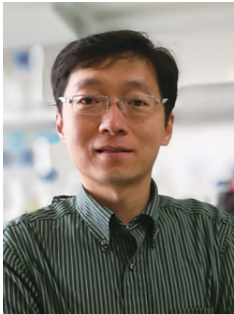


领域前沿 · 中国



孙衍刚, 中国科学院神经科学研究所研究员、博士生导师, 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心青年骨干。孙衍刚博士多年来从事痒觉的分子、细胞和神经环路机制研究。他的研究发现痒觉特异基因, 揭示痒觉信息处理的神经环路, 阐明了丘脑神经环路突触传递的调节机制。孙衍刚博士实验室主要致力于解析中枢神经系统中痒觉信息处理的神经环路机制, 并阐明中枢神经系统对痒觉调控的机理。现已经以第一作者或通讯作者身份在Nature、Science、J Neurosci等杂志发表研究论文26篇。2012年入选中组部青年千人计划, 2013年入选上海浦江人才计划, 2014年获得国家优秀青年基金。

痒觉的中枢环路机制

穆迪^{1,2} 孙衍刚^{1*}

(¹中国科学院神经科学研究所, 中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心, 神经科学国家重点实验室, 上海 200031; ²中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 痒觉是一种诱发抓挠行为的不愉快的感受。近年来, 我们对痒觉信息在脊髓水平处理的分子和细胞机制已经有了较为深入的认识。然而, 痒觉信息如何从脊髓传递到大脑并不清楚。我们发现, 在痒觉诱发抓挠的过程中, 脊髓中投射到臂旁核的神经元被激活, 光遗传学抑制这条环路的活性可以减少痒觉诱发的抓挠行为。脊髓中痒觉特异的胃泌素释放肽受体阳性神经元与投射到臂旁核的脊髓投射神经元形成兴奋性突触连接。我们进一步研究了臂旁核在痒觉行为过程中的活性变化和功能。我们发现, 臂旁核神经元的兴奋性与痒觉诱发的抓挠过程具有很强的相关性。整体抑制臂旁核神经元的活性或者选择性阻断兴奋性神经元的突触传递可以显著降低急性痒引起的抓挠行为, 并减缓慢性痒模型的建立。我们的工作揭示了痒觉从脊髓传递到大脑的一条重要环路, 并且提示臂旁核是参与痒觉信息处理的重要脑区。该研究为深入阐明痒觉信息加工的脑内环路机制提供了重要基础。

关键词 脊髓-臂旁核投射; 臂旁核; 胃泌素释放肽受体神经元; 痒觉; 抓挠行为

Central Circuitry Mechanisms of Itch Sensation

Mu Di^{1,2}, Sun Yangang^{1*}

(¹Institute of Neuroscience, State Key Laboratory of Neuroscience, Chinese Academy of Sciences Center for Excellence in Brain Science and Intelligence Technology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Itch, or pruritus, is an unpleasant cutaneous sensation that triggers scratching behaviors. Much progress has been made in understanding the molecular and cellular mechanisms of itch at the spinal level.

*通讯作者。Tel: 021-54921751, E-mail: yangang.sun@ion.ac.cn

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921751, E-mail: yangang.sun@ion.ac.cn

网络出版时间: 2018-01-03 17:17:53

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180103.1717.006.html>

However, how itch information is transmitted to the brain and what central circuits underlie the itch-induced scratching behavior remain largely unknown. We found that the spinoparabrachial pathway was activated during itch processing, and that optogenetic suppression of this pathway impaired itch-induced scratching behaviors. Itch-mediating spinal neurons, which express the gastrin-releasing peptide receptor (GRPR), are di-synaptically connected to parabrachial nucleus (PBN) via glutamatergic spinal projection neurons. In addition, we confirmed the functional role of PBN in itch processing. We found that the activity of PBN neurons was elevated during itch processing. At behavioral level, inhibition of the PBN neurons or blockade of synaptic release of glutamatergic neurons in the PBN suppressed pruritogen-induced scratching behavior and relieved chronic itch, suggesting that PBN is important for itch processing. In summary, we demonstrated that the spinoparabrachial pathway plays a key role in transmitting itch signals from the spinal cord to the brain, and identified the PBN as a first central relay for the itch signal processing. Our study paves the way for further dissection of central circuit mechanisms underlying itch sensation.

Keywords spinoparabrachial pathway; parabrachial nucleus; GRPR⁺ neuron; itch; scratching behavior

1 痒觉研究背景

痒觉是一种引起强烈抓挠欲望、令人不愉快的感觉。痒觉诱发的抓挠行为可以去除已经入侵皮肤的有害物质,因此痒觉对动物个体生存有积极作用。然而,在皮肤相关的疾病中,多数疾病都会出现瘙痒症状^[1]。临床常使用抗组胺类药物治疗瘙痒,但是大多数慢性痒对抗组胺类药物不敏感。这些难以根除的瘙痒严重影响患者的生活质量。近年来,关于痒觉的神经机制研究方面取得了突破性的进展。

临床上根据对组胺受体抑制剂的敏感性将痒分为组胺依赖类型和非组胺依赖类型。一部分背根神经节神经元表达组胺受体和TRPV1(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1)通道,主要负责组胺依赖类型的痒觉^[2-3]。另外一部分背根神经节神经元表达Mrgprs(Mas-related G-protein-coupled receptors)受体家族以及TRPA1(transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1)通道^[4-5]。研究发现, Mrgprs是非组胺依赖类型痒觉的重要受体家族。MrgprA3阳性神经元的缺失显著降低痒觉诱发的抓挠行为而不影响痛觉行为,说明MrgprA3阳性神经元是一类痒觉特异神经元^[6-7]。

近些年来,许多工作研究了痒觉在脊髓水平的传递环路。2007年,研究人员发现了第一个痒觉特异的基因——胃泌素释放肽受体(gastrin-releasing peptide receptor, GRPR)基因。GRPR阳性(GRPR⁺)神经元分布在脊髓背角浅层, GRPR突变小鼠对多种致痒剂引起的抓挠行为都有下降,并且不影响机械或者温度感受阈值^[8]。杀死脊髓背角GRPR⁺神经元后,

小鼠对致痒刺激的反应几乎完全消失^[9]。这些结果说明, GRPR⁺神经元是脊髓中特异介导痒觉的神经元。最近的研究表明,脊髓中表达NPRA(natriuretic peptide receptor A)的神经元可能是GRPR⁺神经元的上游^[10]。此外,脊髓内的抑制性中间神经元对痒觉环路具有重要的调节作用。脊髓中甘氨酸能抑制性神经元是同时负责痛觉和痒觉的“门控”神经元,杀死或者抑制这群神经元会影响痛觉与痒觉行为^[11]。表达转录因子Bhlhb5(basic helix-loop-helix family, member e22)的神经元和表达神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)的抑制性神经元分别参与化学性致痒和机械性致痒的调控^[12-13]。除了来自脊髓内部的调控外,脊髓也接受来自延髓等脑区的下行调控^[14]。

那么,痒觉信息是如何从脊髓上传到大脑中的呢?以往的研究表明,脊髓的投射神经元到臂旁核(parabrachial nucleus, PBN)、延髓腹外侧区(ventral lateral medulla, VLM)、中央导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG)等脑区都有投射,其中,脑干的臂旁核有密集的来自脊髓的投射纤维分布^[15]。研究人员使用不同逆行染料同时标记投射到不同脑区的脊髓投射神经元发现,无论投射到PAG还是VLM脑区的投射神经元都会同时投射到臂旁核,进一步提示臂旁核是接受脊髓输入的重要脑区^[16]。

臂旁核可以分为外侧臂旁核、内侧臂旁核以及Kölliker-Fuse核。臂旁核中大部分神经元是兴奋性神经元,表达2型囊泡谷氨酸转运体(vesicular glutamate transporter 2, VGLUT2)^[17]。臂旁核除了接受脊髓的投射外,还接受来自延髓、脑桥、前脑、

皮层等的输入^[18-19]。臂旁核的输出包括脊髓、延髓、脑桥、中脑、前脑等^[18,20-21]。臂旁核的一个重要下游脑区是中央杏仁核(central amygdala, CeA)^[22-23]。以往的研究提示, 臂旁核参与多种生理过程, 包括传递痛和痒觉^[24-25]、调节情绪^[26-27]、控制摄食^[28]等。然而, 臂旁核在痒觉信息处理中的作用并不十分清楚。所以, 我们深入研究了脊髓-臂旁核投射以及臂旁核脑区在痒觉信息处理中的作用^[29], 旨在揭示痒觉传递的中枢环路机制。

2 脊髓-臂旁核投射参与痒觉信息传递

我们验证了脊髓投射到臂旁核的神经元在痒觉刺激时被激活。我们在臂旁核注射逆染料标记脊髓投射到臂旁核的神经元。在皮内注射致痒剂后发现, 部分被逆标的细胞表达c-Fos蛋白。这说明, 部分脊髓投射到臂旁核的神经元在痒觉抓挠行为过程中被激活, 提示痒觉信息可以经过脊髓-臂旁核投射传入大脑。

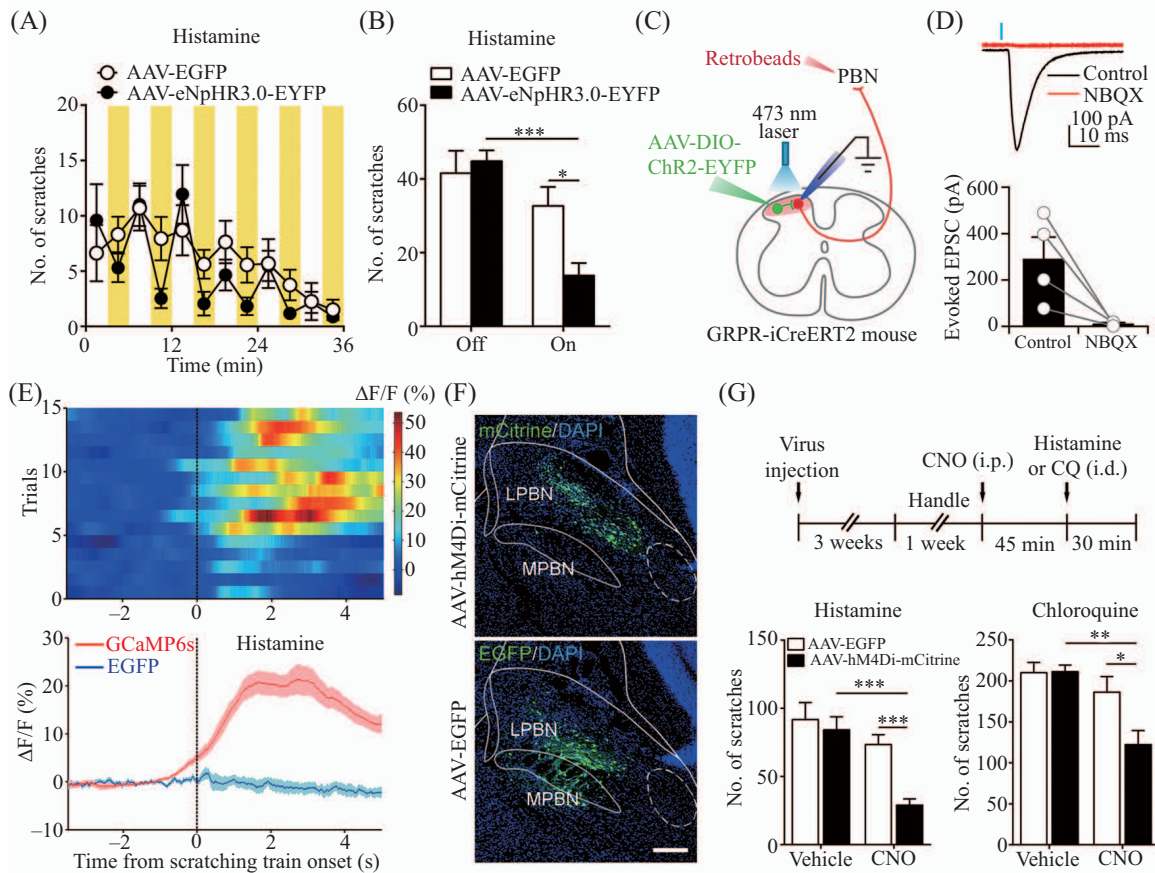
我们进一步使用光遗传学操控脊髓-臂旁核环路, 研究脊髓-臂旁核投射在痒觉中的作用。我们向野生型小鼠的脊髓注射AAV-eNpHR3.0-EYFP病毒(eNpHR3.0实验组)或者AAV-EGFP对照病毒(EGFP对照组), 并在双侧臂旁核埋植光纤。eNpHR3.0是一种人工改造的氯离子泵, 可以在560~590 nm光照下引起细胞膜电位超极化, 抑制动作电位的产生, 是常用的光遗传抑制工具^[30]。我们先给小鼠皮内注射致痒剂, 再通过光照抑制脊髓-臂旁核投射, 比较eNpHR3.0组给光时抓挠行为与不给光时抓挠行为是否有差异以及eNpHR3.0实验组与对照组整体是否有差异。我们发现, 在组胺致痒模型中, eNpHR3.0实验组在给光期间的抓挠次数相对不给光期间明显减少, 而同样的给光并没有使EGFP对照组有明显改变。在给光期间, eNpHR3.0组的抓挠次数明显低于对照组(图1A和图1B)。这些结果说明, 抑制脊髓-臂旁核投射会减少组胺引起的抓挠行为。在氯喹致痒模型中, 我们发现了类似的现象。小鼠运动能力并未受到光抑制脊髓-臂旁核投射的影响。这些结果说明, 脊髓-臂旁核投射对组胺依赖类型和非组胺依赖类型致痒剂诱发抓挠行为都是必要的。

接下来的问题是, 脊髓投射到臂旁核的神经元是否直接接受脊髓GRPR⁺神经元的输入? 为了标记并操控GRPR⁺神经元, 我们构建了GRPR-iCreERT2

转基因小鼠。这种小鼠在他莫昔芬(tamoxifen)诱导情况下启动Cre重组酶的功能^[31]。我们使用单细胞RT-PCR实验对转基因小鼠的特异性进行了验证, 发现这种小鼠标记的GRPR⁺神经元的大部分都表达*Grpr* mRNA。这些GRPR⁺神经元绝大部分表达*Vglut2* mRNA, 提示GRPR⁺神经元是兴奋性神经元。另外, 通过组化实验, 我们发现, GRPR⁺神经元不直接向大脑投射, 提示GRPR⁺神经元是本地神经元。这些结果与之前对GRPR⁺神经元性质的认识一致^[32]。那么, 这些GRPR⁺神经元是否与脊髓投射到臂旁核的神经元形成突触连接, 进而将痒觉传递到大脑呢? 通过急性分离脊髓片电生理记录, 我们发现, 脊髓GRPR⁺神经元和脊髓投射到臂旁核的神经元存在兴奋性单突触连接(图1C和图1D), 另外, 通过脑片电生理记录, 我们发现, 脊髓投射到臂旁核也是单级兴奋性突触连接。所以GRPR⁺神经元到臂旁核存在两级兴奋性投射的结构, 痒觉信息可以通过这条环路传递到大脑中的臂旁核。

3 臂旁核是参与痒觉信息处理的重要脑区

我们进一步研究了在痒觉抓挠过程中臂旁核细胞的活性变化。我们的实验结果表明, 给予致痒刺激后, 臂旁核中c-Fos阳性神经元数量显著增加。并且, 这些c-Fos阳性细胞绝大部分是谷氨酸能兴奋性细胞。这提示, 臂旁核参与痒觉信息处理过程。我们进一步采用在体光纤钙成像和在体胞外记录的方法发现, 臂旁核细胞群体钙信号以及单细胞电活动与抓挠行为有明显相关性。在抓挠动作开始之前, 臂旁核细胞的钙信号已经开始上升(图1E), 说明臂旁核细胞活性可能与痒觉信息传递相关。为了进一步在痒觉抓挠过程中将痒觉感觉输入区与抓挠所引起的机械感觉输入区分开, 我们采用了GRPR-iCreERT2小鼠与光遗传结合的方法。在GRPR⁺神经元中表达光敏感通道ChR2(channel-rhodopsin 2)后, 在脊髓埋植无线LED, 通过给光诱导稳定的抓挠行为。这种抓挠行为出现的时间点和给光之间存在延迟, 一般在0.2~0.5 s。在这个时间窗口中, LED光照可以引发GRPR⁺神经元激活, 痒觉感觉信号可以传递到臂旁核。但是因为还没有出现抓挠行为, 所以小鼠没有机械感觉输入。此时, 臂旁核神经元的钙信号变化反应的是痒觉感觉信息对神经元的影响。我们发现, 臂旁核钙信号在给光开始时间点开始升



A, B: 光遗传学抑制脊髓到臂旁核投射降低组胺引起抓挠行为。A: 为36 min抓挠行为, 黄色区域数据点为给予黄色激光抑制的抓挠行为, eNpHR3.0实验组明显低于对照组; B: 为统计结果。C: 脊髓电生理记录示意图。D: 电生理记录显示, 光诱发的兴奋性突触后电流, 上图黑色为加药前, 红色为加入拮抗剂后电流减小, 下图为统计图。E: 在组胺模型中, 光纤钙成像记录臂旁核神经元的钙信号变化与抓挠行为有相关性。F: 在臂旁核中腺相关病毒的表达情况。G: 药理遗传学抑制臂旁核对痒觉诱发的抓挠行为的影响。上图为实验流程图, 下图为抑制臂旁核明显减少组胺与氯喹诱发的抓挠行为。

A, B: effect of optogenetic inhibition of the spino-parabrachial pathway on scratching behavior in response to histamine. A: 36 min scratching behavior. Each point represents the number of scratching bouts in light on period (yellowed shaded) or light off period. eNpHR3.0 group showed less scratching behaviors than EGFP group during light on period. B: the total number of scratching bouts during light on or off phase in response to histamine. C: schematic depicting virus and retrobeads injection as well as recording configuration in spinal slices. D: photostimulation evoked EPSCs in beads⁺ neurons. Top: representative traces showing EPSCs before (black) and after BNQX (red). Bottom: summary data showing the amplitude of light-evoked EPSCs. E: calcium transients associated with scratching behavior induced by histamine. Top: the heatmap illustrating calcium signals aligned to the beginning of scratching trains. Bottom: mean fluorescent signal of mice injected with AAV-hSyn-GCaMP6s (red) or AAV-hSyn-EGFP (blue) in the PBN in response to histamine. F: expression of hM4Di-mCitrine or EGFP in the PBN. G: effect of pharmacogenetic inhibition of the PBN on the scratching behavior. Top: timeline of the behavioral experiment. Bottom: scratching behavior in response to histamine or chloroquine.

图1 脊髓-臂旁核环路参与痒觉信息传递(根据参考文献[29]修改)

Fig.1 Functional role of spino-parabrachial pathway in itch processing (modified from reference [29])

高, 这说明臂旁核的钙信号上升是激活GRPR⁺神经元引起的。我们进一步分析发现, 在抓挠行为开始的时间点, 小鼠的钙信号已经基本达到稳定, 抓挠动作并没有明显继续使钙信号升高, 这进一步说明机械感觉输入并不是钙信号上升的主要原因。

我们采用了两种方法研究臂旁核在痒觉抓挠行为中的作用。第一种是采用药理遗传学整体抑制臂旁核细胞活性, 第二种是利用Cre-Loxp系统敲除臂旁核Vglut2阻断臂旁核的兴奋性突触输出。

我们首先使用药理遗传学整体抑制臂旁核, 研究其在痒觉中的作用。我们向小鼠双侧臂旁核注射AAV-hM4Di-mCitrine病毒或者AAV-EGFP对照病毒(图1F)。hM4Di改造自毒蕈碱型乙酰胆碱受体(the human muscarinic acetylcholine receptor, mAChRs)亚型M4^[33]。改造后的对应配体是氯氮平-N-氧化物(clozapine N-oxide, CNO)。小鼠本身不含有这种化合物, 当我们给予小鼠CNO后可以激活hM4Di以及它所偶联的Gi信号通路, 导致神经元被抑制。我们

发现整体抑制臂旁核活性后, 无论是注射组胺、氯喹, 还是蛙皮素(bombesin)引起的急性抓挠行为都有明显降低(图1G), 这说明臂旁核对组胺依赖以及非组胺依赖类型的痒觉抓挠行为都是必要的。在组胺模型中, 这种抓挠行为降低程度更明显, 这与之前的c-Fos在组胺模型中表达更多相一致。

臂旁核中主要的细胞类型是谷氨酸能兴奋性神经元, 而且谷氨酸能神经元在痒觉诱发的抓挠行为中被激活。我们推测, 谷氨酸能神经元是参与痒觉信息传递的主要细胞类型。臂旁核中的谷氨酸能兴奋性神经元主要表达2型囊泡谷氨酸转运蛋白(vesicular glutamate transporter 2, VGLUT2), 囊泡谷氨酸转运蛋白的主要作用是将谷氨酸运输到囊泡。敲除*Vglut2*基因可以阻断臂旁核的突触传递^[17]。我们向*Vglut2*^{fl/fl}小鼠的双侧臂旁核注射编码Cre重组酶的AAV(adenovirus-associated virus)病毒, 在Cre重组酶表达后, 会将*Vglut2*的第2个外显子敲除。我们通过光遗传学与脑片电生理记录结合的方法验证了敲除*Vglut2*后, 臂旁核到中央杏仁核的兴奋性突触传递被阻断。

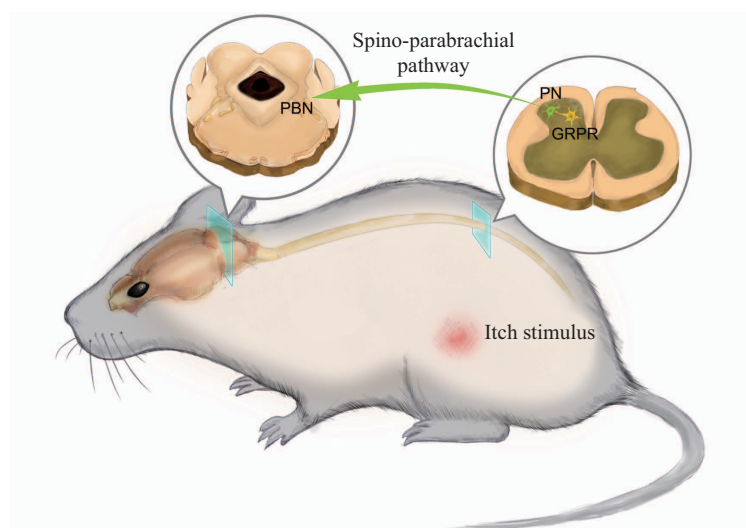
我们发现, 敲除臂旁核中的*Vglut2*后, 小鼠对组胺依赖类型致痒剂(组胺、compound 48/80、HTMT、clobenpropit)、非组胺类型致痒剂(氯喹、5-HT、ET-1)以及鞘内注射蛙皮素引起的抓挠行为都有显著的降低。这说明, 臂旁核中谷氨酸能神经

元参与多种急性痒觉。不同于急性痒模型, 过敏性痒或者慢性痒可能存在皮肤组织损伤, 引起痒觉环路敏化, 是临床常见的瘙痒症状^[34-35]。在过敏性痒模型中, 我们发现, 阻断臂旁核的兴奋性突触传递能够减少过敏原引起的抓挠。在DNFB(1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene)慢性痒模型中, 阻断臂旁核的兴奋性突触传递可以减少DNFB引起的急性和慢性痒觉抓挠行为。这部分结果提示, 臂旁核参与过敏性和慢性痒觉过程, 这为治疗慢性瘙痒疾病提供了一个新的方向。

4 总结与展望

我们的研究表明, 脊髓中痒觉特异的GRPR⁺神经元通过脊髓投射神经元间接地将痒觉信息传入大脑臂旁核(图2)。脊髓-臂旁核环路在痒觉信息处理中发挥重要作用。此外, 臂旁核是痒觉信息处理的关键脑区。该研究为进一步解析中枢神经系统中痒觉信息处理环路提供了基础。

关于痒觉信息的传递还有若干问题没有解决, 有待深入研究。第一个问题是脊髓到臂旁核的双侧投射的功能是否有区别; 第二个问题是臂旁核是否参与痒觉相关情绪成分的处理; 第三个问题是脊髓丘脑束在痒觉中的功能是什么; 第四个问题是脊髓投射神经元中是否存在特异传递痒觉的神经元。



脊髓中介导痒觉信息的GRPR⁺神经元通过兴奋性突触将痒觉信息传递给脊髓投射到臂旁核的神经元, 再由这些兴奋性投射神经元传递到臂旁核脑区。

Itch-mediating spinal neurons, which express the gastrin-releasing peptide receptor (GRPR), are disynaptically connected to the parabrachial nucleus (PBN) via glutamatergic spinal projection neurons (PN).

图2 痒觉信息从脊髓到大脑传递通路示意图(根据文献[29]修改)

Fig.2 Schematic showing a central neural circuit critical for itch signal processing (modified from reference [29])

参考文献 (References)

- 1 Weisshaar E. Epidemiology of itch. *Curr Probl Dermatol* 2016; 50: 5-10.
- 2 Jutel M, Akdis M, Akdis CA. Histamine, histamine receptors and their role in immune pathology. *Clin Exp Allergy* 2009; 39(12): 1786-800.
- 3 Shim WS, Tak MH, Lee MH, Kim M, Kim M, Koo JY, *et al.* TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase. *J Neurosci* 2007; 27(9): 2331-7.
- 4 Dong X, Han S, Zylka MJ, Simon MI, Anderson DJ. A diverse family of GPCRs expressed in specific subsets of nociceptive sensory neurons. *Cell* 2001; 106(5): 619-32.
- 5 Xiao B, Patapoutian A. Scratching the surface: a role of pain-sensing TRPA1 in itch. *Nat Neurosci* 2011; 14(5): 540-2.
- 6 Han L, Ma C, Liu Q, Weng HJ, Cui Y, Tang Z, *et al.* A subpopulation of nociceptors specifically linked to itch. *Nat Neurosci* 2012; 16(2): 174-82.
- 7 Liu Q, Tang Z, Surdenikova L, Kim S, Patel KN, Kim A, *et al.* Sensory neuron-specific GPCR Mrgprs are itch receptors mediating chloroquine-induced pruritus. *Cell* 2009; 139(7): 1353-65.
- 8 Sun YG, Chen ZF. A gastrin-releasing peptide receptor mediates the itch sensation in the spinal cord. *Nature* 2007; 448(7154): 700-3.
- 9 Sun YG, Zhao ZQ, Meng XL, Yin J, Liu XY, Chen ZF. Cellular basis of itch sensation. *Science* 2009; 325(5947): 1531-4.
- 10 Mishra SK, Hoon MA. The cells and circuitry for itch responses in mice. *Science* 2013; 340(6135): 968-71.
- 11 Foster E, Wildner H, Tudeau L, Haueter S, Ralvenius WT, Jejen M, *et al.* Targeted ablation, silencing, and activation establish glycinergic dorsal horn neurons as key components of a spinal gate for pain and itch. *Neuron* 2015; 85(6): 1289-304.
- 12 Ross SE, Mardinly AR, McCord AE, Zurawski J, Cohen S, Jung C, *et al.* Loss of inhibitory interneurons in the dorsal spinal cord and elevated itch in Bhlhb5 mutant mice. *Neuron* 2010; 65(6): 886-98.
- 13 Bourane S, Duan B, Koch SC, Dalet A, Britz O, Garcia-Campmany L, *et al.* Gate control of mechanical itch by a subpopulation of spinal cord interneurons. *Science* 2015; 350(6260): 550-4.
- 14 Zhao ZQ, Liu XY, Jeffry J, Karunarathne WKA, Li JL, Munanairi A, *et al.* Descending control of itch transmission by the serotonergic system via 5-HT1A-facilitated GRP-GRPR signaling. *Neuron* 2014; 84(4): 821-34.
- 15 Bernard JF, Dalle R, Raboisson P, Villanueva L, Bars D Le. Organization of the efferent projections from the spinal cervical enlargement to the parabrachial area and periaqueductal gray. A PHA-L study in the rat. *J Comp Neurol* 1995; 353(4): 480-505.
- 16 Todd AJ. Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn. *Nat Rev Neurosci* 2010; 11(12): 823-36.
- 17 Kaur S, Pedersen NP, Yokota S, Hur EE, Fuller PM, Lazarus M, *et al.* Glutamatergic signaling from the parabrachial nucleus plays a critical role in hypercapnic arousal. *J Neurosci* 2013; 33(18): 7627-40.
- 18 Herbert H, Moga MM, Saper CB. Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *J Comp Neurol* 1990; 293(4): 540-80.
- 19 Tokita K, Inoue T, Boughter JD. Afferent connections of the parabrachial nucleus in C57BL/6J mice. *Neuroscience* 2009; 161(2): 475-88.
- 20 Saper C, Loewy A. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 1980; 197(2): 291-317.
- 21 Fulwiler CE, Saper CB. Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 1984; 319(3): 229-59.
- 22 Bernard JF, Alden M, Besson JM. The organization of the efferent projections from the pontine parabrachial area to the amygdaloid complex: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin (PHA-L) study in the rat. *J Comp Neurol* 1993; 329(2): 201-29.
- 23 Jasmin L, Burke AR, Card JP, Basbaum AI. Transneuronal labeling of a nociceptive pathway, the spino-(trigemino-) parabrachio-amygdaloid, in the rat. *J Neurosci* 1997; 17(10): 3751-65.
- 24 Hylden JL, Hayashi H, Dubner R, Bennett GJ. Physiology and morphology of the lamina I spinomesencephalic projection. *J Comp Neurol* 1986; 247(4): 505-15.
- 25 Jansen NA, Giesler GJ. Response characteristics of pruriceptive and nociceptive trigeminoparabrachial tract neurons in the rat. *J Neurophysiol* 2015; 113(1): 58-70.
- 26 Han S, Soleiman MT, Soden ME, Zweifel LS, Palmiter RD. Elucidating an affective pain circuit that creates a threat memory. *Cell* 2015; 162(2): 363-74.
- 27 Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009; 139(2): 267-84.
- 28 Carter ME, Soden ME, Zweifel LS, Palmiter RD. Genetic identification of a neural circuit that suppresses appetite. *Nature* 2013; 503(7474): 111-4.
- 29 Mu D, Deng J, Liu KF, Wu ZY, Shi YF, Guo WM, *et al.* A central neural circuit for itch sensation. *Science* 2017; 357(6352): 695-9.
- 30 Gradinaru V, Zhang F, Ramakrishnan C, Mattis J, Prakash R, Diester I, *et al.* Molecular and cellular approaches for diversifying and extending optogenetics. *Cell* 2010; 141(1): 154-65.
- 31 Imayoshi I, Sakamoto M, Ohtsuka T, Takao K, Miyakawa T, Yamaguchi M, *et al.* Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci* 2008; 11(10): 1153-61.
- 32 Wang X, Zhang J, Eberhart D, Urban R, Meda K, Solorzano C, *et al.* Excitatory superficial dorsal horn interneurons are functionally heterogeneous and required for the full behavioral expression of pain and itch. *Neuron* 2013; 78(2): 312-24.
- 33 Armbruster BN, Li X, Pausch MH, Herlitze S, Roth BL. Evolving the lock to fit the key to create a family of G protein-coupled receptors potently activated by an inert ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(12): 5163-8.
- 34 Inagaki N, Shiraishi N, Igeta K, Itoh T, Chikumoto T, Nagao M, *et al.* Inhibition of scratching behavior associated with allergic dermatitis in mice by tacrolimus, but not by dexamethasone. *Eur J Pharmacol* 2006; 546(1/2/3): 189-96.
- 35 Schneider G, Ständer S, Burgmer M, Driesch G, Heuft G, Weckesser M. Significant differences in central imaging of histamine-induced itch between atopic dermatitis and healthy subjects. *Eur J Pain* 2008; 12(7): 834-41.