

Title	多面的アプローチによる口腔顔面領域の神経メカニズム研究
Author(s)	古田, 貴寛
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2024, 68(1), p. 5-8
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/97742
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

多面的アプローチによる口腔顔面領域の神経メカニズム研究

古田 貴寛*

(令和5年10月30日受付)

はじめに

咀嚼や嚥下, 呼吸, 発話といった高度な口腔顔面領域機能を実現するには, 筋や骨の働きに加え, 神経系の関与が非常に重要である。言うまでもなく, 神経系は全身の感覚や運動を支配しているわけであるが, 例えば大脳皮質における担当領域の広さから考えても, 神経系における口腔顔面領域に関する情報の量や複雑さが非常に高度であることは明らかである。この神経メカニズムを明らかにする事は, 高度な口腔顔面領域機能を理解するために必要なだけでなく, その領域における疾患疾病等の予防法や治療法を開発することへの貢献が期待される。我々は頭頸部の感覚を司る重要な脳神経である三叉神経を主たる題材として, 形態学的解析技術を主軸としながら様々な実験手法を組み合わせ, 神経メカニズムの研究を進めている。

神経系の解剖学的研究手法と 単一ニューロン解析について

全身を制御する神経系は, 頭の前から足の先までが全て繋がった巨大な回路として機能している。また, その内容は小さなモジュールの繰り返しではなく, 個々のニューロンがそれぞれ特異的な結合様式を持つという非常に複雑なものである。その回路の全体像を観察するためには, 例えばそれがラットの大脳皮質だけだったとしても, 10 mm を超えるボリュームを再構築する必要がある。一方で, ニューロン間の情報伝達の間となるシナプス結合は, そのサイズが非常に小さいため,

電子顕微鏡でなければ観察することができない。そこで, 光学顕微鏡と電子顕微鏡の解析を組み合わせることによって, 広い視野と高解像度の観察を両立する「光・電子相関顕微鏡技術 (CLEM と呼ばれることがある)」が開発され, 研究者たちに利用されてきた。標識されたニューロンの形態学的解析において, 共焦点レーザー顕微鏡等の光学顕微鏡解析の後, その画像データの中の任意の一部を電子顕微鏡レベルで解析する技術は, CLEM に含まれると考えて良い。我々も三次元電子顕微鏡技術と免疫組織学を組み合わせる技術も開発した (Sonomura et al., 2013)。そこで使用した FIB-SEM の技術は超微細構造の三次元的データを取得できるという大きなメリットがあり, これによってシナプス構造に関する定量的な解析が可能となる。さらに, 最近では組織透明化技術の進歩で, 大きな組織標本を切片にすることなく, 大規模形態データを取得することが現実的になってきた (Hama et al., 2015)。こうした実験技術を踏まえ, 我々は組織透明化技術による広範囲データ取得と電子顕微鏡観察による微細形態解析をシームレスに繋ぐ技術を発表した (Furuta et al., 2022)。

神経回路における情報伝達のエッセンスは一对一のニューロン同士の結合であり, また, 同所に存在するニューロンといえども, その活動様式はバリエーションに富んでいることがよくある (特に大脳皮質など)。そのため, 我々は以前から, 複雑な神経回路構造を明らかにするための重要な研究アプローチの一つとして, 単一ニューロンレベルでの形態学的解析と活動解析に取り組んでおり, 組替えウイルスによって少数のニュー

* 系統・神経解剖学講座

ーロンの形態を明確に可視化する実験手法を開発してきた (Furuta et al., 2001)。また, Pinault (1996) らによって発表された juxtacellular recording/labeling 法は, in vivo で単一ニューロンの活動記録を行い, 同時にそのニューロンの形態を可視化するという技術であり, 活動特性と形態学的特性を単一ニューロンレベルで直接的に関連させて解析できるというものである。我々は, この juxtacellular recording/labeling をはじめ, ウイルスによる遺伝子導入や単一細胞に対するプラスミド電気穿孔法などを, CLEM 技術と組み合わせることにより, 包括的マルチスケール形態解析の中に単一ニューロンレベルの解析を統合しようとする挑戦を続けている。

三叉神経系の感覚情報処理

げっ歯類のヒゲによる触覚系は, 精密な機械受容器を持ち, 空間認知の優れた感覚系として顕著に発達している。そのため担当する脳領域が大きく, 身体上の受容野の配列が脳構造において“蜂の巣状”に明確に再現されている (バレル構造) などの理由により, 三叉神経系の研究題材として大変優れている (Staiger and Petersen, 2021)。我々は機械的なヒゲ刺激と細胞外記録法と細胞形態標識法を組み合わせ, 触覚刺激に対する三叉神経核ニューロンの反応パターンを明らかにした (Furuta et al., 2006)。また, 三叉神経核内で垂核間での抑制性制御が存在することを明らかにした (Furuta et al., 2008)。さらに, 個々の視床ニューロンが持つ皮質投射軸索の展開と感覚野バレル構造との関係において, 受容野が大きい (複数のヒゲに反応する) ニューロンは受容野が小さい (一つのヒゲのみに反応する) ニューロンと異なる回路構造を呈することが明らかになった (Furuta et al., 2009)。ヒゲ刺激に反応するニューロンの多くは, その刺激の“方向”について, 特に強く反応をする方向が決まっており, それを「方向選択性」と言う。方向選択性と視床ニューロンが持つ皮質投射軸索の展開様式に相関があることも明らかにした (Furuta et al., 2011)。

最近では末梢の触覚受容器についても我々は研究を行っている。Furuta et al. (2020) では, ヒゲの根元にある末梢受容器において, その解剖学的構築と個々の末梢神経の反応方向選択性との間にある関係性を調べた。受容器の形態タイプごとに反応特性が異なることを具体的に明らかにし, 触覚受容メカニズムにおい

て受容器タイプごとの役割分担について重要な示唆を与えた。

口腔顔面領域の運動制御

げっ歯類は長いヒゲを能動的に運動させ, そのヒゲで床や壁あるいは興味のある対象物に触れることによって, 周囲の環境を探索する行動様式を持つ。そのヒゲの動きは比較的シンプルな前後運動であり (Grant et al., 2009), 解析のしやすさを考えると運動制御神経メカニズムの実験モデルとして優れている。

口腔顔面領域の運動制御について研究を始めるにあたり, 国際的な研究チームに参加し, ヒゲ運動を制御するパターンジェネレータ回路 (CPG) の研究を行った (Moore et al., 2013; Matthews et al., 2015; Deschenes et al., 2016)。この研究では, 呼吸リズムを生成するニューロン群がヒゲ運動の CPG にも情報を送っており, 呼吸とヒゲ運動が同期することを見出したのが大きな発見であった。

その後, 我々は CPG の上流にある神経回路を調べる実験を行った。Kaneshige et al. (2018) では, 眼球運動の制御に重要な役割を持つ上丘が, ヒゲ運動にも大きな影響を与えていることがわかった。それはヒゲ運動筋を駆動する運動ニューロンが存在する顔面神経核への直接投射が主たる役割を果たしていることを明らかにした。

さらに, Shibata et al. (2018) では, ヒゲ運動に関わる皮質運動野の軸索投射パターンと発火特性を単一ニューロンレベルで調べた。その結果, 皮質下の多くの領域に軸索を送るタイプのニューロンはヒゲ運動が大きい時に発火頻度が上昇したのに対し, 反対側まで軸索を伸ばすタイプのニューロンは小さいヒゲ運動の時に好んで活動することを明らかにした。この研究の結果では, 皮質からの投射回路によって運動情報の符号化様式が異なることが示唆された。

こうした研究によって, 未だ不明な点が多い運動制御のメカニズムについて, 理解のために必要な構造的基盤が次第に明らかになってきたと言える。

感覚と運動の統合について

鋭敏な触覚系であるヒゲシステムにおいて, アクティブなセンサー (ヒゲ) の運動を伴うと言うことは, このシステムが感覚と運動の統合を調べる題材として非

常に適していることを示す。我々は、脳内の触覚情報処理メカニズムについて進めてきた一連の研究の中で、大脳皮質運動野での電気刺激が、ヒゲ感覚の入り口である三叉神経核の活動を修飾することを報告した (Furuta et al., 2010)。この結果は、大脳皮質の運動制御を含む内的状態が感覚情報処理に影響を与える事を示唆する。これをきっかけに運動制御と感覚情報処理との連関に興味を持つようになり、感覚—運動統合に関わる様態の一つとしてアクティブセンシングの研究を志すこととなった。

ヒゲ感覚を大脳皮質に中継する視床 (後内側腹側核, VPM) のニューロンが、皮質感覚野からの下行性投射にどのような影響を受けるか調べた実験 (Hirai et al., 2018) では、皮質—視床投射ニューロンが視床ニューロンの静止膜電位を調整することによって、感覚入力に対する視床ニューロンの反応特性モードをダイナミックに変化させていることがわかった。大脳皮質運動野は、感覚皮質に軸索を送りその活動を調整していること (Huber et al., 2012) を考慮すると、Hirai et al. (2018) で示した皮質視床投射の機能は、運動野を含む皮質の様々な内的状態に応じて、上行性感覚情報処理の過程を修飾する機能として都合がよいと言える。

最後に

すでに述べたように、神経回路の構築を知るためには、解剖学的にもマクロレベルからナノレベルまでマルチスケールでの解析が必要とされる。また、電気生理学的解析や遺伝子発現解析をはじめ、非常に多様な研究アプローチが神経メカニズムの理解のためには必要であり、今後は多くの研究者がそうした包括的な研究を推進していくことにあるであろう。我々も、質の高いマルチスケール形態解析技術を中心として、光遺伝学的手法 (生きた脳組織の局所に光を当てることにより、その活動をコントロールする技術) やレーザーセンサによる高速高解像度運動解析、オーディオアクチュエータによる高頻度刺激、マイクロ CT 技術などを組み合わせ、さらに発展的な研究を開発していく。世界的な研究フロンティアは常に新しい研究技術の進展とともに前進することを肝に銘じ、口腔顔面領域における感覚と運動の統合機能について知見を積み重ねていく所存である。

文献

- 1) Sonomura T, Furuta T*, Nakatani I, Yamamoto Y, Unzai T, Matsuda W, Iwai H, Yamanaka A, Uemura M, Kaneko T (2013): Correlative analysis of immunoreactivity in confocal laser-scanning microscopy and scanning electron microscopy with focused ion beam milling. *Front Neural Circuits*, **7**, 26.
- 2) Hama H, Hioki H, Namiki K, Hoshida T, Kurokawa H, Ishidate F, Kaneko T, Akagi T, Saito T, Saido T, Miyawaki A (2015): ScaleS: an optical clearing palette for biological imaging. *Nat Neurosci*, **10**, 1518-29.
- 3) Furuta T, Yamauchi K, Okamoto S, Takahashi M, Kakuta S, Ishida Y, Takenaka A, Yoshida A, Uchiyama Y, Koike M, Isa K, Isa T, Hioki H (2022): Multi-scale light microscopy/electron microscopy neuronal imaging from brain to synapse with a tissue clearing method, ScaleSF. *iScience*, **25**, 103601.
- 4) Furuta T, Tomioka R, Taki K, Nakamura K, Tamamaki N, Kaneko T (2001): In vivo transduction of central neurons using recombinant Sindbis virus: Golgi-like labeling of dendrites and axons with membrane-targeted fluorescent proteins. *J Histochem Cytochem*, **49**, 1497-1508.
- 5) Pinault D (1996): A novel single-cell staining procedure performed in vivo under electrophysiological control: morpho-functional features of juxtacellularly labeled thalamic cells and other central neurons with biocytin or Neurobiotin. *J Neurosci Methods*, **65**, 113-36.
- 6) Staiger JF, Petersen CCH (2021): Neuronal Circuits in Barrel Cortex for Whisker Sensory Perception. *Physiol Rev*, **101**, 353-415.
- 7) Furuta T, Nakamura K, Deschenes M (2006): Angular tuning bias of vibrissa-responsive cells in the paralemniscal pathway. *J Neurosci*, **26**, 10548-10557.
- 8) Furuta T, Timofeeva E, Nakamura K, Okamoto-Furuta K, Togo M, Kaneko T, Deschenes M (2008): Inhibitory gating of vibrissal inputs in the brainstem. *J Neurosci*, **28**, 1789-1797.
- 9) Furuta T, Kaneko T, Deschenes M (2009): Septal neurons in barrel cortex derive their receptive field input from the lemniscal pathway. *J Neurosci*, **29**, 4089-4095.
- 10) Furuta T, Deschenes M, Kaneko T (2011): Anisotropic distribution of thalamocortical boutons in barrels. *J Neurosci*, **31**, 6432-6439.
- 11) Furuta T, Bush NE, Yang AE, Ebara S, Miyazaki N, Murata K, Hirai D, Shibata KI, Hartmann MJZ (2020): The Cellular and Mechanical Basis for Response Characteristics of Identified Primary

- Afferents in the Rat Vibrissal System. *Curr Biol*, **30**, 815-826 e815.
- 12) Grant RA, Mitchinson B, Fox CW, Prescott TJ (2009): Active touch sensing in the rat: anticipatory and regulatory control of whisker movements during surface exploration. *J Neurophysiol*, **101**, 862-74.
 - 13) Moore JD, Deschenes M, Furuta T, Huber D, Smear MC, Demers M, Kleinfeld D (2013): Hierarchy of orofacial rhythms revealed through whisking and breathing. *Nature*, **497**, 205-210.
 - 14) Matthews DW, Deschenes M, Furuta T, Moore JD, Wang F, Karten HJ, Kleinfeld D (2015): Feedback in the brainstem: an excitatory disynaptic pathway for control of whisking. *J Comp Neurol*, **523**, 921-942.
 - 15) Deschenes M, Takatoh J, Kurnikova A, Moore JD, Demers M, Elbaz M, Furuta T, Wang F, Kleinfeld D (2016): Inhibition, Not Excitation, Drives Rhythmic Whisking. *Neuron*, **90**, 374-387.
 - 16) Kaneshige M, Shibata KI, Matsubayashi J, Mitani A, Furuta T (2018): A Descending Circuit Derived From the Superior Colliculus Modulates Vibrissal Movements. *Front Neural Circuits*, **12**, 100.
 - 17) Shibata KI, Tanaka T, Hioki H, Furuta T (2018): Projection Patterns of Corticofugal Neurons Associated with Vibrissa Movement. *eNeuro*, **5**, ENEURO.0190-18.2018.
 - 18) Furuta T, Urbain N, Kaneko T, Deschenes M (2010): Corticofugal control of vibrissa-sensitive neurons in the interpolaris nucleus of the trigeminal complex. *J Neurosci*, **30**, 1832-1838.
 - 19) Hirai D, Nakamura KC, Shibata KI, Tanaka T, Hioki H, Kaneko T, Furuta T (2018): Shaping somatosensory responses in awake rats: cortical modulation of thalamic neurons. *Brain Struct Funct*, **223**, 851-872.
 - 20) Huber D, Gutnisky DA, Peron S, O'Connor DH, Wiegert JS, Tian L, Oertner TG, Looger LL, Svoboda K (2012): Multiple dynamic representations in the motor cortex during sensorimotor learning. *Nature*, **484**, 473-8.