

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10058

研究課題名(和文)"痛み"認知における,高次視床核を介した大脳皮質シンクロ活動の関与と除痛への応用

研究課題名(英文) Involvement of cortical synchronous activity via higher-order thalamic nuclei in "pain" perception and its application to pain relief

研究代表者

倉本 恵梨子 (Kuramoto, Eriko)

鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教

研究者番号：60467470

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高次視床核の一つである後核群が、体性感覚野で処理される識別感覚と、島皮質で処理される不快感という、分割された2種類の情報を統合することで、“痛み”の認知を生じるという仮説を検証する。

2種類のアデノ随伴ウイルスを用いて、マウス三叉神経脊髄路核から視床を経て大脳皮質に至る神経経路を選択的に標識し、その結果、少なくとも2種類の経路が存在することを発見した。さらに、マウスの三叉神経脊髄路核に光活性化チャネル(ChR2)を発現するアデノ随伴ウイルスを感染させ、これを刺激するためのLEDと、神経活動を記録するための電極の埋入を行い、光刺激によりマウスに痛み関連行動を誘発することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来から、視床は、末梢感覚を大脳皮質に伝える中継場所と考えられていた。そのため痛覚研究の多くが、視床を情報伝達の中継地点として捉えた研究である。しかし視床は大脳皮質と強く相互結合していることから、認知機能においては、大脳皮質だけでなく視床も含めた回路として考える必要がある。

最近、連合皮質と相互結合している高次視床核は、情報を中継するだけでなく、皮質間のシンクロ活動を促進し、認知・記憶などの高次脳機能を実現しているという報告がなされ、注目を集めている。本研究が遂行されれば、高次視床核の新たな機能が明らかになり、また、慢性疼痛の治療法の選択肢の幅が広がることで、社会に大きく貢献できる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we test the hypothesis that the posterior nucleus, one of the higher-order thalamic nuclei, produces the perception of "pain" by integrating two types of segmented information: discriminative sensation processed in the somatosensory cortex and unpleasant sensation processed in the insular cortex.

Using two types of adeno-associated viruses, we selectively labeled neural pathways from the spinal trigeminal nucleus of the mice through the thalamus to the cerebral cortex, and found that at least two pathways existed. Furthermore, we infected the spinal trigeminal nucleus of the mice with adeno-associated virus vectors expressing a light-activated channel (ChR2) and implanted an LED to stimulate it and an electrode to record neural activity, and were able to induce pain-related behaviors in mice by light stimulation.

研究分野：神経解剖

キーワード：高次視床核 視床後核群 大脳皮質体性感覚野 島皮質 痛覚

1. 研究開始当初の背景

“痛み”は、身体のどこが・どのように、という識別性の感覚を生じるだけでなく、不快な感覚を伴う。“痛み”が不快であるがゆえに、生体は危険を回避し、傷害を受けた場合は安静にして治癒に努める。しかし、創傷が治癒した後にも残存する“痛み”は、本来の役割を失った、治療すべき対象となる。

“痛み”を感じている人の脳機能イメージングでは、視床、そして大脳皮質の、特に体性感覚野と島皮質が活発な活動を示す (Qiu et al., 2006)。体性感覚野で処理される識別感覚と、島皮質で処理される不快感という、分割された2種類の情報が、再び一つに統合されることで“痛み”の認知が生じると考えられているが、そのメカニズムは未だ不明である。

最近、異なる大脳皮質間の情報を統合し、認知・学習といった高次脳機能を実現するメカニズムとして、異なる皮質のニューロン群の、シンクロナイズした活動が注目されている (Keppler, 2018)。また、この皮質間のシンクロ活動の惹起には、視床核の活動が必要であるという報告もある (Saalmann, 2014)。

申請者は、視床から大脳皮質への軸索投射について、単一細胞レベルで形態解析を行ってきた。そして大脳皮質 連合野と強く相互結合している高次視床核の後部ニューロンが、複数の皮質領野に同時に軸索投射することを解明した (Kuramoto et al., 2015, 2017a,b)。この形態学的特性は、離れた皮質のニューロン群を同じタイミングで発火させ、シンクロ活動を誘発するのに適している。さらに、高次視床核の後部 Po (posterior nucleus) ニューロンが体性感覚野と島皮質の両方に軸索投射することから (Ohno, Kuramoto et al., 2012)、後部 Po が体性感覚野と島皮質のシンクロ活動を誘発し、“痛覚”の情報統合・認知を担っている、という仮説を立てた (図1)。



図1. 本研究の仮説
後部 PO を介したシンクロ活動が“痛み”の認知を生じる

2. 研究の目的

本研究課題の問いは、「体性感覚野の識別感覚と島皮質の不快感という、分割して処理された2つの情報を統合し、一つの“痛み”認知を生じるメカニズムは何か？」である。情報を統合するメカニズムとして、高次視床核の後部 Po の活性化が、体性感覚野と島皮質のシンクロ活動を誘発し、そして、この大脳皮質のシンクロ活動が“識別感覚と不快感を統合する鍵となり、痛み”認知を生じるのではないかと仮説を立てて (図1) 研究を実施した。

3. 研究の方法

(1) 頭頸部の痛みを受容する三叉神経から大脳皮質に至る神経経路を形態学的に解析する。

頭頸部の痛みを伝える三叉神経は、主に三叉神経脊髄路核の第 I 層および第 II 層に入力するとされる。マウスの口唇に痛み刺激 (ホルマリン液を皮内注入) を与えることで、実際に三叉神経脊髄路核の第 I 層および第 II 層の神経細胞が活性化することを、神経活性化マーカーの c-fos の免疫染色にて確認した。次に、三叉神経脊髄路核から、さらに視床を介して大脳皮質へと至る経路を可視化することにした。三叉神経脊髄路核の第 I 層と第 II 層のニューロンは介在ニューロンがほとんどで、上行性に投射するニューロンは数が少なく、従来からよく使用されている BDA などの順行性トレーサーでは、投射ニューロンを可視化するのが難しい。そこで、アデノ随伴ウイルスベクター (AAV) を用いて、神経経路選択的に標識した。Cre 発現 AAV と、Cre 依存性 GFP 発現 AAV、2 種類の AAV を組み合わせてマウスの脳内に注入し、三叉神経脊髄路核の投射ニューロンに 2 種類の AAV を共感染させることで、神経経路選択的な標識を行った。そして、仮説の通りに、視床核の後部 Po に、軸索投射が観察されるかどうかを、解析した。

(2) 頭頸部の痛みを伝える神経経路を光遺伝学的に刺激して、大脳皮質において局所電位を記録する。

マウスの三叉神経脊髄路核に、ChR2 (光活性化チャネル) を発現する AAV を注入する。三叉神経脊髄路核の直上に、573 nm で発光する小型 LED (直径 2 mm) を埋入し、電源供給のためのコネクタをマウスの頭蓋に固定した。さらに、局所電位を記録するための電極を大脳皮質第一次体性感覚野、第 2 次体性感覚野、島皮質に設置し、ケーブルを接続するためのコネクタをマウス頭蓋に固定した。ウイルス注入と電極の埋入から 2 週間後に、三叉神経脊髄路核の光刺激と、局所電位記録を行った。

4. 研究成果

(1) 頭頸部の痛みを受容する三叉神経から大脳皮質に至る神経経路を形態学的に解析する。

マウスの口唇に痛み刺激を与え、三叉神経脊髄路核のニューロンが活性化するかどうか、c-fos の免疫染色で確認する。

マウスの口唇の皮内にホルマリンを注入した直後から30分後までマウスの行動を観察した。コントロールとして、生理的食塩水を注入した。その結果、コントロールと比較して、ホルマリン注入群では、マウスが口唇をめぐり行動を有意に長く行うことが分かった。口唇をめぐり行動は、痛みに関連していることが知られているため、ホルマリン注入によりマウスは痛みを感じていると推測された。ホルマリン注入から1時間後にマウスを固定し、三叉神経脊髄路核において、c-fos の免疫反応性を観察した。その結果、コントロールに比べてホルマリン注入群で、三叉神経脊髄路核の第I層と第II層におけるc-fos陽性細胞数が有意に増加していることが確認できた(図2)。また、昼間よりも、夜間の方が、ホルマリン注入に対する痛み関連行動やc-fos免疫反応性が増強することも明らかになった。この研究成果は、論文発表した(Niiro et al., 2021)。

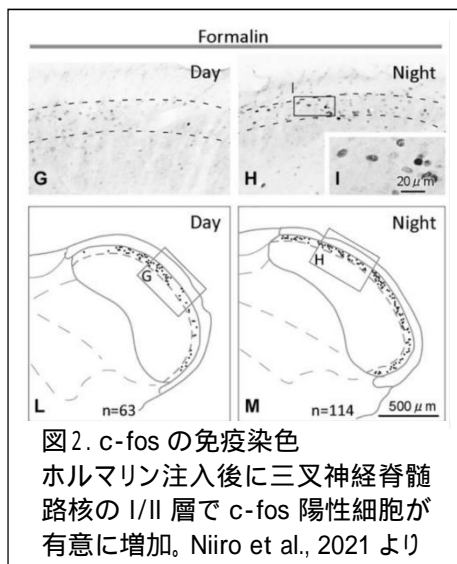


図2. c-fos の免疫染色
ホルマリン注入後に三叉神経脊髄路核のI/II層でc-fos陽性細胞が有意に増加。Niiro et al., 2021 より

マウス三叉神経脊髄路核から視床の後部Poを介して大脳皮質の痛覚関連領野へと至る神経経路が存在するかどうか、形態学的に解析する。

三叉神経脊髄路核は吻側から、吻側亜核、中間亜核、尾側亜核、の3つの亜核に分類される。このうち中間亜核と尾側亜核に上行性の投射ニューロンが存在する。そこで、この2つの亜核の投射ニューロンをターゲットとしてAAVにより標識した。その結果、それぞれの亜核は、オーバーラップがあるものの、それぞれ好んで投射する視床核が異なることが明らかとなった。つまり、中間亜核からは視床のPo, VPM(medial part of ventroposterior nucleus)に強い軸索投射が観察され、また、Sm(submedial nucleus)にも投射がみられたのが特徴的であった。尾側亜核からは、PoT(Triangular part of Po), Pf(Parafascicular nucleus), MD(mediodorsal nucleus), VPPC(parvocellular part of VP)といった視床核に強い軸索投射が観察された。

さらに、視床核から大脳皮質への投射軸索の形態を解析するため、越シナプス性のAAVを用いて、三叉神経脊髄路核から入力を受ける視床ニューロンを標識した。その結果、中間亜核から軸索投射を受ける視床Po, VPMのニューロンは、軸索を大脳皮質の第1次そして第2次体性感覚野に投射していた。一方、尾側亜核から軸索投射を受ける視床PoTニューロンは、軸索を第2次体性感覚野と島皮質に投射していた。つまり、三叉神経脊髄路核の尾側亜核と、中間亜核は、少しオーバーラップをしているものの、それぞれ異なる視床核を介して、異なる大脳皮質へ軸索投射することが示唆された。以上の結果を図3にまとめる。

第2次体性感覚野は、体部位局在が存在することが報告されている。また、島皮質は、不快感との関連が報告されている。そのため、三叉神経尾側亜核から視床PoTを経由して、第2次体性感覚野と島皮質の2つの領野が同時に活性化し、シンクロすると、どこで痛みが発生していて、それがどのように不快か、という認知につながる可能性が示唆された。

(2) 頭頸部の痛みを伝える神経経路を光遺伝学的に刺激して、大脳皮質において局所電位を記録する。

これまでの結果から、マウスの三叉神経尾側亜核の方が、中間亜核よりも痛覚情報に特化していることが示唆されたため、尾側亜核を光遺伝学で刺激することを試みた。尾側亜核のニューロンにChR2を発現させて、LEDでChR2を活性化することで、マウスに痛みに関連した口唇めぐり行動を引き起こすことができた。しかしながら、手術の成功率が低く、局所電位を安定して記録するまでには至らなかった。今後、手術方法を改良して局所電位の記録を試みる。

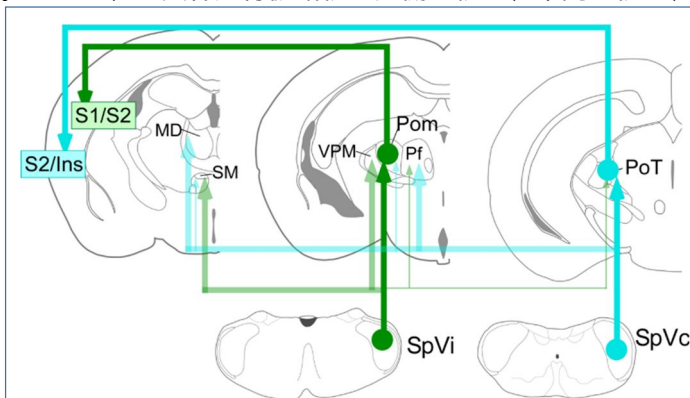


図3. 三叉神経脊髄路核から大脳皮質に至る神経経路
三叉神経脊髄路核の中間亜核(SpVi; 緑色の線)と尾側亜核(SpVc; 青色の線)から、視床核を経て、大脳皮質(Ins, 島皮質; S1・S2, 第1次・第2次体性感覚野)へと至る経路が、AAVの注入実験により明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kuramoto Eriko, Tanaka Yasuhiro R., Hioki Hiroyuki, Goto Tetsuya, Kaneko Takeshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Local Connections of Pyramidal Neurons to Parvalbumin-Producing Interneurons in Motor-Associated Cortical Areas of Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eNeuro	6. 最初と最後の頁 567
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/ENEURO.0567-20.2021	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 倉本恵梨子	4. 巻 6
2. 論文標題 遺伝子工学を用いた神経結合の可視化	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 臨床神経科学	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Eriko Kuramoto	4. 巻 100
2. 論文標題 Method for Labeling and Reconstruction of Single Neurons Using Sindbis Virus Vectors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Neuroanatomy	6. 最初と最後の頁 101648
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jchemneu.2019.05.002.	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 -
1. 著者名 後藤哲哉、千堂良造、岩井治樹、倉本恵梨子、山中淳之	4. 巻 8
2. 論文標題 三叉神経節の神経-免疫系システム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 別冊BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 137-142
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Ayako Niiro, Sachi N Ohno, Kanae A Yamagata, Kazuaki Yamagata, Kazuo Tomita, Eriko Kuramoto, Yoshiaki Oda, Takahiro J Nakamura, Wataru Nakamura, Mitsutaka Sugimura	4. 巻 -
2. 論文標題 Diurnal Variation in Trigeminal Pain Sensitivity in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Neurosci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2021.703440.	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 Shirakawa Y, Ohno SN, Yamagata KA, Kuramoto E, Oda Y, Nakamura TJ, Nakamura W, Sugimura M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Circadian rhythm of PERIOD2::LUCIFERASE expression in the trigeminal ganglion of mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Front Neurosci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2023.1142785.	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 Tetsuya Goto, Eriko Kuramoto, Ayano Kitawaki	4. 巻 15
2. 論文標題 A novel system to analyze oral frailty of mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Aging (Albany NY)	6. 最初と最後の頁 2362-2363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/aging.204568.	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 -

1. 著者名 Eriko Kuramoto, Ayano Kitawaki, Takakazu Yagi, Hiroshi Kono, Shin-Ei Matsumoto, Hiromitsu Hara, Yasumasa Ohyagi, Haruki Iwai, Atsushi Yamanaka, Tetsuya Goto	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of a system to analyze oral frailty associated with Alzheimer's disease using a mouse model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Aging Neurosci	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnagi.2022.935033.	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 R Sonoda, E Kuramoto, S Minami, S E Matsumoto, Y Ohyagi, T Saito, T Saido, K Noguchi, T Goto	4. 巻 -
2. 論文標題 Reduced Autophagy in Aged Trigeminal Neurons Causes Amyloid Diffusion	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Dent Res .	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/00220345231156095.	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8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 倉本恵梨子
2. 発表標題 神経細胞の可視化技術と解析法の紹介
3. 学会等名 第127回 日本解剖学会総会・全国学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福島 慎, 倉本 恵梨子, 千堂 良造, 岩井 治樹, 山中 淳之, 杉村 光隆, 後藤 哲哉
2. 発表標題 逆行性トレーサーと組織透明化技術の組み合わせによるラット三叉神経節の三次元体部位局在の解明
3. 学会等名 合同大会; 第126回 日本解剖学会総会・全国学術集会 第98回 日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北脇 綾乃, 江崎 治喜代, 小田 陽菜乃, 勝山 晃生, 木下 輝樹, 須佐 愛, 谷口 諒圭, 倉本 恵梨子, 齋藤 充, 河野 博史, 八木 孝和, 松本 信英, 原 博満, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉
2. 発表標題 アルツハイマー病モデルマウス 3xTg-AD の三叉神経系における病理所見と咀嚼運動についての研究
3. 学会等名 合同大会; 第126回 日本解剖学会総会・全国学術集会 第98回 日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 倉本恵梨子、齋藤充、八木孝和、Ashis Dhar, 岩井治樹、山中淳之、松本信英、原博満、後藤哲哉
2. 発表標題 アルツハイマー病モデルマウスの三叉神経核で認められた神経病理と、その咀嚼機能に対する影響について
3. 学会等名 第13回 三叉神経領域の感覚 運動統合機構研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eriko Kuramoto, Hajnelka Bokor, Nora Hadinger, Emilia Bosz, Boglarka Toth, Csaba David, Gergely Komlosi, Gordon Shepherd,
2. 発表標題 Distinct functional and morphological properties of the frontal and parietal layer 5 corticothalamic pathways.
3. 学会等名 Gordon Research Conference, "Thalamocortical Interaction" (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 倉本恵梨子、柏谷英樹、大野幸、岩井治樹、山中淳之、後藤哲哉
2. 発表標題 頭頸部の侵害性感覚受容に関わるマウス三叉神経系について、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた研究
3. 学会等名 第128回 日本解剖学会 全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 倉本恵梨子、岩井治樹、山中淳之、後藤哲哉
2. 発表標題 アデノ随伴ウイルスベクターを用いた、三叉神経脊髄路核から視床に投射するニューロンの特異的標識と光活性化
3. 学会等名 第64回 歯科基礎医学学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 後藤哲哉、倉本恵梨子、北脇綾乃、河野博史、松本信英、原博満、八木孝和、大八木保政、岩井治樹、山中淳之
2. 発表標題 アルツハイマー病モデルマウスを使った口腔フレイル解析システムの開発
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会 第37回日本老年精神医学会 合同開催
4. 発表年 2022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
研究分担者	大野 幸 (Ohno Sachi) (00535693)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師 (17701)	
研究分担者	後藤 哲哉 (Goto Tetsuya) (70253458)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授 (17701)	
研究分担者	柏谷 英樹 (Kashiwadani Hideki) (70328376)	鹿児島大学・医歯学域医学系・講師 (17701)	
研究分担者	杉村 光隆 (Sugimura Mitsutaka) (90244954)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授 (17701)	

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
---------	---------