

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21387

研究課題名(和文) 感覚神経損傷に伴う大脳皮質受容野の変容動態の時空間的解明

研究課題名(英文) The activation of nociceptive pathway and the preserved tactile pathway after sensory nerve injury

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) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：末梢神経損傷によって中枢神経回路の改編が起きるが、本研究ではその改編過程を観察し、どの回路が改編もしくは活性化されているのかを調べた。その結果、末梢神経損傷により大脳皮質の痛覚受容に關与する領域が活性化していた。一方で、遺伝子改変マウス(Krox20-Ai32)を用いて触覚経路のみを選択的に刺激し、大脳皮質の活動領域を可視化することにより、末梢神経が損傷されても中枢側の経路は退縮せずに残存していた。これらの結果は腕を失った場合に、腕の感覚が残存し続ける「幻肢」、さらに痛みが加わる「幻肢痛」のメカニズムに迫る知見であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Peripheral nerve injury modifies the ascending neural pathway. To identify the modified pathway, in vivo intrinsic signal imaging system and a transgenic mouse (Krox20-Ai32) were used. The Krox20-Ai32 mouse expresses channel-rhodopsin (ChR2) selectively in the maxillary region of the principal trigeminal nucleus. By using this mouse, the whisker sensory related area in the primary somatosensory cortex (S1), known as barrel field, can be activated. There was no difference in the sizes of barrel field before and after whisker sensory nerve transection. This means that the tactile pathway into the cortex is preserved. It is also known that the threshold of nociceptive response becomes lower after nerve injury. By using the intrinsic signal imaging, the activation of the nociceptive responsive area in S1 was observed after nerve injury. This means peripheral nerve injury activated nociceptive pathway. These results suggest that the basic mechanism of "phantom limb pain".

研究分野：神経生理学

キーワード：イメージング 視床 大脳皮質 神経損傷 触覚 痛覚

1. 研究開始当初の背景

(1) 末梢神経が障害され、感覚入力に遮断されると中枢神経系の回路の改編が起きることが知られている (Takeuchi *et al.*, 2012)。この改編は単に感覚入力に遮断された経路が退縮する現象に留まらず、大脳皮質レベルでの受容野の大幅な移動など様々なことが引き起こされる。切断により失ったはずの手足が痛む難治性の病態である幻肢痛は、こうした大脳皮質での受容野が大きく変容するほど発症しやすいことが知られている (Flor, 2002)。そのため、幻肢痛をはじめとする中枢性難治性疼痛のメカニズムの理解のためには、損傷神経の上位中枢である大脳皮質の受容野の変容動態を理解する必要がある。

(2) また近年、再生医療技術の進歩を背景に、末梢受容器を再生させることで視覚・聴覚等の失った感覚を取り戻す試みが数多く為されるようになってきた。しかし、一度失った感覚経路は従前の状態で保存されているとは限らず、中枢神経系で何らかの再編を経て残存している可能性がある。再編の様式・程度によって、末梢器官再生後の機能予後の良・不良が影響を受けることが予想されるため、損傷神経の上位中枢神経の受容野がどのような形で残存しているのかについて動物実験レベルで評価しておく必要がある。

2. 研究の目的

本研究では感覚入力を失った損傷経路の中枢側がどのように残存しているのかを動物実験レベルで詳細に調べることを目的とした。それによって、(1) 中枢性難治性疼痛である幻肢痛のメカニズムを解明に繋げ、(2) また再生医療技術等によって再生された感覚入力に中枢でどのように処理されているのかを光遺伝学的手法を組み合わせる明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 大脳皮質一次体性感覚野 (S1) の受容野改編過程を経時的に観察するため、非侵襲的に脳活動を繰り返し計測可能な内因性シグナルを用いたイメージングシステムを作成した。

(2) ヒゲ感覚神経である三叉神経第二枝を生体吸収性糸により結紮した。刺激には、ピエゾ素子を用いた触覚刺激装置を用いて、末梢神経損傷前と損傷後の脳機能マップを比較した。

(3) ヒゲ感覚由来の三叉神経核 (PrV2) 特異的にチャンネルロドプシン (ChR2) を発現したマウス (Krox20-Ai32 マウス) を作成し、ヒゲ感覚由来の三叉神経を切断したマウスの中枢側の神経回路がどのように改編されているのかを光刺激により確認した。

4. 研究成果

(1) まず、経頭蓋的に活動領域を可視化することが出来る *in vivo* 内因性シグナルイメージングにより、ヒゲ刺激時において S1 バレル野が活動することを確認し、その動物において、三叉神経第二枝 (ヒゲ感覚神経) を結紮により障害させた。その際、生体吸収性縫合糸を用いて結紮することで障害時のみならず、回復時の活動も含めて S1 領域の活動を調べた。

その結果、末梢神経障害時にはバレル野の活動が消失していたが、Dysgranular 領域の活動が上昇していた。そして結紮していた糸が溶解し張力が失われた際には、再びバレル野の活動が回復した。

この末梢神経障害時における Dysgranular 領域の活動上昇は、ヒゲ刺激のみならず、環境エンリッチ条件における自由行動下の動物においても神経活動マーカーである c-Fos による免疫組織化学染色を用いて確認した。

末梢神経障害時には疼痛閾値が低下するなどの痛覚受容が変化することが知られている。そこで、これまで機能が明らかにされていない Dysgranular 領域が痛覚受容に関与している可能性を調べるため、ヒゲ袋に疼痛物質であるカプサイシンを注入し、c-Fos による免疫組織化学染色を用いて大脳皮質の活動上昇領域を調べた。その結果、Dysgranular 領域の4層において有意に活動の上昇が観察された ($P < 0.001$) (図1)

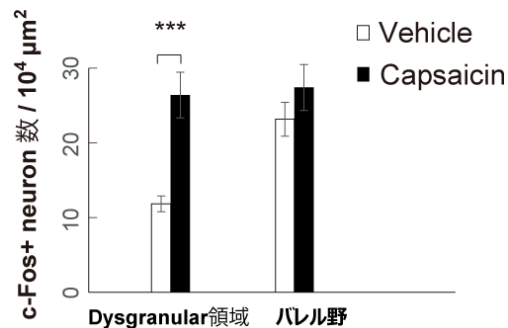


図1 カプサイシンによって c-Fos を発現した神経細胞数の比較

これらの結果は、視床から dysgranular 領域への投射経路の活動が上昇していることを示唆している。そこで、神経トレーサーを用いて dysgranular 領域へ投射する視床核を調べるため、逆行性トレーサーを Dysgranular 領域へ、順行性トレーサーを視床にそれぞれ注入する実験を行った。Dysgranular 領域は視床後内側核 (Pom 核) からの投射を受けていた (図2)。Pom 核は、傍内側毛帯路に属し、末梢からの痛覚情報の伝達にも関わることが知られている (Frangeul *et al.*, 2014)。

Dysgranular領域

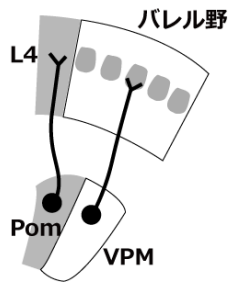
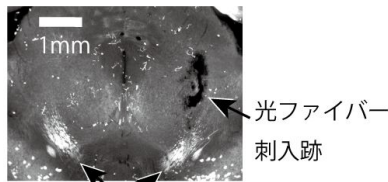


図 2 神経トレーサーによって確認された神経経路 (VPM: ventroposterior nucleus)

末梢神経障害により疼痛閾値が低下し、疼痛行動を示すといった行動変容が起きる。これらの研究結果は、こうした行動変容に視床 Pom 核から大脳皮質 dysgranular 領域の経路の活動上昇が関連していることを示唆している。これは切断等により失ったはずの腕があたかも存在するように感じる「幻肢」に痛みが加わり「幻肢痛」に変化するメカニズムに迫る上で重要な知見と言える。

(2) 次に、切断等により失ったはずの腕があたかも存在するように感じる「幻肢」のメカニズムに迫ることを目的として、感覚入力を失った神経経路がどのように残存しているのかを明らかにする研究を進めた。光遺伝学的手法により経路選択的に刺激するため、Krox20-Ai32 マウス作成した (図 3)。



ChR2 を発現したヒゲ由来内側毛帯路

図 3 ChR2 を発現した内側毛帯路直上に光ファイバー留置し、刺激した個体の還流後脳切片

このマウスはヒゲ由来の三叉神経主知覚核 (PrV2) 特異的に ChR2 を発現しており、ヒゲ感覚神経 (三叉神経第二枝) を遮断しても、中枢側のヒゲ感覚経路を光によって選択的に活動を引き起こすことが出来る (図 4)。

三叉神経第二枝を切断した成獣の Krox20-Ai32 マウスのヒゲ経路を光刺激によって活動させ、大脳皮質のバレル野の活動がどのように変化するかを調べた。その結果、当初縮小すると予測されていたバレル野の活動領域は、in vivo 内因性シグナルを用いた実験で、切断後 1 週目において縮小は観察されなかった。さらに光刺激に対する活動性の変化を定量的に評価するため、in vivo 細胞外多チャンネル記録法を用いて、電気生理学的に検証した結果においても活動の減弱は観察されず、末梢神経が障害され感覚入力

が遮断されても維持されていることが分かった。

これらの結果は、一旦形成された成熟回路が維持されるように (Narushima *et al.*, 2016)、たとえ感覚入力を失っても残存経路を維持する何らかの機構が働いていることを示唆している。

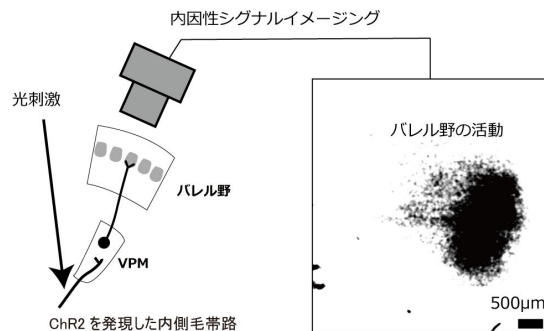


図 4 ヒゲ領域選択的に ChR2 を発現した内側毛帯路を光刺激し誘発されたバレル野の活動領域

<引用文献>

- Flor, H. (2002) Phantom-limb pain: characteristics, causes, and treatment. *Lancet Neurol*, **1**, 182-189.
- Frangoul, L., Porrero, C., Garcia Amado, M., Maimone, B., Maniglier, M., Clascá, F., & Jabaudon, D. (2014) Specific activation of the paralemnisal pathway during nociception. *European Journal of Neuroscience*, **39**, 1455-1464.
- Narushima, M., Uchigashima, M., Yagasaki, Y., Harada, T., Nagumo, Y., Uesaka, N., Hashimoto, K., Aiba, A., Watanabe, M., Miyata, M., & Kano, M. (2016) The Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 1 Mediates Experience-Dependent Maintenance of Mature Synaptic Connectivity in the Visual Thalamus. *Neuron*, **91**, 1097-1109.
- Takeuchi, Y., Yamasaki, M., Nagumo, Y., Imoto, K., Watanabe, M., & Miyata, M. (2012) Rewiring of Afferent Fibers in the Somatosensory Thalamus of Mice Caused by Peripheral Sensory Nerve Transection. *The Journal of Neuroscience*, **32**, 6917-6930.

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)

Yuichi Takeuchi, Hironobu Osaki, Yuki Yagasaki, Yoko Katayama, Mariko Miyata, Afferent fiber remodeling in the

somatosensory thalamus of mice as a neural basis of somatotopic reorganization in the brain and ectopic mechanical hypersensitivity after peripheral sensory nerve injury.

eNeuro 23 March 2017, 4(2),0345-16 頁, 査読あり

DOI:<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0345-16.2017>

〔学会発表〕(計6件)

Osaki Hironobu, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko,

Dysgranular area in somatosensory cortex of mice represents nociceptive information Neuroscience 2017 (Society for neuroscience, Washington, DC, United States)、2017年

尾崎弘展, 植田禎史, 福井敦, 宮田麻理子, 大脳体性感覚野 dysgranular 領域は傍内側毛帯経路を介して痛覚の体部位情報を表現する、第40回日本神経科学大会、2017年

Osaki Hironobu, Ueta Yoshihumi, Miyata Mariko,

The dysgranular area of somatosensory cortex represents nociceptive 第94回日本生理学会大会、2017年

Hironobu Osaki, Yoshifumi Ueta, Miyata Mariko,

The activation of paralemniscal pathway following the whisker sensory nerve injury、第39回日本神経科学大会、2016年

Osaki Hironobu, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko,

Enhanced activity of specific pathway following the whisker sensory nerve injury 1st International Symposium on Embodied-Brain Systems Science、2016年

尾崎弘展, 植田禎史, 宮田麻理子

In vivo imaging of cortical map remodeling in a mouse model for peripheral nerve injury

第93回日本生理学会大会、2016年

〔図書〕(計1件)

尾崎弘展, 宮田麻理子、一次体性感覚野の変容過程、Clinical Neuroscience、35,2,163-5頁、中外医学社 2017年

〔その他〕

ホームページ等
東京女子医科大学医学部生理学(第一)ホームページ業績欄
<http://www.twmu.ac.jp/Basic/physiol1/publication.html>

(1)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