

平成 30 年 5 月 2 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21175

研究課題名(和文) 感覚野興奮波伝播パターン変化を指標とした末梢神経切断・再支配に伴う中枢適応の解析

研究課題名(英文) Changes in the propagating excitation wave pattern on the rat somatosensory cortex after the peripheral nerve denervation and reinnervation

研究代表者

河合 美菜子 (Kawai, Minako)

島根大学・医学部・助教

研究者番号：50710109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：近年、末梢神経障害の急性期に起こる大脳皮質神経活動の変化が研究されているが未だ不明な点が多い。本研究では、我々の独自に開発した光学的多領域膜電位測定装置を使用し、大脳皮質上の神経活動の広がり(興奮波)のパターンを指標として正常時と神経挫滅直後、あるいは神経麻痺およびその後の回復過程における変化を解析した。その結果、挫滅や麻痺などの神経伝達遮断時には特定の領域で興奮波伝播速度が低下し、再支配直後には正常時と比較して過剰な興奮が起こることを明らかにした。これらの結果は、興奮波伝播パターンの変化が末梢神経障害後に起こりうる体性感覚地図の再構成や感覚異常に影響を与える可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：In recent years, although some studies have investigated the acute changes in the neural activity of cerebrum cortex after peripheral nerve disorder, the mechanism underlying this change is poorly understood. In this study, I examined how the spatio-temporal pattern of neural activities changed after peripheral nerve denervation by crush or local anesthesia and reinnervation.

Using our multiple-site optical recording technique, it was shown that the propagating velocity in the specific direction from the initiation site was lower than pre-value after peripheral nerve crush or anesthesia. After nerve recover from anesthesia, this velocity was higher than the pre-value, which implied that the overactivation of nerves in somatosensory cortex was caused immediately after reinnervation. These results suggest that the changes in the propagating excitation wave pattern influence the future reorganization of somatosensory map and sensitization after nerve disorder.

研究分野：神経筋生理学

キーワード：ラット 体性感覚野 光学的多領域膜電位測定 興奮波伝播 末梢神経障害

1. 研究開始当初の背景

神経切断により感覚運動野への入力が遮断されると、脳地図の再編成が引き起こされることが知られている。近年、fMRI など神経活動を可視化する技術の発展により、末梢神経障害に伴う中枢神経系への影響がより詳細に研究されるようになってきている。このような中枢神経系の適応には、正常な神経回路が残存している神経障害直後（数分から数時間以内）に起こる変化^{1,2)}と、新たな神経回路の発達に伴って起こる数日から数週間オーダーの遅い変化³⁾の、少なくとも2つの時間依存性の変化が起こると考えられている。

しかし、末梢神経損傷後の急性期における中枢神経系の神経活動の変化を誘導するメカニズムについては未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

我々の研究室では、40年にわたって独自に開発してきた光学的多領域膜電位測定装置を使用し、ラット大脳皮質の体性感覚野の神経活動を解析している。この装置は、加算処理なしで解析可能な光学シグナルを、ラットの大脳皮質の最大1020か所の部位から同時に、事実上無制限に時間分解能1 msecで連続記録することが可能な性能を有する^{4,5)}。広範囲の大脳皮質上の神経活動を観測することにより、皮膚感覚刺激によって誘発された皮質応答が、まず体性感覚野の脳地図の刺激部位に対応する1点に生じた後、少なくとも体性感覚野全体に波のように伝播する（興奮波と呼ばれる）ことが明らかになった^{6,7)}。

本研究では、この神経回路網の構造と活動を反映する「興奮波伝播パターン」を指標として、末梢神経切断後の急性期および機能回復の初期過程を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

28匹のSDラット（平均体重280g）を、尺骨神経挫滅（UC）群、リドカインを使用した尺骨神経麻痺（UA）群、正中神経挫滅（MC）群、疑似手術（SHAM）群に均等に分けた。麻酔下で、記録中に末梢神経に対して素早く処置を行うため、予め右前肢の皮膚を切開し、筋を傷つけないように尺骨神経または正中神経を露出させた。その後、ラットを脳定位固定装置に固定し、歯科用ドリルで頭蓋骨を削り、硬膜を残したまま左側大脳皮質を露出させた。続いて、硬膜上から濃度0.4 mg/mlの膜電位感受性色素（RH414）で2時間染色し、その後洗浄した。大脳皮質上には、乾燥を防ぐとともに振動に由来するアーティファクトを抑制し、より明瞭な光学シグナルを検出するために、ラットの大脳皮質の曲率に合わせた平凹レンズ⁸⁾を設置した。誘発応答は、右前肢尺側小球への電気刺激（0.5 msec, 1mA）を頻度0.4 Hzで与えて記録した。光学記録は、神経挫滅または麻痺直前（PRE）、

神経挫滅直後または麻痺5分後（T0）、神経挫滅30分後または麻痺からの回復30分後（T30）に実施した。SHAM群については、神経挫滅群と同じタイムコースで挫滅なしに行った。

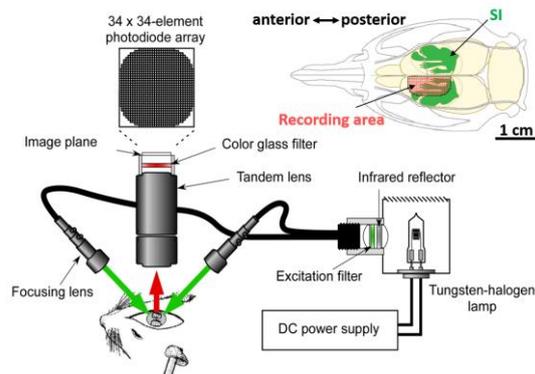


図1. 光学測定装置の概要。

光学的多領域膜電位測定装置（図1）を用いて記録した光学シグナル（図2）は、独自に開発されたソフトウェア⁵⁾を使用して心拍動由来のアーティファクトを除去し、解析を行った。得られた個々の光学シグナルについて、シグナルのピーク振幅と、刺激を与えてからシグナルの振幅がピークの50%に達するまでの時間（応答潜時）を測定した。続いて、各シグナルの応答潜時の時間差から、等時線図を作成し、興奮の伝播速度を算出した。

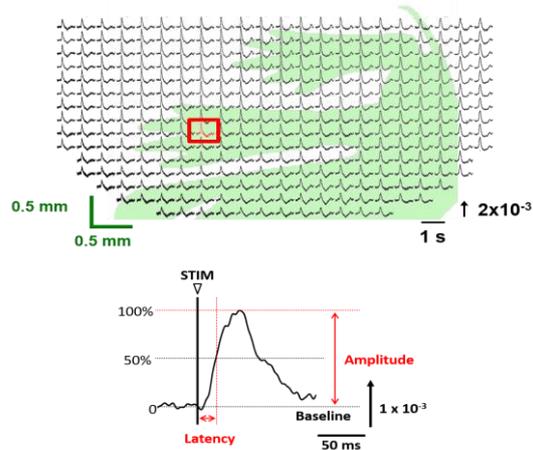


図2. 図1のRecording area内で記録された典型的な波形。上段はUC群PREの記録であり、背景の黄緑色はおよその体性感覚地図を示し、赤線で囲ったシグナルが興奮の起始部である。下段は、興奮の起始部の光学シグナルを拡大したもの。

4. 研究成果

神経挫滅群（UCまたはMC）において、挫滅直後でも小指球への刺激に対して誘発応答が観察された。この刺激部位は、尺骨・正中両神経の重複支配領域であるため、神経挫滅後に現れた誘発応答はUC群では正中神経経由の、MC群では尺骨神経経由の応答である。

まず、記録領域内で刺激を与えてから最も早く応答が現れた部位（興奮の起始部）の光学シグナル波形を比較した。光学シグナルのピーク振幅は、すべての群で T30 での大きさが有意に低下した（図 3A）。SHAM 群でも振幅の低下が観察されたことから、この変化は末梢神経の情報伝達の変化に由来するものではなく、蛍光の退色や色素の流出などが主な要因であると推察される。応答潜時の比較では、UC 群においてのみ、PRE の値と比較して T0、T30 で有意に長くなっていた（図 3B）。また、UA 群において、麻酔 5 分後である T0 で PRE と比較して長くなる傾向にあったが、麻痺からの回復後である T30 では PRE と同等の値まで戻っていた。

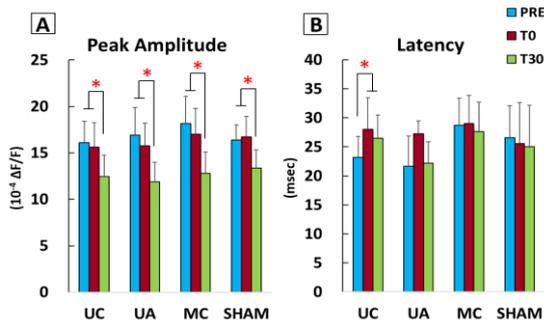


図 3. ピーク振幅 (A, *:P<0.05) と応答潜時 (B, *:P<0.05)

応答潜時の時間差から作成した等時線図による興奮波伝播パターンの比較では、UC 群の T0、T30 でより早い応答を示す範囲（赤色＝応答が最も早く現れた部位との時間差が 5 msec 以内）が狭くなっていた（図 5 左側）。UA 群では、T0 において UC 群と同様により早い応答を示す範囲が狭くなっていたが、T30 では大きく拡大した（図 5 中央）。MC 群（図 5 右側）、SHAM 群では、PRE と T0、T30 の間に大きな違いは見られなかった。

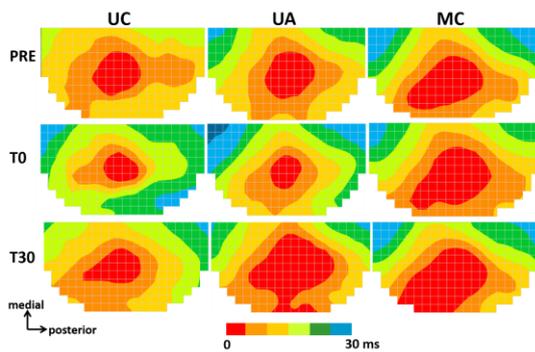


図 5. 等時線図による興奮波伝播パターンの比較

興奮波の伝播速度（図 6）は、興奮の起始部の周囲 4ヶ所（①～④）から算出した数値を比較した。その結果、UC 群で興奮の起始部から後内側方向への伝播速度が神経挫滅直後から有意に低下した（図 6②）。UA 群においても、麻痺 5 分後である T0 では UC 群と同

様に伝播速度が有意に低下したが、麻痺からの回復後である T30 では PRE の値を大きく上回っていた。MC 群および SHAM 群では、いずれの場所でも有意な変化は認められなかった。

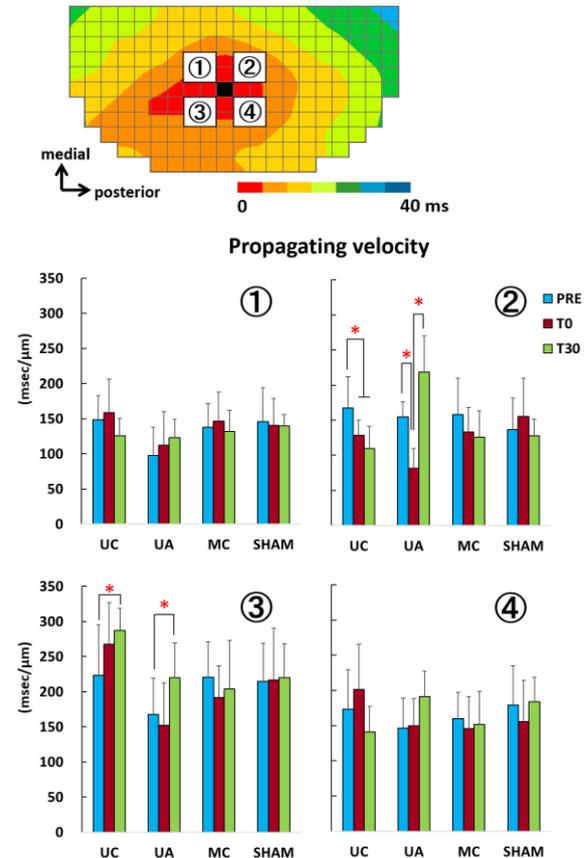


図 6. 興奮の起始部周囲の伝播速度の比較。上図の■が興奮の起始部であり、周囲四ヶ所（①～④）から伝播速度の平均値をそれぞれ算出した。（*:P<0.05）

興奮波の伝播パターンは、尺骨神経を挫滅したとき（つまり正中神経経由になったとき）に変化し、正中神経挫滅（尺骨神経経由）の影響は観察されなかった。このことから、前肢小指球は正常時には尺骨神経が主に感覚情報を伝達し、正中神経経由の応答は尺骨神経の応答に埋没している、あるいは尺骨神経からの抑制を受けている（マスキング経路である）と考えられる。尺骨神経を挫滅し正中神経経由の応答となったときに興奮の起始部から後内側方向への興奮波伝播速度の低下したことは、前肢の体性感覚地図において小指球の周囲から後内側方向が尺骨神経の支配領域であることを考慮すると興味深い現象である。このことは、興奮波伝播が大脳皮質層内の神経間のみで起こる単純な横方向の伝播ではなく、バレル間あるいは皮質よりも下位の神経により制御を受けていることを示唆する。加えて、尺骨神経を麻痺から回復させたときに興奮の起始部から後内側方向への興奮波伝播速度が PRE の値を上回るレベルで上昇したことは、尺骨神経麻痺に

よりアンマスキングされたことで正中神経の活動が亢進し、さらに尺骨神経の回復したことにより小指球への刺激に対して皮質が過剰に興奮したことを暗示する。末梢神経における活動の変化と大脳皮質の興奮波伝播パターンの変化の関係性の解明にはさらなる研究が必要ではあるが、上記のような大脳皮質神経における活動の変化が将来的な体性感覚地図の再構成やアロディニア等の感覚異常を引き起こす可能性が示された。

【引用文献】

- 1) Han Y, Li N, Zeiler SR, Pelled G. *Neurorehabil Neural Repair*. **27**: 664-72, 2013.
- 2) Takeuchi Y, Osaki H, Yagasaki Y, Katayama Y, Miyata M. *eNeuro*. **4(2)**: e0345-16, 2017
- 3) Pelled GI, Chuang KH, Dodd SJ, Koretsky AP. *Neuroimage*. **37**: 262-73, 2007.
- 4) Hirota A, Ito S. *J Physiol Sci*. **56**: 263-266, 2006.
- 5) Hama N, Ito S, Hirota A. *J Neurosci Meth*. **194**: 73-80, 2010.
- 6) Hama N, Ito S, Hirota A. *Neuroscience* **284**: 125-133, 2015.
- 7) Hama N, Kawai M, Ito S, Hirota A. *J Neurophysiol*. doi: 10.1152/jn.00904.2017, 2018.
- 8) Cho YR, Pawela CP, Li R, Kao D, Schulte ML, Runquist ML, Yan JG, Matloub HS, Jaradeh SS, Hudetz AG, Hyde JS. *Magn Reson Med*. **58**:901-9, 2007.
- 9) Kawai M, Hama N, Ito S, Hirota A. *J Physiol Sci*. **64**:445-449, 2014.

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 1 件)

Hama N, Kawai M, Ito SI, Hirota A. Optical study of interactions among propagation waves of neural excitation in the rat somatosensory cortex evoked by forelimb and hindlimb stimuli. *J Neurophysiol*. 2018, doi: 10.1152/jn.00904.2017. (査読有)

[学会発表] (計 11 件)

- ① 河合美菜子, 濱徳行, 伊藤眞一, 廣田秋彦. “Comparison between ulnar nerve crush- and anesthesia-induced acute change in the propagating excitation wave pattern on the rat somatosensory cortex.” 第 95 回日本生理学会大会. 2018 年 3 月 28-30 日, サポートホール高松・高松シンボルトワー (香川県高松市)
- ② 河合美菜子, 濱徳行, 伊藤眞一, 廣田秋彦. “ラットの四肢末梢神経の挫滅後急性期における体性感覚野の刺激応答興奮波伝播

パターンの変化”. 第 80 回日本体力医学会中国・四国地方会. 2017 年 12 月 8, 9 日, 広島工業大学 (広島県広島市)

③ Kawai M, Hama N, Ito S, Hirota A. “Acute change of the propagating excitation wave pattern of the somatosensory cortex in the rat derived from ulnar nerve disorder: comparison between nerve crush and anesthesia.” 第 40 回日本神経科学大会. 2017 年 7 月 20-23 日, 幕張メッセ (千葉県千葉市)

④ 河合美菜子, 濱徳行, 伊藤眞一, 廣田秋彦. “Acute effect of the median or ulnar nerve crush on the propagating excitation wave pattern of the somatosensory cortex in the rat”. 第 94 回日本生理学会大会. 2016 年 3 月 28-30 日, アクトシティ浜松 (静岡県浜松市)

⑤ 河合美菜子, 濱徳行, 伊藤眞一, 廣田秋彦. “神経挫滅後急性期のラット体性感覚野興奮波伝播パターンの変化: 正中神経挫滅と尺骨神経挫滅の比較”. 第 68 回日本生理学会中国四国地方会. 2016 年 11 月 5, 6 日, 岡山大学 (岡山県岡山市)

⑥ Kawai M, Hama N, Ito S, Hirota A. “Acute changes due to the ulnar and median nerve crush in the propagation pattern of the excitation wave in the rat somatosensory cortex.” 第 39 回日本神経科学大会. 2016 年 7 月 20-22 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

⑦ 河合美菜子, 濱徳行, 伊藤眞一, 廣田秋彦. “Acute changes in the propagating excitation wave pattern on the rat somatosensory cortex.” 第 93 回日本生理学会大会. 2015 年 3 月 22-24 日, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)

⑧ 河合美菜子, 濱徳行, 伊藤眞一, 廣田秋彦. “ラットの尺骨神経挫滅後急性期における体性感覚野の興奮波伝播パターンの変化”. 第 76 回日本体力医学会中国・四国地方会. 2015 年 11 月 21, 22 日, 高知大学 (高知県高知市)

⑨ 河合美菜子, 濱徳行, 伊藤眞一, 廣田秋彦. “ラットの尺骨神経挫滅後急性期における感覚野興奮波伝播パターンの変化”. 第 67 回日本生理学会中国四国地方会. 2015 年 10 月 24, 25 日, 米子コンベンションセンター (鳥取県米子市)

⑩ Hama N, Kawai M, Ito S, Hirota A. “Effects of excitation wave induced by forelimb stimulation on the propagation pattern of excitation wave induced by hindlimb stimulation in the rat sensorimotor cortex recorded with an optical recording system.” The 45th Annual Meeting of Society for Neuroscience. 2015 年 10 月 17-21 日, McCormick Place (Illinois, USA)

⑪ 濱徳行, 河合美菜子, 伊藤眞一, 廣田秋

彦. “Analysis of the effects of excitation wave induced by forelimb stimulation on the initiation time and the propagation pattern of excitation wave induced by hindlimb stimulation in the rat sensorimotor cortex recorded with an optical recording system.” 第38回日本神経科学大会. 2015年7月28-31日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河合 美菜子 (KAWAI, Minako)

島根大学・医学部・助教

研究者番号：50710109

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()