

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462782

研究課題名(和文) 前頭前皮質から三叉神経尾側亜核への投射と口腔顔面痛の抑制との関連の解明

研究課題名(英文) Influence of descending projection from the prefrontal cortex to the trigeminal caudal subnucleus on the orofacial nociception

研究代表者

佐藤 文彦 (Sato, Fumihiko)

大阪大学・歯学研究科・助教

研究者番号：60632130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、顆粒性および不全顆粒性島皮質から、口腔顔面痛が入力する三叉神経尾側亜核表層への体部位局在性を持った直接投射を明らかにしている(Sato et al., 2013)。本申請研究は、この下行路には、口腔顔面痛の上行伝達のfeedback回路となり、口腔顔面痛の上行伝達を修飾(特に抑制)するものが存在することを、初めて明らかにした。本研究によって、口腔顔面痛と情動との関連がより詳細に明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We have revealed that the granular and dysgranular insular cortices give off direct, somatotopic projections to the superficial layers of the trigeminal caudal subnucleus which are well known to contain neurons transmitting orofacial pain (Sato et al. 2013, Neuroscience). The present study has for the first time demonstrated that this descending pathway from the insula becomes a feedback pathway to the ascending pathway of orofacial pain through the superficial layers of the trigeminal caudal subnucleus, and that this descending pathway from the insula can make influence (especially inhibitory influence) on the ascending nociceptive pathway. These data have clearly shown the neuronal mechanisms underlying the strong relationship between the orofacial pain and emotion induced by the pain.

研究分野：神経解剖学 口腔解剖学

キーワード：脳 神経回路 島皮質 三叉神経 口腔顔面痛 情動

### 1. 研究開始当初の背景

口腔顔面の痛みは、体部の痛みよりも、情動や自律神経活動とより強い関連を持っていることは歯科臨床でも経験される所である (Sessle, Crit Rev Oral Biol Med, 1999)。痛覚の発現には扁桃体などの皮質下構造が重要で、大脳皮質は関与しないというのが永年の定説であったが (Coffeen et al., Eur J Pain, 2009)、近年、痛覚には、情動や記憶、自律神経活動を司っている大脳前頭前皮質の島皮質のうちの無顆粒性島皮質が関与することが fMRI を用いた研究で報告された (Burkey et al., J Neurosci, 1996)。我々は、彼らの結果が口腔顔面痛に当てはまるかどうかを既に調べている。その結果、無顆粒性島皮質ではなく、顆粒性および不全顆粒性島皮質が、口腔顔面痛が入力する三叉神経尾側亜核の表層に体部位局在性を持って直接投射することを明らかにした (Sato et al., 2013, Neuroscience, 233)。しかしながら、我々が明らかにした投射 (島皮質-尾側亜核路) が、口腔顔面痛の上行伝達にどのような影響を与えているのかは不明なままであった。

### 2. 研究の目的

我々が発見した島皮質から尾側亜核表層への投射が口腔顔面痛の上行伝達にどのような影響を与えているかを解明することが目的であった。次の3つの実験でその解明を行った。

実験①: 三叉神経尾側亜核表層に投射する顆粒性および不全顆粒性島皮質部位に、どのような末梢受容野を持つ口腔顔面感覚が入力するかを調べた。これにより、島皮質-尾側亜核路が口腔顔面感覚の島皮質に至る上行路のフィードバック回路になっているかどうかを検討した。

実験②: 顆粒性および不全顆粒性島皮質から三叉神経尾側亜核表層への投射路が、口腔 (顔面) の痛み刺激によって賦活されることを調べた。

実験③: 三叉神経尾側亜核表層ニューロンに入力する痛覚が、顆粒性および不全顆粒性島皮質から三叉神経尾側亜核表層への投射路の活動によってどのような影響を受けるかを調べた。

### 3. 研究の方法

本申請では、ラットを用い in vivo で、ペントバルビタールによる全身麻酔と、術野のリドカインによる局所麻酔の併用下で行う。実験は大阪大学歯学研究科動物実験委員会承認を得て行った。

実験①: 三叉神経尾側亜核表層に投射する顆粒性および不全顆粒性島皮質部位に、どのような末梢受容野を持つ口腔顔面感覚が入力するかを解明

ラットを、脳定位固定装置に装着する。装置を 45 度傾け、左側の島皮質表面を上面に近づけた。ガラス管微小電極の刺入のターゲ

ットは、Paxinos and Watson のラットアトラスを参考にして決定した。口腔顔面の痛み刺激 (pinch 刺激) およびその支配神経 (特にオトガイ神経と舌神経) の電気刺激に対する応答を、島皮質の顆粒性/不全顆粒性島皮質に垂直に刺入したガラス管微小電極から記録し、記録部位の末梢感覚受容野と感覚種を明らかにした。波形の解析は PowerLab システムを用いた。口腔内領域と顔面領域との違いで、また、顆粒性島皮質と不全顆粒性島皮質の違いで、末梢感覚受容野と感覚種がどのように異なるのかを比較検討した。さらに、島皮質と背側脚皮質の末梢感覚受容野と感覚種の差異も比較検討した。記録の終了後に、ラットを深麻酔下で、心臓から 4%ホルマリン溶液を灌流させ固定した。脳を摘出して、凍結下で 60  $\mu$ m の連続冠状断切片を作成した。Nissl 染色し、プレパラートを作成した。顕微鏡観察にて、記録部位を調べた。

実験②: 島皮質から三叉神経尾側亜核への投射が、口腔 (顔面) の痛み刺激により賦活することの解明

口腔顔面の痛みが入力する三叉神経尾側亜核表層の背内側部 (グループ A) と背外側部 (グループ B) に、逆行性神経回路トレーサーである Fluorogold (FG) を封入したガラス管微小電極を刺入し、FG を電気泳動にて微量注入した。その7日後に、動物を再度麻酔し、グループ A では舌に、グループ B では顔面オトガイ部皮膚に 5% ホルマリンを注入した。その2時間後に動物を深麻酔下で実験①と同様に灌流固定し、脳を摘出し、切片を作成した。活性化した細胞のマーカーになる c-Fos 蛋白と FG に対する抗体を用いた免疫組織反応にて、c-Fos 蛋白と FG を可視化した。顕微鏡下で、二重染色された (c-Fos 陽性核と FG 陽性細胞質を持つ) 島皮質ニューロンを検索した。

実験③: 三叉神経尾側亜核表層ニューロンに入力する痛覚が、顆粒性および不全顆粒性島皮質から三叉神経尾側亜核表層への投射路の活動によって受ける影響を解明

三叉神経尾側亜核の表層に刺入したガラス管微小電極から、口腔顔面 (特にオトガイと舌) に与えた痛覚刺激 (皮膚と粘膜表面の pinch) に対する応答を記録した。この記録時に、前頭前皮質外側部の顆粒性/不全顆粒性島皮質または前頭前皮質内側部の背側脚皮質を、これらに刺入した金属電極で電気刺激した。三叉神経尾側亜核の表層からの応答を、島皮質刺激の前後で比較し、島皮質からの下行投射が口腔顔面の痛み入力に与える影響を調べた。波形の解析は PowerLab システムを用いた。

研究成果を総括し、学会発表し、研究室 HP に公表し、欧文論文を公表した。

### 4. 研究成果

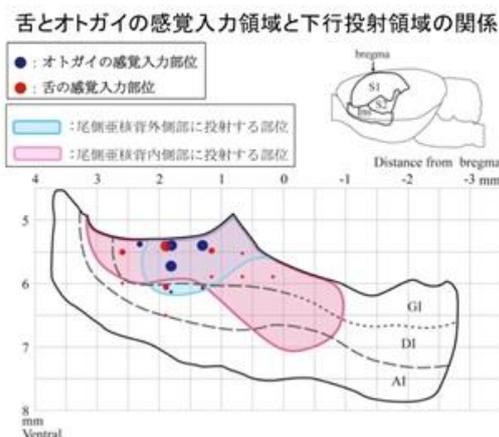
実験①の成果

舌神経とオトガイ神経の電気刺激で誘発

された領域電位を、刺激と反対側の島皮質およびその周辺から記録した。オトガイ神経の電気刺激、短潜時 (7.8 msec から 8.1 msec) の陽性波の大きな振幅を持つ領域電位が島皮質の吻側部から記録された。S1 の腹側部 (bregma から前方 1.8 mm、腹側 4.8 mm) から、S2 の吻側部からも領域電位は記録出来たが、振幅は大きくなかった。島皮質から記録された短潜時陽性波の振幅を四分位法にて解析した所、振幅が最も大きかった記録部位は bregma の前方 1.3 mm から 1.8 mm、腹側 5.4 mm から 5.8 mm の顆粒性島皮質に認められた。この最も大きな振幅の記録部位は、我々のこれまでの研究 (Sato et al., 2016) で、逆行性標識ニューロンの分布から決定された島皮質のオトガイ神経領域内に位置した。

舌神経の電気刺激によって、刺激と反対側の島皮質内で最も大きな振幅が記録された部位は、bregma の前方 1.8 mm、腹側 5.4 mm の顆粒性島皮質であり、この部位は、我々のこれまでの研究 (Sato et al., 2016) で決定された舌神経領域内に存在した。その位置は、上述のオトガイ神経の電気刺激で最も大きな振幅が記録された部位の前方部にほぼ一致していた。

実験①の結果から、三叉神経尾側亜核表層部に下行性に投射する島皮質ニューロンは、投射先の三叉神経尾側亜核表層部を經由して島皮質に至る上行性感覚入力を受ける可能性を持つことが示された。つまり、島皮質から三叉神経尾側亜核表層部への下行投射は、島皮質に上行する感覚の feedback 回路となり、上行性の口腔顔面感覚入力を修飾している可能性が示唆された。



#### 実験②の成果

三叉神経尾側亜核表層部の背内側部に FG を注入し、舌にホルマリンを注入したグループ A では、c-Fos 発現ニューロンと逆行性に FG 標識されたニューロンのいずれも、島皮質の特に吻側部の顆粒性島皮質に多数認められた。これらのうちの少数のニューロンは、FG 標識され、同時に c-Fos を発現していた。三

又神経尾側亜核表層部の背外側部に FG を注入し、顔面オトガイ部皮膚にホルマリンを注入したグループ B では、c-Fos 発現ニューロンと逆行性に FG 標識されたニューロンのいずれも、島皮質の特に吻側中央部の顆粒性島皮質に多数認められた。これらのうちの少数のニューロンは、FG 標識され、同時に c-Fos を発現していた。

実験②の結果から、島皮質から三叉神経尾側亜核表層部への下行投射は、口腔顔面 (特にオトガイと舌) に与えた刺激 (特に痛覚刺激) によって賦活されることを示している。下行路が上行性の感覚 (特に痛覚) の情報の feedback 回路となり、上行性の感覚 (特に痛覚) の情報を修飾している可能性がより強く示唆された。

#### 実験③の成果

三叉神経尾側亜核の表層の背側部 (背内側部と背外側部) のニューロンの口腔顔面 (舌と顔面オトガイ部皮膚を含む) に与えた痛み刺激に対する応答が、島皮質の吻側中央部の顆粒性島皮質 (実験②で、FG 標識され、かつ c-Fos を発現していたニューロンが最も多く認められた部位) の電気刺激で、促進されるもの、抑制されるもの、影響がみられないものの 3 種が認められた。これら 3 種のニューロンの出現比率に差異は認められなかった。また、三叉神経尾側亜核の表層の背側部内における、これら 3 種のニューロンの分布の差異は認められなかった。

実験③の結果から、島皮質ニューロンの三叉神経尾側亜核表層のニューロンへの接続は、単シナプス性のもの (促進に働くと考えられる) ばかりでなく、抑制の介在ニューロンを介した 2 シナプス性のものなど (または 2 シナプス以上の多シナプス性のもの) が存在し、複雑であることが明らかになった。

本申請研究は、我々が既に明らかにしている顆粒性および不全顆粒性島皮質から三叉神経尾側亜核の表層に至る下行路 (Sato et al., 2013, Neuroscience, 233) には、口腔顔面痛の上行伝達路の feedback 回路となり、口腔顔面痛を抑制するものが存在することを初めて明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

① Ikenoue E, Sato F, Ohara H, Tachibana Y, Yoshida A et al. (2018) Transcortical descending pathways through granular insular cortex conveying orofacial proprioception. Brain Res, 査読有, 1687: 11-19. DOI:10.1016/j.brainres.2018.02.033

② Sato F, Kato T, Tachibana Y, Yoshid

a A et al. (2017) Thalamo-insular pathway conveying orofacial muscle proprioception in the rat. *Neuroscience*, 査読有, 365:158-178. DOI:10.1016/j.neuroscience.2017.09.050

③ Kato T, Sato F, Yoshida A et al. (2017) Comparison of rhythmic masticatory muscle activity during non-rapid-eye movement sleep in guinea pigs and humans. *J Sleep Res*, 査読有, Sep 27. DOI: 10.1111/jsr.12608

④ Nagoya K, Yoshida A, Sato F, Inoue T et al. (2017) Distinctive features of Phox2b-expressing neurons in the rat reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus. *Neuroscience*, 査読有, 358:211-226. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.06.035

⑤ Yoshida A, Fujio T, Sato F, Kato T, Tachibana Y et al. (2017) Orofacial proprioceptive thalamus of the rat. *Brain Struct Function*, 査読有, 222:2655-2669. DOI: 10.1007/s00429-016-1363-1

⑥ Fujio T, Sato F, Tachibana Y, Kato T, Tomita A, Higashiyama K, Ono T, Maeda Y, Yoshida A, (2016) Revisiting the supratrigeminal nucleus in the rat. *Neuroscience*, 査読有, 324: 307-320. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.03.026

⑦ Haruka Ohara, Yoshihisa Tachibana, Takashi Fujio, Rieko Takeda-Ikeda, Fumihiko Sato, Ayaka Oka, Takafumi Kato, Etsuko Ikenoue, Takashi Yamashiro, Atsushi Yoshida, (2016) Direct projection from the lateral habenula to the trigeminal mesencephalic nucleus in rats. *Brain Research*, 査読有, 1630: 183-197. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.11.012

⑧ Uchino K, Higashiyama K, Kato T, Haque T, Sato F, Tomita A, Tsutsumi K, Moritani M, Yamamura K, Yoshida A, (2015) Jaw movement-related primary somatosensory cortical area in the rat. *Neuroscience*, 査読有, 284: 55-64. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.09.072

⑨ Nakamura S, Nakayama K, Mochizuki A, Sato F, Haque T, Yoshida A, Inoue T, (2014) Electrophysiological and morphological properties of rat supratrigeminal premotor neurons targeting the trigeminal motor nucleus. *J Neurophysiol*, 111: 1770-1782. DOI: 10.1152/jn.00276.2013

⑩ Akhter F, Haque T, Sato F, Kato T, Ohara H, Fujio T, Tsutsumi K, Uchino K, Sessle BJ, Yoshida A, (2014) Projections from the dorsal peduncular cortex to the trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) and other lower brainstem areas in rats. *Neuroscience*, 査読有, 266: 23-27. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.01.046

〔学会発表〕(計28件)

① 佐藤文彦、上村夢、冠野千晴、堤友美、加藤隆史、古田貴寛、吉田篤 咀嚼筋筋紡錘の感覚を伝達する視床-島皮質路 第123回日本解剖学会 2018年

② 吉田篤、佐藤文彦、村上旬平、藤川順司、秋山茂久 咬筋筋紡錘感覚の中樞経路:Tourette's syndrome への関与の可能性 第24回トゥレット研究会 2017年

③ 佐藤文彦、上村夢、冠野千晴、堤友美、加藤隆史、吉田篤 咀嚼筋筋紡錘の感覚を伝達する視床-島皮質路:Tourette's syndrome との関与 第59回歯科基礎医学会 2017年

④ 佐藤文彦、大原春香、上村夢、久保田千晴、堤友美、森谷正之、加藤隆史、吉田篤 咬筋筋紡錘からの感覚の視床投射 第122回日本解剖学会総会・学術大会 2017年

⑤ Makoto Higashiyama, Takafumi Kato, Hiroyuki Yano, Yoshio Ueno, Fumihiko Sato, Hirofumi Yatani, Atsushi Yoshida, Excitability of masticatory motor system in sleeping guinea pigs, the 95th General Session & Exhibition of the IADR, 2016年

⑥ 東山亮、佐藤文彦、矢谷博文、吉田篤、加藤隆史 睡眠中の錐体路電気刺激に対するリズムカルな顎運動の応答特性 第10回三叉神経研究会 2016年

⑦ 佐藤文彦、堤友美、上村夢、久保田千晴、加藤隆史、吉田篤 咬筋筋紡錘からの感覚の視床投射 第10回三叉神経研究会 2016

⑧ 佐藤文彦、加藤隆史、吉田篤 ラット顎筋筋紡錘からの感覚入力を受ける三叉神経上核の同定 第58回歯科基礎医学会 2016年

⑨ 吉田篤、佐藤文彦、加藤隆史 咀嚼はどのような神経回路によって情動の影響を受けるのか 第58回歯科基礎医学会 2016年

⑩ 佐藤文彦 藤尾隆史 加藤隆史 吉田篤 ラット三叉神経上核の同定 第121回日本解剖学会総会・全国学術集会 2016年

⑪ 佐藤文彦 藤尾隆史 加藤隆史 吉田篤  
ラット三叉神経上核の同定 第9回三叉神経  
領域の感覚-運動統合機構研究会 2015年

⑫ 大原春香 佐藤文彦 加藤隆史 吉田篤  
情動はどのような神経機構によって咀嚼に  
影響を及ぼすのか 日本顎口腔機能学会第  
55回学術大会 2015年

⑬ 大原春香 佐藤文彦 加藤隆史 山城隆  
吉田篤 外側手綱核から三叉神経中脳路核  
ニューロンへの直接投射 第57回歯科基礎  
医学会学術大会 2015年

⑭ Higashiyama M, Kato T, Sato F, Yatani  
H, Yoshida A, ANTAGONISTIC JAW MUSCLE  
RESPONSE TO CORTICOBULBAR TRACT  
STIMULATION DURING REM SLEEP IN GUNEA PIG,  
SLEEP2015 2015年

⑮ Takashi Fujio, Fumihiko Sato, Sazzad  
Md Sams Ali, Takafumi Kato, Atsushi  
Yoshida, Central processing of  
masticatory muscle sensation, Proceedings  
of the International Symposium on  
Neuroscience in Orofacial sensory-motor  
functions 2015, 2015年

⑯ Haruka Ohara, Fumihiko Sato, Hiroyuki  
Yano, Etsuko ikenoue, Takafumi Kato,  
Atsushi Yoshida, Projection from lateral  
habenula to trigeminal mesencephalic  
nucleus and its function, Proceedings of  
the International Symposium on  
Neuroscience in Orofacial sensory-motor  
functions 2015, 2015年

⑰ Atsushi Yoshida Fumihiko Sato  
Takafumi Kato, Proceedings of the  
International Symposium on Neuroscience  
in Orofacial sensory-motor functions 2015,  
2015年

⑱ 加藤隆史、豊田理紗、矢野博之、東山亮、  
佐藤文彦、吉田篤 モルモットのノンレム睡  
眠で発生する反復性咬筋活動の特性 第120  
回日本解剖学会総会・全国学術集会 2015年

⑲ 藤尾隆史、佐藤文彦、富田章子、池之上  
悦子、Tahsinul Md. Haque、吉田篤 咬筋筋  
紡錘感覚の脳内伝達様態の解明 第120回日  
本解剖学会総会・全国学術集会 2015年

⑳ 大原春香、橘吉寿、佐藤文彦、武田理恵  
子、岡綾香、加藤隆史、吉田篤 外側手綱核  
から三叉神経中脳路核への投射とその機能  
第120回日本解剖学会総会・全国学術集会  
2015年

21 吉田篤、佐藤文彦、大原春香、藤尾隆史、

堤香奈子、加藤隆史 ラット大脳皮質から顎  
運動に関わる運動前ニューロンへの投射の  
様態 第120回日本解剖学会総会・全国学術  
集会 2015年

22 T. FUJIO, F. SATO, A. TOMITA, M.  
MORITANI, A. YOSHIDA, Central processing  
of masticatory muscle sensation,  
NEUROSCIENCE2014 2014年

23 K. UCHINO, K. HIGASHIYAMA, R. TAKEDA,  
F. SATO, A. YOSHIDA, Primary somatosensory  
cortical area inducing jaw-opening in the  
rat, NEUROSCIENCE2014 2014年

24 A. YOSHIDA, K. TSUTSUMI, F. SATO, H.  
OHARA, T. KATO, Cerebral cortical  
projections to trigeminal premotoneurons  
controlling jaw-movements,  
NEUROSCIENCE2014 2014年

25 東山亮、加藤隆史、佐藤文彦、矢野博文、  
吉田篤 レム睡眠中の錐体路電気刺激に対  
する開口筋の応答特性 第56回歯科基礎医  
学会学術大会・総会 2014年

26 内野勝郎 東山景一郎 加藤隆史 佐藤文  
彦 山村健介 吉田篤 顎運動に関与する三  
叉神経運動前ニューロンへの大脳皮質一次  
体性感覚野からの投射 第56回歯科基礎医  
学会学術大会・総会 2014年

27 佐藤文彦 加藤隆史 吉田篤 口腔顔面  
感覚の三叉神経感覚核への入力を制御する  
前頭前皮質からの下行投射 第56回歯科基  
礎医学会学術大会・総会 2014年

28 佐藤文彦 加藤隆史 武田理恵子 大原春  
香 藤尾隆史 堤香奈子 内野勝郎 吉田篤  
前頭前皮質から口腔顔面感覚が入力する三  
叉神経感覚核への投射 第36回日本疼痛学  
会 2014年

〔図書〕 なし

〔産業財産権〕 なし

〔その他〕

ホームページ等

[https://www.dent.osaka-u.ac.jp/admission/admission\\_000278.html](https://www.dent.osaka-u.ac.jp/admission/admission_000278.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 文彦 (SATO, Fumihiko)

大阪大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：60632130

### (2) 研究分担者

加藤 隆史 (KATO, Takafumi)

大阪大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号：50367520

(3) 連携研究者

堤 香奈子 (TSUTSUMI, Kanako)  
大阪大学・歯学部附属病院・医員  
研究者番号：20423147

(4) 研究協力者

大原 春香 (OHARA, Haruka)

Yong Chul Bae

Barry J. Sessle