

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07285

研究課題名（和文）大脳皮質運動野から体性感覚野への投射回路の除痛効果の解明

研究課題名（英文）Effects of projection circuits from motor cortex to somatosensory cortex on pain reduction

研究代表者

尾崎 弘展 (Osaki, Hironobu)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号：30747697

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）：痛みの感覚成分である痛覚は、大脳皮質一次体性感覚野内の、触覚とは異なる領域で主に処理されている。げっ歯類マウスにおいて、触覚は大脳皮質第4層である顆粒細胞層が発達したgranular領域で処理されるが、痛覚はその隣に位置し第4層の厚みが減少するdysgranular領域で処理されること、dysgranular領域は痛覚に基づく逃避行動の誘発に重要な役割を担っていることを報告した。さらに運動情報との相互作用を調べるため、運動時の大脳皮質の活動を広範囲で観察できるカルシウムイメージングシステムを構築し、運動野・体性感覚野の活動を運動中に観察し、運動関連の神経活動を捉えることにも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みは身体に生じた損傷等を知らせるシグナルの役割を担っている。しかし、痛みは脳内の様々な領域で処理され、各領域において修飾され、痛みとして表出するため、痛みの程度は損傷の程度と必ずしも一致しない。本研究では、痛みが体性感覚野のどの部位で選択的に処理され、逃避行動の誘発に関与するのかを示し、さらに運動による除痛効果の解明に不可欠な新たな行動観察システムを構築し実用化した。本システムを用いて、運動中の神経活動を広範囲に観察可能となったことにより、痛みが運動中にどのように修飾されるのかを詳細に観察でき、今後、運動と痛みの関連の解明に役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：In the somatosensory cortex, nociceptive information, which is the sensory component of pain with information about "where" and "how" the body hurts, is primarily processed in the region that is distinct from tactile information. In rodent mice, we reported that tactile information is mainly processed in the granular area of the somatosensory cortex. Conversely, nociceptive information is processed in the dysgranular region, characterized by a reduced thickness of layer 4. Furthermore, the dysgranular region plays a crucial role in inducing escape behaviors based on pain sensation. To further investigate the interaction with motor information, we developed a calcium imaging system that allow us to observe cortical activity extensively during locomotion in rodent mice. Using this system, we successfully captured activity motor-related neural activity in the motor and somatosensory cortices during locomotion.

研究分野：神経生理学

キーワード：運動 痛み

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 痛みは、その内容から主に感覚成分と情動成分など様々な要素から構成されている。身体の「どこ」が「どのような」に痛いという情報を持つ、痛みの感覚成分である痛覚は、体性感覚の一部でもあり、他の体性感覚の触覚と同様に末梢で受容され大脳皮質体性感覚中枢である大脳皮質体性感覚野へと伝達される。痛覚と触覚は異なる経路を辿って中枢へ伝達されることは分かっていた (Frangeul et al., 2014) が、大脳皮質体性感覚野における処理の相違については十分に解明されていなかった。これまでの我々の研究から、体性感覚野内では、触覚と痛覚が異なる領域で主に処理されており、触覚は視床からの入力を受容する大脳皮質第4層である顆粒細胞層 (granular layer) が発達した granular 領域、痛覚はその隣に位置し第4層の厚みが減少する dysgranular 領域で処理されることが示唆されていた。

(2) 我々は、以前、大脳皮質運動野の損傷により触覚等の感覚障害が引き起こされうることを実験的に示した (Fukui et al., 2020)。このように触覚や深部感覚は、手や足といった運動器の運動情報や位置情報と密接に連携している。痛覚情報もまた運動情報と、様々な神経回路レベルで連携している可能性が高いと考えられる。また、大脳皮質運動野から体性感覚野に対しては、興奮性入力と同時に抑制性介在神経を介した抑制性投射も重要な機能を果たしていることから (Fukui et al., 2020) 運動中には触覚だけでなく、痛覚も処理が抑制されている可能性も高いことが考えられる。しかし、運動中の神経活動を計測し、痛覚情報処理がどのようにになっているのかについては、実験系の構築が難しく十分な検討がされていない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、大脳皮質体性感覚野における触覚と痛覚情報処理の差異と、痛覚と運動情報との相互作用に着目することで、痛覚情報から逃避行動への変換過程を解明する実験システムを応用し、さらに運動中の痛覚情報処理がどのようにになっているのかを解明することを試みた。これらを検証するため、in vivo 電気生理による神経活動計測を、光遺伝学的手法と組み合わせるとともに、行動計測と光遺伝学的手法、さらに in vivo 大脳皮質光学イメージングを組み合わせた新たな行動実験系を構築し、神経活動と行動をより詳細に解析することを目指した。

3. 研究の方法

(1) in vivo 電気生理

大脳皮質体性感覚野内において、触覚と痛覚を選択的に処理していると考えられる granular 領域および dysgranular 領域から同時に神経活動を計測した。計測はイソフルランおよび主に鎮静作用を有するクロロプロチキセン投与下で行い、痛覚刺激・触覚刺激を組み合わせることで応答特性を調べた。一次運動野には赤色光で神経活動を抑制することが出来る光遺伝学物質である Jaws を予めウイルスベクターを用いて発現させた。これまで侵害刺激としてはペルチエ素子を用いた侵害熱刺激を主に用いてきたが、熱以外の侵害刺激に対しての応答特性を調べるために 10g vonFrey フィラメントを用いた刺激により、通常の触覚よりもより高閾値で応答する細胞がどのように分布しているのかについても併せて調べた。

(2) 運動中の蛍光カルシウムイメージングと運動機能評価・光遺伝学的手法を用いた運動野の抑制システムの構築

運動中の大脳皮質運動野から感覚野にかけての神経活動を計測する目的で、in vivo 蛍光カルシウムイメージングシステムに回転式走行課題装置を組み込んだシステム構築を試みた。蛍光カルシウムイメージングでは、内因性シグナルによる影響を軽減・除去するため、490 nm (青色光) によるカルシウムシグナルだけでなく、カルシウム濃度に依存しない蛍光を観察できる 405 nm (紫外光) も用いて、2 波長を交互に照射することで、カルシウムシグナルの計測精度を高めた。また、このシステムには、ガルバノミラー制御による光走査系も組み込み、これにより観察領域の特定の部位を光照射することが可能となっている。光走査系には、チャンネルロドプシン活性化用の青色レーザー (OBIS LX 473nm, Coherent) および Jaws 活性化用の赤色レーザー (OBIS LX 637nm, Coherent) の両方の光を用いることが出来るよう、ダイクロイックミラーを用いて、2 色の光を同軸で照射可能となっている。行動観察は、3 台の CMOS カメラ (50fps) を用いて、3 方向から計測した。また、カメラの照明には赤外光 LED を用い、互いのカメラの照明が干渉することを防ぐため、それぞれ異なる波長の LED とバンドパスフィルターを用いて、精度の高い画像を取得することを可能としている。

4. 研究成果

(1) in vivo 電気生理による侵害受容応答の計測と光遺伝学的手法による運動野の抑制効果の

検証

まず、これまでペルチエ素子を用いた侵害熱刺激による神経活動の計測により、痛覚応答が触覚応答とは異なり、dysgranular 領域と granular 領域の深層に限局することが分かってきた。しかし、侵害刺激については熱刺激のみを用いており、その他の物理刺激である高域値の触圧刺激等に対する領域の応答特性の違いは分かっていなかった。そのため、10g vonFrey フィラメントを用いて、ヒゲパッドを刺激し、応答特性を計測した。その結果、10g に達する前の状態から granular 領域の浅層の細胞群が応答するのに対して、10g の高域値に反応する細胞は dysgranular 領域と granular 領域の深層に多く観察され、侵害熱に選択性の高い領域と、その他の侵襲的な刺激に対して幅広く応答する領域は一致していることが示唆された。これらの結果と併せて、侵害刺激時の大脳皮質体性感覚野の応答特性、さらにそれが逃避行動を誘発させるうえで大脳皮質体性感覚野においては dysgranular 領域が主な役割を担っていることを明らかにし世界的にもインパクトの高い主要国際誌へと報告した (Osaki et al., 2022)。

次に一次運動野に、赤色光照射によって神経活動を抑制することができる光遺伝物質である Jaws を発現させ、運動野から体性感覚野への投射経路の活動を選択的に抑制する実験を行った。運動野に Jaws を発現させた場合、運動野神経細胞の活動を光照射により活動を抑制することができた。しかし、運動野の抑制タイミングや運動への影響など麻酔下では検証できないことも多くあるという課題も明らかとなった。

(2) 運動中の蛍光カルシウムイメージングと行動観察・光走査システム

上記の課題に対処するため、すでに開発していた近赤外レーザーを用いた侵害熱刺激とトラックボール上で動物が歩行する行動観察システムの光走査システム部を発展させることで、蛍光カルシウムイメージング可能な行動観察システムを作製した。行動観察システムは、深層学習を用いた姿勢推定システムである DeepLabCut により、動物の各動画フレームにおける姿勢を捉えることも可能とした。複数回のモデルパラメータの調整により、歩行中のげっ歯類マウスの動きに特化した学習モデルを構築し、非常に高い精度姿勢推定に成功した。さらに、3方向のカメラから取得した情報を再構築し、立体的な姿勢推定も可能となった(図1)。これにより、前肢領域の感覚運動野において、前肢の運動と一致してカルシウムシグナルが上昇する(図2、3)といった運動関連領域の同定も可能となった。

そこで運動野に Jaws を発現させ、運動中に Jaws により神経活動を抑制した場合、運動そのものにはどのような影響があるのかを検証したところ、個々の体部位の運動速度そのものには有意な低下は見られなかった。今後、より詳細な検証が必要となるが、正常な運動機能そのものには影響を与えずに痛み受容に対する影響を観察することが出来る可能性を示唆している。

引用文献

Frangeul, L. et al. Specific activation of the paralemniscal pathway during nociception. *Eur. J. Neurosci.* 39, 1455-1464 (2014).

Fukui, A., Osaki, H*. et al. Layer-specific sensory processing impairment in the primary somatosensory cortex after motor cortex infarction. *Sci. Rep.* 10, 3771 (2020).

Osaki, H*. et al. Distinct nociception processing in the dysgranular and barrel regions of the mouse somatosensory cortex. *Nat. Commun.* 13, 3622 (2022).

四肢の三次元再構築

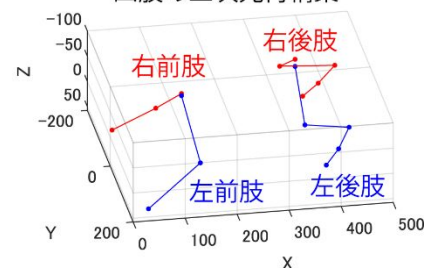
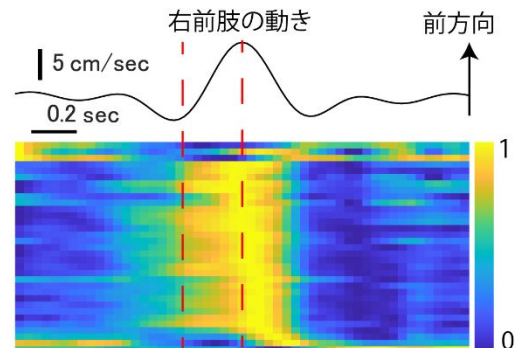
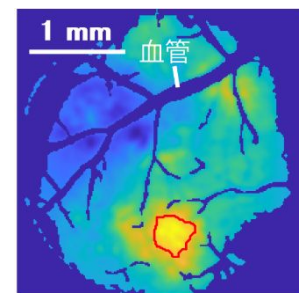


図 1



正規化したカルシウムシグナル

図 2



前肢運動時の活動マップ

図 3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 2件）

1. 著者名 Osaki Hironobu, Kanaya Moeko, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko	4. 巻 13
2. 論文標題 Distinct nociception processing in the dysgranular and barrel regions of the mouse somatosensory cortex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	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） 10.1038/s41467-022-31272-w	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 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 尾崎弘展
2. 発表標題 感覚・運動介入による超適応の誘導
3. 学会等名 生理学会第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hironobu Osaki, Moeko Kanaya, and Mariko Miyata
2. 発表標題 Optogenetic inhibition of the primary somatosensory cortex neurons reduces pain behavior in free-moving mice
3. 学会等名 1st International Symposium on Hyper-Adaptability（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hironobu Osaki, Daisuke Ishii, Yoshito Masamizu
2. 発表標題 A novel rotating ladder running task apparatus for assessment of motor paralysis and neural activity after motor cortex infarction of mice
3. 学会等名 第101回日本生理学会大会
4. 発表年 2024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
--	---------------------------	-----------------------	----

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