

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 8 日現在

機関番号：32527

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460704

研究課題名(和文)膜電位イメージング法による三叉神経痛覚情報の大脳皮質感覚野への投射地図作成

研究課題名(英文) Mapping of trigeminal afferent information in the somatosensory cortex using optical imaging with flavoprotein fluorescence

研究代表者

桑名 俊一 (KUWANA, Shun-ichi)

植草学園大学・保健医療学部・教授

研究者番号：70129998

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに大脳皮質感覚野での触覚から疼痛への移行過程を調べた研究は少ない。本研究では、フラビン蛋白蛍光イメージング法を麻酔したマウスに適用し、三叉神経支配領域を刺激し大脳皮質感覚野の興奮を空間的・時間的に検討した。上顎類部に触刺激を与えた場合は外側尾側部に興奮部位が認められた。頬部の刺激によって興奮する部位はバレル野と呼ばれる部位に相当していた。下顎部の触刺激ではバレル野よりも吻側部に興奮が認められた。また、カプサイシンを皮膚に塗布した後は、触刺激に対して感覚野の興奮の増強と側抑制がみられた。これは大脳皮質感覚野において感覚の質が触覚から痛覚に変化したことを捉えているものと思われた。

研究成果の概要(英文)：Trigeminal afferent system conducts somatosensory information from the orofacial area to the primary somatosensory cortex, via the medulla and the thalamus. The mechanism underlying cortical processing of nociceptive information is mostly unknown. In the present study, we examined to identify the cortical regions that process tactile sensation or nociception using the transcranial optical imaging with flavoprotein fluorescence in adult mice under urethane anesthesia. Tactile stimulation to the whiskers of upper jaw induced the increment of fluorescence in the lateral somatosensory cortex, so called barrel cortex. Tactile stimulation of the lower jaw induced fluorescent changes in the rostral to the barrel area. Furthermore, capsaicin application to the skin induced the increment of fluorescence and the decrease of fluorescent area. This finding suggested that spatial and temporal changes in neural excitation may related with cortical processing changes from tactile sensation to pain.

研究分野：神経科学

キーワード：疼痛の神経機構 大脳皮質感覚野 フラビン蛋白蛍光 経頭蓋イメージング カプサイシン

## 1. 研究開始当初の背景

三叉神経は顔面の知覚を司る神経であるが、その領域に出現する疼痛は、特発性三叉神経痛、頭蓋内腫瘍、带状疱疹後神経痛、歯科口腔外科疾患などで見られ、慢性疼痛疾患の中でも比較的頻度の高い疾患である。また、最近では、片頭痛なども三叉神経系を介して引き起こされることが明らかになってきた<sup>1)</sup>。三叉神経からの痛覚情報は、橋の傍小脳脚核、視床の腹側基底核群に到達した後、大脳皮質に達している。大脳皮質の痛覚処理への関与は議論があったが、最近では大脳皮質体性感覚野も痛覚情報処理に関与していることが報告されている。これらの経路については、組織学的および電気生理学的に調べられているが、機能的役割や中継核および大脳皮質での慢性疼痛への移行過程を詳細に調べた研究は少ない。

本研究では脳活動イメージング法を用い、麻酔した (*in vivo*) マウスの大脳皮質における触圧覚・痛覚情報処理過程を空間的・時間的に解明することを目的とした。さらにカプサイシンなどで皮膚に痛覚過敏を引き起こした *in vivo* マウス<sup>2)</sup>において大脳皮質感覚野ニューロン群応答を脳活動イメージング法によって検討する。

## 2. 研究の目的

本研究では脳活動イメージング法を用い、*in vivo* マウスの大脳皮質における三叉神経からの入力を含む体性感覚の情報処理過程を空間的・時間的に解明することを目的とした。さらにカプサイシンなどで痛覚過敏を引き起こした *in vivo* マウスにおいて大脳皮質感覚野ニューロン群の応答を脳活動イメージング法によって検討する。本研究により、大脳皮質における痛覚情報の処理過程の一部が明らかになるとと思われる。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験動物

ウレタン (1.0-1.5g/kg) で麻酔した成マウス (8 - 12 週齢) を用いた。

### (2) 経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージング

図1に示すように皮膚を切開するだけで経頭蓋的にフラビン蛋白の蛍光変化を MICAM システムによって記録した。神経活動の活発化によりエネルギー産生増加に伴うフラビン蛋白量の増加を捉える方法である<sup>3)</sup>。上顎、下顎、下肢足底に機械的的刺激装置を用い触刺激を行い、大脳皮質体性感覚野における興奮を空間的・時間的に解析した。

### (3) 痛覚モデル

皮膚にカプサイシンを塗布あるいは皮下にカプサイシンを注入し、その部位に触刺激

を与えた。カプサイシン投与前後に触刺激を与え、大脳皮質感覚野のフラビン蛋白蛍光変化を測定した。

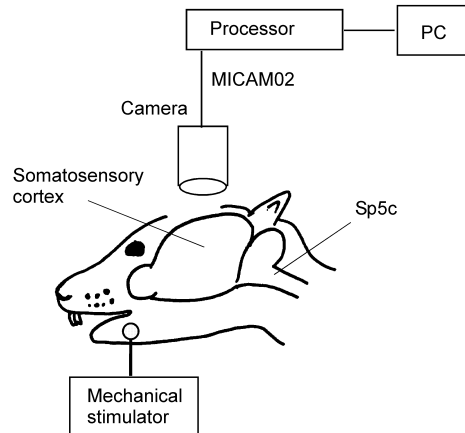


図1. 実験のセットアップ

## 4. 研究成果

### (1) 経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージング

図2に左側上顎頬部(上図)、耳介(中図)、下肢足底(下図)に0.1秒の触刺激を与えた時の右大脳皮質のフラビン蛋白蛍光変化を示した。上顎頬部に触刺激を与えた場合は外側尾側部に蛍光の増加、すなわち興奮している部位の局在が認められた。上顎頬部の触刺激による興奮部位はバレル野と呼ばれる部位に相当していた。耳介の触刺激ではバレル野よりもやや内側尾側部、下肢足底部の触刺激では内側部に興奮が認められた。

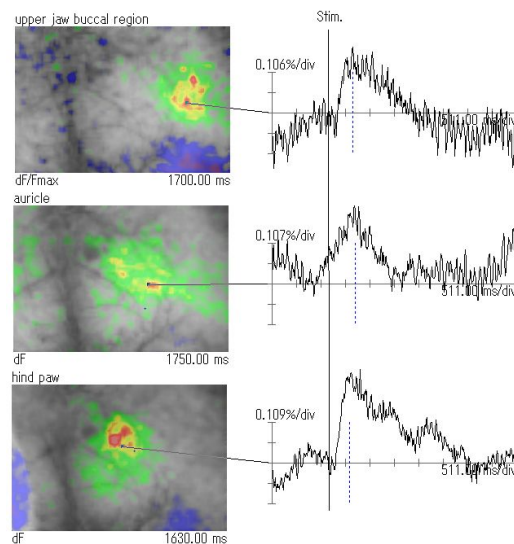


図2. 左上顎頬部(上図)、左耳介部(中図)、左下肢足底部(下図)の触刺激に対する右大脳皮質感覚野の興奮部位(左列の図)とフラビン蛋白の蛍光変化(右列の図)

図3には左上顎頬部に触刺激を与えた場

合（左図）と左下顎外側部に触刺激を与えた場合（右図）の興奮部位を示す。下顎部触刺激による興奮部位は、上顎部触刺激による興奮部位よりも前方（吻側）に位置していることが分かる。

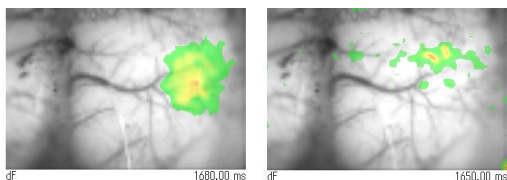


図 3. 左上顎頰部（左図）と左下顎外側部（右図）の触刺激に対する右大脳皮質感覚野の興奮部位

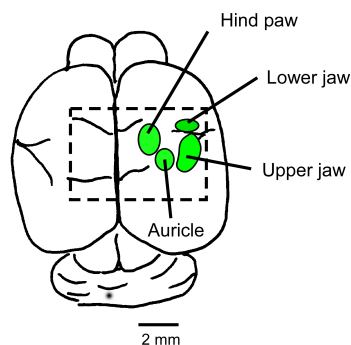


図 4. 大脳皮質における体性感覚地図

以上の結果を纏めたものが図 4 であり、体の各部位触刺激に対する大脳皮質感覚野のフラビン蛋白蛍光変化部位を示した。このように当初の研究目的である脳活動イメージング法を用いて体性感覚地図を作成することができた。

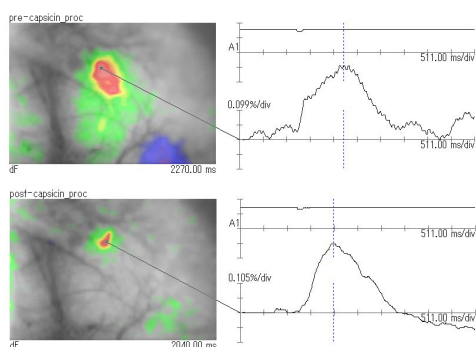


図 5. カプサイシン塗布前（上図）と塗布 1 時間後（下図）の触刺激に対する感覚野の応答

（ 2 ）カプサイシン皮膚塗布による大脳皮質感覚野の応答

カプサイシンを皮膚に塗布し、触刺激を与えた時の大脳皮質感覚野のフラビン蛋白蛍光変化を記録した。図 5 は下肢足底部にカプサイシンを塗布する前（上図）と塗布 1 時間後（下図）の興奮部位のピーク時の興奮を示す。カプサイシンを塗布した後は、触刺激に対して感覚野の興奮領域は減少したが、興奮

の増強が認められた。これは大脳皮質感覚野において感覚の質が触覚から痛覚に変化したことを捉えている可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Holland PR, Akerman S, Goadsby PJ. Orexin 1 receptor activation attenuates neurogenic dural vasodilation in an animal model of trigeminovascular nociception. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005, 315(3):1380-5.

Honda K1, Kitagawa J, Sessle BJ, Kondo M, Tsuboi Y, Yonehara Y, Iwata K. Mechanisms involved in an increment of multimodal excitability of medullary and upper cervical dorsal horn neurons following cutaneous capsaicin treatment. *Mol Pain.* 2008, 19;4:59.

Shibuki K, Hishida R, Tohmi M, Takahashi K, Kitaura H, Kubota Y. Flavoprotein Fluorescence Imaging of Experience-Dependent Cortical Plasticity in Rodents. In: Frostig RD, editor. *In Vivo Optical Imaging of Brain Function.* 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2009. Chapter 7.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

角友起, 高松克守, 桑名俊二. 誤差フィードバックのモダリティの違いによる運動学習効果の差異. *植草学園大学紀要* 第 8 巻: 129-135, 2016. 査読有

Matsumoto A, Arisaka H, Hosokawa Y, Sakuraba S, Sugita T, Umezawa N, Kaku Y, Yoshida K, Kuwana S. Effect of carbamazepine and gabapentin on excitability in the trigeminal subnucleus caudalis of neonatal rats using a voltage-sensitive dye imaging technique. *Biol Res.* 2015 Jul 21;48:36. doi: 10.1186/s40659-015-0027-6. 査読有

Umezawa N, Arisaka H, Sakuraba S, Sugita T, Matsumoto A, Kaku Y, Yoshida K, Kuwana S. Orexin-B antagonized respiratory depression induced by sevoflurane, propofol, and remifentanyl in isolated brainstem-spinal cords of neonatal rats. *Respir Physiol Neurobiol.* 205:61-65, 2015 査読有

Sugita T, Sakuraba S, Kaku Y, Yoshida K, Arisaka H, Kuwana S. Orexin induces excitation of respiratory neuronal network in isolated brainstem spinal cord of neonatal rat. *Respir Physiol Neurobiol.* 200:105-109, 2014. 査読有

〔学会発表〕(計 10 件)

Kaku Y and Kuwana S. An in vivo voltage imaging study of respiration-related activities in the ventral medulla. 39<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市) P1-163 Abstract. 2016 年 7 月 20 日

松本安紀子, 有坂博史, 杉田武士, 梅澤伸夫, 吉田和子, 桑名俊一. Effect of carbamazepine and gabapentin on excitability in the trigeminal subnucleus caudalis of neonatal rats using a voltage-sensitive dye imaging technique. 第 148 回神奈川歯科大学学会・例会. 神奈川歯科大学 (神奈川県・横須賀市) 2015 年 10 月 8 日

長谷川修治, 桑名俊一, 北條洋子 The effects of small track classes in university English education. 大学英語教育における習熟度別少人数クラスの効果 The JACET 54<sup>th</sup> (2015) International Convention. 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2015 年 8 月 30 日

Matsumoto A, Arisaka H, Hosokawa Y, Sakuraba S, Sugita T, Umezawa N, Kaku Y, Yoshida K, Kuwana S. Effect of antiepileptic drugs on excitability in the trigeminal subnucleus caudalis of neonatal rat using a voltage-sensitive dye imaging technique. 9<sup>th</sup> International Brain Research Organization (IBRO) 2015 World Congress. Rio de Janeiro (Brazil) 2015 Jul. 8.

長谷川修治, 桑名俊一, 北條洋子. Verification of the effects of small track classes in university English education. 大学英語教育における習熟度別少人数クラスの授業効果の検証 The JACET 53<sup>rd</sup> (2014) International Convention. 広島市立大学(広島県・広島市), 2014 年 8 月 28 日

Matsumoto A, Arisaka H, Yoshida K, Kuwana S. Effects of antineuropathic drugs on excitability in the trigeminal subnucleus caudalis of rat using voltage-sensitive dye imaging. 第 7 回 FADAS (アジア歯科麻酔連合) 学術大会. 日本歯科大学新潟生命歯学部 (新潟県・新潟市) 2014 年 10 月 11 日

Umezawa N, Arisaka H, Sugita S, Kuwana S, Yoshida K. Orexin-B antagonized respiratory depression induced by anesthetics or opioid in in vitro brainstem-spinal cords of neonatal rats. 第 7 回 FADAS (アジア歯科麻酔連合) 学術大会 日本歯科大学新潟生命歯学部 (新潟県・新潟市) 2014 年 10 月 11 日

角友起, 高松克守, 桑名俊一. The influence of feedback modality of error information on motor learning Neuroscience 2014. パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市) 2014 年 9 月 12 日

松本安紀子, 有坂博史, 吉田和子, 桑名俊一. 膜電位感受性色素を用いた三叉神経尾側亜核の興奮伝達の光学的画像診断 日本麻酔学会第 61 回学術集会. パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市) 2014 年 5 月 15 日

梅澤伸夫, 有坂博史, 桜庭茂樹, 杉田武士, 桑名俊一, 吉田和子. 全身麻酔に用いる薬剤の呼吸抑制に対するオレキシン B の拮抗作用: 新生ラットの単離脳幹脊髄標本を用いた研究 日本麻酔学会第 61 回学術集会. パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市) 2014 年 5 月 15 日

〔図書〕(計 1 件)

桑名俊一, 荒田晶子編著, 理工図書株式会社, コメデイカル基礎科目シリーズ 生理学, 2016 年, 400.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

桑名 俊一 (KUWANA, Shun-ichi)  
植草学園大学・保健医療学部・教授  
研究者番号: 7 0 1 2 9 9 9 8

### (2) 研究分担者

角 友起 (KAKU, Yuki)  
茨城県立医療大学・保健医療学部・助教  
研究者番号: 5 0 5 5 1 3 6 3