi Kanematsu, Masahiko Watanabe, Yasumasa Okamoto, Shigeru Morinobu, Hidenori Aizawa, Shigeto Yamawaki	4. 巻 fcab285
2. 論文標題 Spike firing attenuation of serotonin neurons in learned helplessness rats is reversed by ketamine	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Communications	6. 最初と最後の頁 1, 15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/braincomms/fcab285	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 久保 怜香、橋本 浩一
2. 発表標題 小脳へのsimple spikeを介した体性感覚の信号伝達経路
3. 学会等名 第25回グリアクラブ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久保 怜香、橋本 浩一
2. 発表標題 口辺ヒゲ領域から小脳への橋核と視床 中脳領域を介する体性感覚信号経路の解析
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保 怜香、橋本 浩一
2. 発表標題 小脳への平行線維を介する口辺体性感覚信号経路の解析
3. 学会等名 第73回日本生理学会中国四国地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保 怜香、橋本 浩一
2. 発表標題 小脳プルキンエ細胞への口辺体性感覚信号経路の解析
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 久保怜香、橋本浩一	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 5
3. 書名 生体の科学 72巻 1号	

〔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