

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08863

研究課題名（和文）下行性疼痛調節系の脳 脊髄連関の機序解明

研究課題名（英文）The elucidation of the brain-spinal cord interactions involved in descending pain modulation

研究代表者

河野 達郎 (KOHNO, Tatsuro)

国際医療福祉大学・国際医療福祉大学成田病院・教授

研究者番号：00313536

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：脳から脊髄に投射している下行性抑制系は生体での内因性鎮痛の中でも重要な役割を果たしている。通常はこの系が賦活化されると痛みが抑えられると考えられているが、神経障害性疼痛ではこの系の賦活化により痛みが強くなる、すなわち下行性促進系になっているとも言われている。しかし、脳と脊髄の神経ネットワークを保持した状態での下行性調節系の詳細な機序は解明されていない。加えて、下行性抑制系を賦活化すると言われている薬剤が本当に脊髄で痛みの伝達を抑制しているのかは証明されていない。これらの疑問を解決するために、脳脊髄ネットワークが保たれている生体動物を用い、下行性調節系の脳脊髄連関の機序を明らかにする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体はある特殊な状況において痛みを抑制するような内因性鎮痛系を備えている。中でも、脳幹から脊髄に投射する下行性疼痛抑制系は重要な経路である。しかし、これまでの行動薬理学的解析ではニューロンレベルでの詳細な機序は明らかにできない。さらに、脊髄スライス標本では上位中枢からの神経ネットワークが保たれていないため、スライスで観察された現象がin vivoの生体にも観察されるのか、神経障害性疼痛に有効な薬剤が本当に下行性抑制系を賦活化して痛みを制御しているのか、などの疑問は解決できていない。この問題を解決し明らかにすることにより臨床での神経障害性疼痛に対する有効な薬剤の使い方に応用できると考えられる。

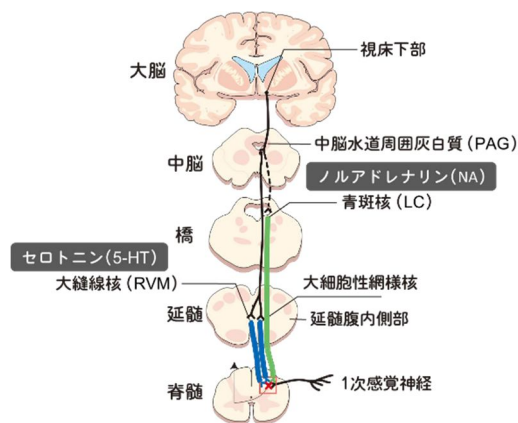
研究成果の概要（英文）：The descending inhibitory system projecting from the brain to the spinal cord plays a crucial role in endogenous pain modulation. Typically, activation of this system is thought to suppress pain. However, in neuropathic pain conditions, it has been suggested that activation of this system may paradoxically exacerbate pain, functioning as a descending facilitatory system. Nevertheless, the detailed mechanisms of the descending pain modulation system, using the animals which maintain the neural networks between the brain and spinal cord, remain unclear. Furthermore, there is no definitive proof whether drugs supposed to activate the descending inhibitory system actually suppress pain transmission in the spinal cord. To address these uncertainties, this study aims to elucidate the mechanisms of brain-spinal cord interactions in the descending pain modulation system using live animal models, which preserve the integrity of the brain-spinal cord network.

研究分野：麻酔科学

キーワード：下行性疼痛抑制系 脳 脊髄連関

1. 研究開始当初の背景

生体は生命が脅かされるような特殊な状況において一時的に痛みを抑制するような防御システムの内因性鎮痛系を備えている。戦場での負傷兵士が痛みを訴えないなどがその良い例である。このような内因性鎮痛系の中でも、脳幹から脊髄に投射するノルアドレナリン (NA)・セロトニン (5-HT) 下行性疼痛抑制系は極めて重要な経路である(右図)。橋の青斑核 (Locus ceruleus : LC) は主要な NA 作動性ニューロンの部位であり、延髄の吻側延髄腹内側部 (rostral ventromedial medulla : RVM) は 5-HT 作動性ニューロンが密集する部位である。これらの LC・RVM ニューロンからの線維は脊髄後側索を下行して脊髄後角に分布する。この下行性抑制系が賦活化されると NA・5-HT が脊髄後角に放出され、痛み の伝達 が抑制される。



これまでこれらの下行性疼痛抑制系の研究は主に行動薬理学的解析により進められてきた。慢性疼痛ではこの抑制系の低下(脱抑制)が痛みを引き起こしていると考えられ、その低下を正常な状態に戻そうとする三環系抗うつ薬や SNRI (Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitor)、プレガバリンなどの薬剤が有効であるとされている。さらに、1990年代後半から神経障害性疼痛では、脊髄に放出された 5-HT が 5-HT₃ 受容体を介して痛みを増強する(下行性疼痛促進系)という報告もある。

加えて、近年、この下行性抑制系の機能障害による中枢機能障害性疼痛(現在では痛覚変調性疼痛と呼ばれている)という新しい概念も打ち出されている。これまで、脊髄スライス標本を用いた電気生理学的手法により得られた結果により、脊髄での局所的な NA と 5-HT の機序は明らかにされてきた。NA は脊髄後角において、シナプス前の作用として α_2 受容体を介した一次知覚神経の抑制、 α_1 受容体を介する GABA・グリシン放出による抑制性の増強によって、さらにシナプス後の作用として、 α_2 受容体を介した後角ニューロンの抑制によって痛み の伝達 を制御している。5-HT も同様に、シナプス前の作用として 5-HT₁ 受容体を介した一次知覚神経の抑制、GABA 放出による抑制性の増強によって、加えてシナプス後の作用として、5-HT₃ 受容体を介する後角ニューロンの抑制によって痛みを制御している。

しかし、行動薬理学的解析ではニューロンのシナプスレベルでの詳細な機序解明ができない。さらに、脊髄スライス標本では上位中枢からの神経ネットワークが保たれていないため、スライスで観察された現象が *in vivo* の生体にも観察されるのか、LC や RVM が刺激されると NA や 5-HT が下行性抑制系を介して脊髄に放出され痛みを制御しているのか、神経障害性疼痛では 5-HT が痛みを増強させているのか、三環系抗うつ薬などの薬剤は本当に下行性抑制系を賦活化して脊髄で痛みを制御しているのか、などの疑問は解決できていない。

2. 研究の目的

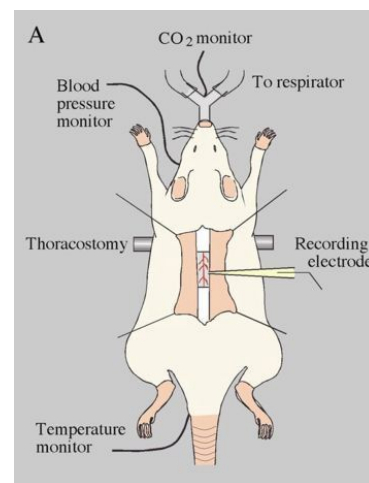
本研究の目的は脳脊髄ネットワークが保たれている生体動物を用い、下行性疼痛調節系の脳脊髄連関の機序を明らかにすることである。そのために、*in vivo* 脊髄標本でのパッチクランプ記録を行う。パッチクランプ記録は、刺激によって誘起される電流応答がリアルタイムで、かつ生体の単一ニューロンから記録でき、シナプスレベルまで詳細に解析できる電気生理学的手法である。しかし、脊髄からの *in vivo* パッチクランプ記録は非常に難しく、これができる施設は世界で数施設しかない。申請者はすでにこの方法を確立し、これまで亜酸化窒素やキセノンの作用機序、リドカイン静脈投与の脊髄での機序を明らかにしてきた。フラビン蛋白蛍光イメージング法はミトコンドリアの電子伝達系に内在するフラビン蛋白の性質に注目し、神経活動を二次元的情報として直接とらえる画期的な光学的イメージング法である。また、脊髄に直接の侵襲を加えず、ニューロンの電気活動の広がりを見視化でき、脊髄全体の時間的・空間的な興奮性の解析もできるため、電気生理学的解析では難しい点を補うことができる。さらに、近年開発されたテクニックであるオプトジェネティクスの技術を取り入れ、選択的に NA または 5-HT 含有ニューロンを刺激することも本研究の独創的な点である。このような方法で下行性疼痛調節系の痛み のメカニズムを *in vivo* 生体動物を用い、さらにシナプスレベルまで解析する。この下行性疼痛調節系の脳脊髄連関の機序を明らかにすることにより臨床での神経障害性疼痛に対する有効な薬剤の使い方に応用できると考えられる。

3. 研究の方法

1) *in vivo* 脊髄標本を用いた脊髄後角ニューロンからのパッチクランプ記録：ラットの椎弓切除を行い、脊髄を露出する。腰膨大部のクモ膜を剥離し、記録電極がアプローチし易いように処置しておく。電極を顕微鏡下に目的とする細胞に誘導する。ギガオームシールを形成させた後、

細胞膜を破りパッチクランプ記録を行う(右図)。得られた電流はパッチクランプ用増幅器により増幅し、記録後、解析する。LC または RVM ニューロン刺激により、後角ニューロンでの興奮性または抑制性シナプス伝達が変化するか、またその関与する受容体を同定する。また、後肢の侵害刺激に対する反応が LC または RVM ニューロン刺激により影響されるかを記録する。

2) 脊髄におけるフラビン蛋白蛍光イメージング解析: ラットの椎弓切除を行い、脊髄を露出する。青色励起光 (450-490 nm) を脊髄に照射し、神経活動に伴って発せられる緑色自家蛍光 (500-550 nm) を冷却 CCD カメラにより撮影する。ラットの LC または RVM ニューロン刺激により、脊髄後角でのフラビン蛋白蛍光イメージングが変化するかを観察する。後肢の侵害刺激で誘発されるイメージングの単位面積および全体の蛍光強度の測定を行う。特に、変化が観られた脊髄の領域がニューロン刺激と同側か対側か、または両側なのかを観察する。さらに、観察された現象に関与する受容体を同定する。



3) 神経障害性疼痛の治療に使われている薬剤の投与による脊髄後角ニューロンの変化: 三環系抗うつ薬、SNRI、プレガバリン、トラマドールなどの薬剤を投与した後の脊髄後角ニューロンの変化を調べる。投与後の興奮性または抑制性シナプス伝達の変化を脊髄からの *in vivo* パッチクランプ記録で行い、脊髄の時間的・空間的な変化をフラビン蛋白蛍光イメージングで解析する。また、観察された現象に関与する受容体を同定する。

4) 神経障害性疼痛モデルにおける解析: ラットの L5 脊髄神経を結紮した脊髄神経結紮モデルを作成し、行動実験により痛覚過敏を確認する。上記と同様に電気生理学的解析、フラビン蛋白蛍光イメージング実験を行う。神経障害後に下行性抑制系の低下や増強がみられるのか、また関与する NA や 5-HT 受容体に変化があるのかを調べる。さらに、上記で用いた三環系抗うつ薬などの薬剤に対する薬効を評価し、正常ラットと比較検討する。

4. 研究成果

下行性疼痛調節系の脳 脊髄との連関の機序を明らかにするため、生体動物を使った研究を行った。三環系抗うつ薬、SNRI、プレガバリン、トラマドールなどの神経障害性疼痛の治療に使われている薬剤を静脈または経口投与し、脊髄後角ニューロンの興奮性・抑制性の変化を解析した。すべての薬剤ではないが、ある薬剤では下行性抑制系のノルアドレナリンやセロトニンを賦活化して脊髄での痛みを制御している可能性が示された。さらに、薬剤によりノルアドレナリン、セロトニンのどちらを優位に賦活化しているかの違いも認められた。このような結果により臨床での神経障害性疼痛に対する有効な薬剤の使い方に応用できると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------