

令和元年6月7日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16759

研究課題名(和文) 包括的緩和医療におけるオキシトシンの有用性の統合的分子解析

研究課題名(英文) Integrated molecular analysis the utility of oxytocin for comprehensive palliative care.

研究代表者

河田 美穂 (Kawata, Miho)

藤田医科大学・医学部・助教

研究者番号：90761601

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)：本研究により、オキシトシンが中脳辺縁ドパミン神経の活動を亢進すること、オキシトシン点鼻投与が側坐核におけるドパミン遊離量を上昇させると共に、神経障害性疼痛モデルにおいて鎮痛効果を示すことが明らかとなった。腹側被蓋野における遺伝子発現解析を行なった結果、オキシトシン点鼻投与によるチロシン水酸化酵素およびオキシトシン受容体の発現変化は認められなかったことから、オキシトシンはドパミン神経の形態学的変化や細胞内遺伝子発現変動を伴わず、オキシトシン受容体下流シグナルの活性化などの細胞活性調節変化によってドパミン神経を賦活化する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでオキシトシンによる鎮痛効果は 1) 脊髄に分泌されたオキシトシンが広作動域(WDR)ニューロンを抑制すると共に GABA ニューロンを活性化し、2) 下垂体から血中に分泌されたオキシトシンが脊髄後根神経節(DRG)の細胞体および侵害受容繊維を抑制する、という上記2経路によって発揮されると考えられていた。本研究により、オキシトシンが中脳辺縁ドパミン神経系を直接活性化し鎮痛効果を発揮する、という新たな鎮痛発現経路が明らかとなった。また本研究成果から、オキシトシン点鼻薬が服薬困難な患者に対して負担や副作用の少ない新しい疼痛治療薬の候補となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that the application of oxytocin induced dopamine neuron depolarization. We also revealed that the intranasal oxytocin administration significantly increased dopamine release in nucleus accumbens and showed analgesic effect in neuropathic pain model mice. Gene expression analysis indicated that both tyrosine hydroxylase (TH) and oxytocin receptor (OXTR) were unaffected by intranasal oxytocin administration. Thus, oxytocin may activate dopaminergic network by modulating OXTR downstream signaling, but not morphology or gene expression profile of the dopamine neuron.

研究分野：麻酔科学

キーワード：オキシトシン 緩和医療 ドパミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん性疼痛はトータルペイン (全人的苦痛) と言われ、身体的苦痛のみならず、持続する痛みに伴って患者が受ける心理的ストレス、恐怖・絶望感といった精神的苦痛 (不安、うつ状態)、社会的苦痛 (人間関係、仕事や家庭の問題)、スピリチュアルペイン (絶望感、死への恐怖) を生み出す。そのため、がん性疼痛治療には、トータルペインの包括的緩和が必要不可欠となる。

オキシトシンは、視床下部において産生、分泌される 9 アミノ酸の小さなペプチドホルモンであるが、母性行動、性行動、ストレス応答、社会性向上、抗うつ作用や恐怖行動の減少など非常にバラエティに富んだ生理作用を有している。また、視床下部オキシトシン神経は脊髄内に投射しており、直接的に痛み刺激を抑制すると共に、下垂体後葉からのオキシトシン分泌を促進させ、血中濃度を高めることで間接的に鎮痛効果をもたらす可能性が指摘されている。さらに興味深いことに、近年、腹側被蓋野ドパミン神経細胞上にオキシトシン受容体が発現していることが明らかとなり、視床下部から遊離したオキシトシンが直接的に腹側被蓋野ドパミン神経を活性化する可能性が示された。

これまでの研究により、がん性疼痛および神経障害性疼痛下において、中脳辺縁ドパミン神経の活動が著しく低下することが明らかとなっており、実際に、中脳辺縁ドパミン神経系の特異的活性化制御により、除痛効果が得られることが示されている。このことから、中脳辺縁ドパミン神経系の機能回復は鎮痛作用、快情動、意欲向上、免疫力上昇作用を発揮する可能性が示唆される。

以上のことを踏まえると、オキシトシンはトータルペインを改善し得る新規治療薬となることが期待される。しかしながら、オキシトシンによる鎮痛効果の発揮および中脳辺縁ドパミン神経系の賦活化機構についての詳細は明らかとなっていない。そこで本研究では、オキシトシンによる中脳辺縁ドパミン神経系制御機構に焦点を当て、オキシトシンによる鎮痛発現の詳細な分子機構を解明し、疼痛治療薬として有効か否かを検討することを目的とした。

2. 研究の目的

緩和医療におけるオキシトシンの有用性を明らかにすることを目的とする。特に、オキシトシンによる中脳辺縁ドパミン神経系の活動制御機構の解析を行い、オキシトシンの詳細な分子機構を探ると共に、がん性疼痛治療薬としての可能性を探索する。

3. 研究の方法

(1) 電気生理学的手法による腹側被蓋野ドパミン神経細胞活動の記録

C57BL/6J 雄性マウスより、腹側被蓋野領域を含む急性脳スライス切片を作製した。人工脳脊髄液の灌流条件下で、作製した急性脳スライスにオキシトシンを添加した際のドパミン神経細胞記録を current clamp 法により測定した。

(2) *in vivo* microdialysis 法による側坐核内ドパミン遊離量の測定

C57BL/6J 雄性マウスの側坐核にマイクロダイアリシス用直埋型透析プローブを留置した。人工脳脊髄液をマイクロシリンジポンプにより灌流し、灌流液は 15 分ごとにオートインジェクターに回収した。電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィー装置を用いて、回収した灌流液内のドパミンの分離ならびに定量を行なった。

(3) 神経障害性疼痛モデルマウスの作製および熱刺激に対する痛覚過敏反応の測定

神経障害性疼痛モデルマウスは、C57BL/6J 雄性マウスの右側後肢大腿部の坐骨神経を半周だけ強度に結紮することにより作製した。熱痛覚過敏反応は足底熱刺激装置を用いて測定し、マウスの両側後肢の足蹠表層にそれぞれ熱刺激を与えた際に後肢を跳ねのけるまでの反応潜時を指標とした。測定は坐骨神経結紮前および結紮 1, 2 および 4 週間後に行い、オキシトシン点鼻投与による熱刺激に対する反応潜時の変化を検討した。

(4) 腹側被蓋野における各種遺伝子発現解析

Saline 点鼻投与マウス群、オキシトシン点鼻投与マウス群から、それぞれ腹側被蓋野組織を摘出し、RNA 抽出および cDNA 合成を行なった。qPCR により、腹側被蓋野における各種遺伝子発現の解析を行なった。

4. 研究成果

(1) オキシトシン処置による腹側被蓋野ドパミン神経細胞の活動電位変化

オキシトシンがドパミン神経を直接的に活性化するかどうかを検討するため、腹側被蓋野を含む脳スライスにオキシトシンを処置し、電気生理学的手法により腹側被蓋野ドパミン神経細胞の活動電位変化を検討した。その結果、オキシトシン処置によって腹側被蓋野ドパミン神経細胞の活動亢進が認められた。このことから、オキシトシンはドパミン神経に直接作用し、神経活動を亢進させることが明らかとなった。

(2) オキシトシン点鼻投与による側坐核内ドパミン遊離量の変化

オキシトシンの点鼻投与によりドパミン遊離量が変化するかを検討するため、*in vivo* microdialysis 法に従い、側坐核内ドパミン遊離量を測定した。その結果、saline 点鼻投与群と比較して、oxytocin 100ng 点鼻投与群において、側坐核内ドパミン遊離量の有意な増加が認められた。

(3) オキシトシン点鼻投与による神経障害性疼痛モデルマウスにおける疼痛閾値変化

神経障害性疼痛に対するオキシトシンの鎮痛効果を検討するため、C57BL/6J マウスを用い、坐骨神経結紮 1, 2 および 4 週間後において、オキシトシン点鼻投与を行なった際の疼痛閾値変化を検討した。その結果、坐骨神経結紮 1, 2 および 4 週間後の全ての時点において、saline 点鼻投与群と比較し、oxytocin 100 ng 点鼻投与群において、熱刺激に対する反応潜時の有意な延長が認められた。

(4) オキシトシン点鼻投与による腹側被蓋野遺伝子発現変動の解析

これまでの研究結果から、オキシトシン 100ng の点鼻投与により、側坐核ドパミン遊離量の 30% の増加、神経障害性疼痛の 52% の改善が得られることが明らかとなった。そこで、オキシトシン 100ng 点鼻投与における薬理効果発現機構を明らかにするために、中脳辺縁ドパミン神経の賦活化機構に焦点を当て、腹側被蓋野における各種遺伝子発現解析を行った。ドパミン合成律速酵素であるチロシン水酸化酵素 (TH) およびオキシトシン受容体の遺伝子発現を検討した結果、oxytocin 100ng 点鼻投与による遺伝子発現の有意な変化は認められなかった。このことから、オキシトシン点鼻投与によるドパミン遊離量の増加や鎮痛効果の発揮は、ドパミン神経の形態学的変化や細胞内遺伝子発現変動によって引き起こされるのではなく、ドパミン神経内で誘導されるオキシトシン受容体下流シグナルの活性化などの細胞活性調節変化によって引き起こされる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

渡邊 萌、目黒由行、濱田祐輔、近藤貴茂、河田美穂、成田道子、葛巻直子、成田 年「がん性疼痛ならびに神経障害性疼痛に対するオキシトシンによる鎮痛効果とその発現機序の解析」第 11 回日本緩和医療薬学会年会、口頭発表、札幌、2017 年

〔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：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。