

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500409

研究課題名(和文) 能動的触知覚において末梢受容器が触覚情報を神経活動に符号化する仕組みを解明する

研究課題名(英文) Mechanisms of tactile encoding in the periphery of the rat whisker system: a key for decipherment of the secret code in the CNS

研究代表者

古田 貴寛 (Furuta, Takahiro)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60314184

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、微小電極を用いて単一末梢神経の活動を調べ、さらにその神経に色素を注入してその形態も明らかにし、末梢神経終末(機械受容器)の形態学的特徴と反応特性の関係を直接的に調べた。ヒゲの根元には精密な触覚受容装置である「毛包」があるが、その毛包の内部に配置された末梢神経終末によって機械的刺激は神経活動に変換される。末梢神経終末は、その形態的特徴によりいくつかのタイプに分けられ、タイプごとに反応特性が異なる事が分かった。また、神経終末の局在場所と反応特性の間に関係があることが分かった。本研究では更に、特別な電子顕微鏡での観察により、機械受容器とその周辺組織の三次元的超微細構造を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To reveal the mechanisms of tactile encoding in the peripheral nervous system, we aimed at modeling the architecture and response properties of nervous endings in a whisker follicle. Of mechanoreceptors in the whisker follicle, Merkel endings, lanceolate endings and club-like endings at the level of the ring sinus are considered major receptors because these endings are so numerous. We found that the morphologically classified mechanoreceptors exhibited different response properties from each other. The response properties were correlated with the characteristics of the architecture of the nerve endings. We further reconstructed 3D ultra structure of Merkel endings with respect to the sustentacular structures. Finally, we suggest a model of whisker follicles, which explains the mechanics of transduction process of from mechanical inputs to neural activities.

研究分野：神経解剖学

キーワード：ヒゲシステム 末梢 機械受容器 触覚 情報符号化 軸索内記録

1. 研究開始当初の背景

我々は我々自身を取り囲む状況の情報を、その対象物を見なくても、それに触れることによって得ることができる。このような触覚による認知のメカニズムを研究するとき重要なのは、我々が物に触れて質感を得る時の多くの場合は我々が手を動かしながら触れているということである。もし手を動かさずに受動的に対象物に接触したとしたら、対象物の質感に関する精緻な認知に至ることが困難であるのは想像に難くない。触覚受容器を動かしながら触覚情報を得ることを能動的触覚(アクティブタッチ)という。能動的触覚の研究での要点は以下のような設問にまとめられる。a. 触覚器のどのような運動が外部情報を効率よく取り込むことに貢献するのか? b. 触覚器において能動的に得る刺激はどのように神経活動に変換されるのか? c. 触覚器の運動に関する情報は触覚器が受容した情報の処理過程において何処でどのように介入してくるのか? d. 能動的触覚では大脳皮質においてどのような認知に至るのか?。こうした設問に答える実験の材料としてラットのヒゲ感覚システムを利用する。夜行性であるラットではヒゲ感覚が空間認知のための最も優れた感覚系である。ラットのヒゲの根元にはカプセル状の構造の中に種類も本数も多くの触覚受容器がシステムティックに配置されていることが知られている。一つ一つの構成要素は人間の皮膚にある触覚受容器とほぼ相同のものである。ヒゲは外側に向かって伸びた器官であるので、それを適当な長さに切ってどちらかの方向に押し倒すことによって厳密に制御された刺激を与えることが可能で、そのコントロールされた刺激とニューロンの発火活動の関係を解析することができる。さらにラットはヒゲを動かして周囲を探索する行動様式を持ち、まさに能動的触覚のためのシステムである。これらの理由によりラットのヒゲ感覚系は能動的触覚の研究題材として非常に適しているといえる。

2. 研究の目的

本申請課題中で明らかにしたい具体的なテーマは上の「研究の背景」にて示した設問bに対応するもので、ヒゲが対象物に触れた時、ヒゲ感覚器を構成する様々な末梢触覚受容器が機械的触覚刺激を神経活動に変換する仕組みを明らかにすることである。視覚系や聴覚系においては末梢の感覚器で外部からの入力があるがどのように神経活動に変換されているかということについてよく研究が進んでいるが、残念ながら触覚系においては何種類かある触覚受容器がどのように役割分担しているかが曖昧なままである。本研究では、まずは麻酔下のラットにおいて、一本一本の触覚受容器がヒゲ刺激に対してどのような活動パターンを示すかを調べた後にその受容器を可視化することにより、生理学的特

性と形態学的特性を直接的に結びつけて解析する。

さらに、ヒゲを能動的に運動させたときに末梢感覚器はどのように反応するか、その反応は能動的に運動させないで受動的な刺激を受けた場合とどのように違うのか、ということについて研究を進める。先行研究によれば、例えばヒゲが何にも触れないで空中で前後に動く運動をただで反応する末梢受容器もあるとの報告がある。あるいは別のタイプでは、動いたヒゲが対象物にぶつかったときのみ反応するものもある。このような特徴的な反応特性を持つ末梢受容器がそれぞれどのような形態を持っているかを調べる。こうした所見を積み重ねることにより、能動的な運動を伴う触覚受容において、その入り口となる末梢受容器が触覚情報を神経活動に変換する仕組みの理解が進むと考えられる。

3. 研究の方法

ラットヒゲ感覚系における末梢受容器の反応特性と構造的特性の関係を明らかにするために、軸索内記録によってヒゲ感覚を受容する一次求心性線維の活動を解析し、同時に標識物質を軸索内に注入することによって末梢受容器の形態も可視化しその解析を行う。さらに、麻酔下における人工的ヒゲ運動を導入し、ヒゲ運動を行っている際の感覚受容の様式も明らかにする。

ラットは定位脳手術装置に固定され、ヒゲにはピエゾ素子刺激装置がセットされる。ピエゾ素子は電気信号により正確に形状を変化させる材質で、これをスティミュレータでコントロールすることによりヒゲをある方向から一定時間押さえることが出来る。細胞標識物質(ピオチン化デキストラミン、BDA)を含んだ電極内液を入れたガラス電極は眼窩下神経(ヒゲ感覚を中枢に運ぶ末梢神経)に刺入される。電極先端が軸索内に侵入するとその単一軸索の発火活動が記録できる。この状態でピエゾによるヒゲ刺激に対する触覚受容器の反応を記録する。その後、電極に電流を流すとその軸索に細胞標識物質が注入される。この実験後、約2日の生存期間の間に注入された標識物質は軸索の中を末梢に向かって拡散し、ヒゲ根元のカプセル内にある触覚受容器まで到達し、単一の軸索に繋がる受容器全てに行き渡る。その後、ラットを還流固定し、脳の切片をABCキットを用いた方法で染色し、標識物質を可視化する。この触覚受容器のカプセル内における分布をコンピュータ化された顕微鏡描画装置を用いて3次元的に再構築する。可視化された受容器の反応特性は様々な側面で解析され、形態学的特徴と関連づけて考察される。皮膚の触覚受容器はその形態学的特徴により少なくとも5-6種類に分類されてきている。従来は構造と反応特性の関係について間接的な方法により大まかな理解を得るにと

どまっている。今回の方法はその関係を直接的に明らかにする。例えば、触覚受容器はヒゲを中心軸として360度をぐるりと取り囲む様に配置しているが、一つの軸索に由来する触覚受容器がカバーする範囲は限られており、その場所と軸索が強く反応する刺激の方向(方位選択性)には関係があると考えられる。また、厳密に制御された刺激入力を利用するので、受容器の反応特性をもっと詳細に調べることができる。例えば刺激の大きさや速度あるいは加速度について変化させながらテストすることによって末梢受容器がそれらの要素のうちどれと関連しているのかをしらべ、またそれらと末梢受容器の形態学的特徴との関連を調べる。

4. 研究成果

順行性トレーサーを眼窩下神経にバルク注入して、多くの末梢受容器を可視化したところ、さまざまな形状の機械受容器が存在する事が確認できた(図1)。メルケル細胞に連結する状態で存在するメルケル終末(Merkel ending)、細長い神経終末を細長いシウワ細胞が包んでいる槍型終末(lanceolate ending)、槍型終末を短くしたような形状である棍棒状終末(club-like ending)、これら3つのタイプが数多く見つかったが、それ以外にも網状終末や palisade 終末や自由神経終末が観察された。メルケル終末は毛包内の輪状血液洞が存在する場所に隣接して分布するが(RS-Merkel ending)、毛包カプセルの「口」の部分にも分布する事が知られている(RRC-Merkel ending)、槍型終末や棍棒状終末も輪状血液洞の位置に存在するが、特に棍棒状終末だけは ring wulst という輪状血液洞内に飛び出している構造物の根元に局在している事が特徴的である。重要な事は、機械受容器全体としては、ヒゲの根元を取り囲むように分布しているが、一つ一つの軸索がカバーする領域は、ある程度狭い範囲に限られているという事である。

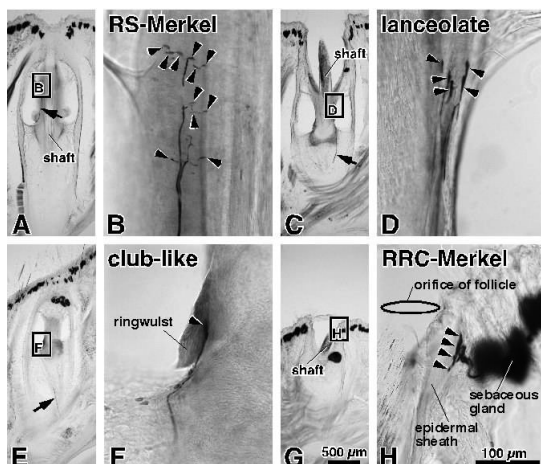


図1

これらの形態学的にタイプ分けされた機械受容器がどのような反応特性を持っているかを調べるために、眼窩下神経において軸

索内記録を行い、記録後に標識物質を注入した。機械受容器のタイプによって、遅順応性(刺激の間は発火活動が持続する)か速順応性(刺激の初期のみに発火し、持続しない)かに分かれる事が分かった。また、反応の強さ(生じる神経発火の数)や反応潜時タイプによって差があることが分かった。ヒゲを刺激する方向は4つの方向(前、後、下、上)からテストしており、軸索ごとに良く反応する方向が異なる事を確認した。その軸索が強く反応する刺激方向を「preferred angle(好みの角度)」と呼ぶが、それは軸索ごとに様々である。このpreferred angleと軸索が機械受容器を分布させる位置との間に関係があるのではないかと考え、可視化された受容器の位置と好みの角度との関係を毛軸方向像において調べた。その結果、受容器の位置と好みの角度が一致するタイプと、無関係なタイプとに分かれた。これは、機械受容器の多くの種類が準備されている事について、それぞれのタイプが果たす役割が異なる事を示唆する。

機械受容器のタイプごとに見られた反応特性の違いは、毛包内の構築の微細構造にその秘密があるのではないかと考え、電子顕微鏡的な解析を行った。毛包内の輪状血液洞周辺の組織は、中心に毛軸がありそれを上皮組織が包み、上皮の外側には基底膜があって、更にその外側は結合組織が取り巻いているという構造を持っている。ほぼ同じ場所にメルケル終末(RS-Merkel)と槍型終末(lanceolate)が存在しているが、厳密には周囲の構造との位置関係が異なっていた。メルケル終末は結合組織内を走ってきた軸索から細い分枝が出て毛軸方向に伸び、基底膜を貫いて上皮組織の基底膜に近い場所に終末を展開する。一方で、槍型終末は、やはり結合組織の中を軸索が走り、毛根側から毛先の方に向かって伸びるが、ミエリンを被った主軸索から分かれた終末は基底膜と結合組織の間にある比較的粗な空間に局在する事が分かった。こうした構造上の違いが、反応特性の違いを生み出している原因と考えられる。

こうした、種々の機械受容器が役割分担をしている事を示してきたが、機械刺激を神経活動に変換するメカニズムにおいてこの生理学的特徴を持つ意味について説明できる理論的なモデルを構築する必要があるだろう。末梢の情報符号化メカニズムは、中枢神経系における情報処理に深く関係しているため、こうした研究によって得られる末梢組織の理解は、神経系全体の働きを知る上でとても重要な貢献をするだろう。

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 8件)

1. Different cortical projections from three subdivisions of the rat lateral posterior thalamic nucleus: a single-neuron tracing study with viral vectors.

Nakamura H, Hioki H, Furuta T, Kaneko T.

Eur J Neurosci. 2015 41(10):1294-1310.

doi: 10.1111/ejn.12882.

2. Matthews DW, Deschênes M, Furuta T, Moore JD, Wang F, Karten HJ, Kleinfeld D.: Feedback in the brainstem: An excitatory disynaptic pathway for control of whisking. J Comp Neurol 523(6):921-942. 2015

doi: 10.1002/cne.23724.

3. Kuramoto E, Ohno S, Furuta T, Unzai T, Tanaka YR, Hioki H, Kaneko T.: Ventral Medial Nucleus Neurons Send Thalamocortical Afferents More Widely and More Preferentially to Layer 1 than Neurons of the Ventral Anterior-Ventral Lateral Nuclear Complex in the Rat. Cereb Cortex 25(1):221-235. 2015

doi: 10.1093/cercor/bht216.

4. Koshimizu Y, Fujiyama F, Nakamura KC, Furuta T, Kaneko T.: Quantitative analysis of axon bouton distribution of subthalamic nucleus neurons in the rat by single neuron visualization with a viral vector. J Comp Neurol 521(9):2125-2146. 2013

doi: 10.1002/cne.23277.

5. Moore JD, Deschênes M, Furuta T, Huber D, Smear MC, Demers M, Kleinfeld D.: Hierarchy of orofacial rhythms revealed through whisking and breathing. Nature 497(7448):205-210. 2013

doi: 10.1038/nature12076.

6. Sonomura T, Furuta T, Nakatani I, Yamamoto Y, Unzai T, Matsuda W, Iwai H, Yamanaka A, Uemura M, Kaneko T.: Correlative analysis of immunoreactivity in confocal laser-scanning microscopy and scanning electron microscopy with focused ion beam milling. Front Neural Circuits 7:26. 2013

doi: 10.3389/fncir.2013.00026.

7. Kameda H, Hioki H, Tanaka YH, Tanaka T, Sohn J, Sonomura T, Furuta T, Fujiyama F, Kaneko T.: Parvalbumin-producing cortical interneurons receive inhibitory inputs on proximal portions and cortical excitatory inputs on distal dendrites. Eur J Neurosci

35(6):838-854. 2012

doi: 10.1111/j.1460-9568.2012.08027.x.

8. Ohno S, Kuramoto E, Furuta T, Hioki H, Tanaka Y, Fujiyama F, Sonomura T, Uemura M, Sugiyama K, Kaneko T.: Morphological analysis of thalamocortical axon fibers of rat posterior thalamic nuclei: A single neuron tracing study with viral vectors. Cereb Cortex 22(12):2840-2857. 2012

doi: 10.1093/cercor/bhr356.

〔学会発表〕(計 7件)

1. Furuta Takahiro, Ebara Satomi, Kuroda Daichi, Hirai Daichi, Shibata Ken-ichi, Miyazaki Naoyuki, Murata Kazuyoshi, Kaneko Takeshi, Hartmann Mitra

Mechanisms of tactile encoding in the periphery of the rat whisker system: a key for decipherment of the secret code in the CNS

第 37 回日本神経科学学会

2014 年 09 月 11 日~2014 年 09 月 13 日

パシフィコ横浜

2. 古田貴寛、榎原智美、黒田大地、外村宗達、熊本賢三、平井大地、柴田憲一、金子武嗣

Ultrastructure of Merkel endings at the level of the ring sinus in rat whisker follicle.

第 119 回日本解剖学会学術集会

2014 年 03 月 27 日~2014 年 03 月 29 日

自治医科大キャンパス

3. Takahiro Furuta

Introduction of the rodent whisker system as a good model for the study of motor-sensory integration

第 36 回日本神経科学学会

2013 年 06 月 20 日~2013 年 06 月 23 日

国立京都国際会館

4. 平井 大地、古田 貴寛、金子 武嗣

Sensory representation of corticothalamic projection neurons in the vibrissal barrel cortex of waking rats

第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会

2013 年 03 月 28 日~2013 年 03 月 30 日

サンポートホール高松・かがわ国際会議場

5. 柴田 憲一、古田 貴寛、金子 武嗣

Architecture of cortico-cortical connection between the vibrissal motor cortex and the vibrissal sensory cortex in rats.

第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会

2013年03月28日~2013年03月30日
サンポートホール高松・かがわ国際会議場

6. 古田 貴寛, 榎原 智美, 金子 武嗣
ラット洞毛の毛包内における機械受容器の
形態学的特徴と反応特性との関係
第118回日本解剖学会総会・全国学術集会
2013年03月28日~2013年03月30日
サンポートホール高松・かがわ国際会議場

7. 外村 宗達, Meir Inbal, 榎原 智美, 黒
田 大地, 歌 大介, 古江 秀昌, 古田 貴寛,
Bagdasarian Knarik, Ahissar Ehud, 熊本 賢
三
Full visualization of single trigeminal
ganglion neuron.
第118回日本解剖学会総会・全国学術集会
2013年03月28日~2013年03月30日
サンポートホール高松・かがわ国際会議場

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.mbs.med.kyoto-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古田 貴寛 (FURUTA Takahiro)
京都大学・医学研究科・准教授
研究者番号：60314184

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

榎原智美 (EBARA Satomi)

明治国際医療大学・
医学教育研究センター・准教授
研究者番号：20203648