

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：37201

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17702

研究課題名(和文) 関節不動化が原因で生じる痛覚閾値低下による情動制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the emotional control mechanism of the decrease in pain threshold caused by the joint immobilization

研究代表者

岸川 由紀 (Kishikawa, Yuki)

西九州大学・リハビリテーション学部・講師

研究者番号：30783360

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)：本研究では、ラットの足関節を慢性的に固定し不動化したことによって誘発される機械的な痛覚過敏が側坐核におけるドパミン作動性神経伝達の変化に起因することを示した。側坐核への薬物注入と組み合わせた *in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて、側坐核でのドパミンD2受容体拮抗薬が機械的な痛覚過敏を改善することを明らかにした。側坐核でのドパミンD2受容体活性化は、正常マウスでの機械的な痛覚過敏を引き起こした。また、関節不動化ラットの側坐核におけるドパミンD2受容体(Drd2) mRNA発現量も増加していることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性的な痛みは、急性疼痛の組織損傷を伴う痛みとは異なり、ストレスや抑うつ状態などの心理的要因が痛みの認知に大きく関与する。そこで、情動の変化に関係する中脳辺縁系ドパミン神経に焦点を当て、慢性疼痛に対する新規治療の糸口を得たいと考えた。結果として、ドパミンD2受容体拮抗薬を投与すると痛覚閾値が上昇した。したがって、ドパミンD2受容体拮抗薬は慢性疼痛の治療薬となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study demonstrated that mechanical hypersensitivity induced by chronic cast immobilization was attributable to altered dopaminergic neurotransmission in the nucleus accumbens (NAc). *In vivo* microdialysis combined with drug infusion into the NAc revealed that D2 receptor blockade in the NAc reversed mechanical hypersensitivity, whereas D2 receptor activation in the NAc mimicked mechanical hypersensitivity despite normal or low dopamine levels, suggesting that mechanical hypersensitivity is presumably mediated through upregulation of postsynaptic D2 receptors in the NAc. This interpretation is supported by the increase of Drd2 mRNA in the NAc. In addition, mechanical stimulation of the cast-immobilized hind limb induced the decrease of dopamine in the NAc due to upregulation of presynaptic D2 receptors at dopaminergic terminals.

研究分野：神経薬理学

キーワード：慢性疼痛 痛覚閾値低下 関節不動化 ドパミン 側坐核

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

痛みは「不快な感覚および不快な情動体験である」と定義されている。慢性的な痛みは、急性疼痛の組織損傷を伴う痛みとは異なり、ストレスや抑うつ状態などの心理的要因が痛みの認知に大きく関与している。慢性疼痛は脳のさまざまな部位が関与しているという報告はあるものの、根底にあるメカニズムは不明な点が多い。そこで慢性疼痛の症状としてみられる痛覚閾値の低下の状態、ドパミン神経の不活化が生じ、疼痛を増悪させているのではないかと考え研究を実施した。

2. 研究の目的

関節の不動化による機能的変化として、末梢では循環障害や神経変性、筋萎縮などの局所的な組織変化、脊髄後角では神経の可塑性によるアロデニア(異痛症)が生じることが報告されている。本研究では、足部に痛覚閾値低下がみられる足関節不動化モデル動物を用い、情動の変化に関係する中脳辺縁系ドパミン神経に焦点を当て、慢性疼痛の心理的要因と痛覚閾値の低下との関連性を調べることで、慢性疼痛に対する新規治療の糸口を得たいと考えた。

3. 研究の方法

4週間足関節をギプス固定したラットの痛覚閾値を評価するため von Frey 試験を実施した。また、*in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて中脳辺縁系ドパミン神経の投射先である側坐核と中脳皮質系ドパミン神経の投射先である前頭前野のドパミン放出量を測定した。さらに、受容体の発現量を解析するため RT-PCR 法を用いて mRNA を確認した。

4. 研究成果

(1) 足部の引っ込み反応および足関節可動域に対する後肢のギプス固定の効果

左後肢をギプス固定したラット(Cast 群)に対して von Frey 試験を実施したところ、ギプス固定から1週間で痛覚閾値の低下が顕著に認められ、ギプス固定から4週後には、0.4g von Frey フィラメントの軽微な刺激でも足部の引っ込み反応(The paw withdrawal threshold; PWT)が出現した。足関節背屈可動域は、対照群と比較してギプス固定後1週間で有意に減少し、4週間継続的に減少していた。

(2) 側坐核および前頭前野における機械的刺激に対するドパミン応答の変化

4週間 Cast 群の固定側(左)と反対側(右)の側坐核および前頭前野の細胞外ドパミン基礎放出量は対照群と比較して差がなかった。対照群および Cast 群に対して、足部を von Frey フィラメントで30秒に1回20分間刺激し、側坐核のドパミン放出量の変化を測定した。対照群では30gの von Frey フィラメントの刺激によって、すべてのラットで PWT が誘発された。この条件下で、von Frey フィラメント刺激は側坐核で細胞外ドパミン放出量のわずかな増加を引き起こしたが、前頭前野では増加しなかった。Cast 群への von Frey フィラメント刺激は、6g von Frey フィラメント刺激後20-100分間で継続的に側坐核のドパミン基礎放出量の約60%まで減少させたが、0.4g von Frey フィラメント刺激で減少はみられなかった。対照的に、前頭前野では0.4gおよび6g von Frey フィラメント刺激後40-60分間で側坐核のドパミン放出量の一時的な増加を誘発した。

前頭前野のさまざまなストレッサーに反応したドパミンの増加は、これまでに広く研究されている。一方、ギプス固定誘発性の慢性疼痛による側坐核でのドパミン神経伝達の役割は完全には明らかになっていない。そこで、本研究では von Frey フィラメント刺激に反応によって生じた側坐核におけるドパミン放出量の減少メカニズムおよびギプス固定ラットにおける痛覚閾値の低下に対するドパミンの役割をさらに解明するために、中脳辺縁系ドパミン神経の投射先である側坐核について調べた。

(3) 側坐核へのドパミン D2 受容体拮抗薬の局所灌流

ギプス固定ラットにおいて側坐核のドパミン D2 受容体の機能がどう変化するかを測定した。ドパミン D2 受容体拮抗薬である raclopride を側坐核に灌流すると、 10^{-9} M では増減はなかったが、 10^{-7} M では対照群と Cast 群の両方で側坐核のドパミン放出量が増加した。特に raclopride 灌流の初期段階でのドパミン放出量の増加は、Cast 群の方が対照群よりも高かった。この結果は、ギプス固定ラットにおいて、ドパミン作動性末端からのドパミン放出を阻害するドパミン D2 受容体の機能が強化していることを示唆していたが、側坐核でのドパミン基礎放出量は変化していなかった。

次に、Cast 群の von Frey フィラメント刺激に反応したドパミン放出量の低下におけるドパミン D2 受容体の役割を明らかにするために、低用量(10^{-9} M) raclopride を側坐核に2時間灌流した後に von Frey フィラメント刺激して側坐核のドパミン放出量を調べた。対照群では、30g von Frey フィラメントで20分間足部を刺激してもドパミン放出量に変化を及ぼさなかった。し

かし、Cast 群では、6g von Frey フィラメントで 20 分間の足部刺激を行うと、刺激にตอบสนองして減少していたドパミン放出量が増加へとシフトした。これらの結果は、機械的刺激にตอบสนองしたドパミンの減少が、ギブス固定ラットの側坐核におけるドパミン D2 受容体のアップレギュレーションによって調節されていることを示唆していた。

(4) 側坐核へのドパミン D2 受容体拮抗薬と作動薬の局所灌流が PWT に及ぼす影響

側坐核のドパミン D2 受容体のアップレギュレーションが、ギブス固定ラットの PWT の応答性に関与しているかを調べた。低用量 (10^{-9} M) raclopride を側坐核に 2 時間灌流した後のドパミン D2 受容体の遮断後に von Frey 試験を実施した。これらの条件下では、von Frey 試験は側坐核のドパミン放出量に影響を与えなかったが、Cast 群の PWT が増加した。この結果は、ドパミン D2 受容体のアップレギュレーションがギブス固定ラットにおける PWT の変化に重要であることを示唆していた。

次に、Cast 群の PWT 低下は、D2 受容体機能のアップレギュレーションによって引き起こされていると考え、ギブス固定から 5 週間後の側坐核の組織でドパミン D2 受容体 (Drd2) mRNA の発現を分析した。その結果、Cast 群は対照群と比較して Drd2 の増加していた。

また、ギブス固定ラットのドパミン D2 受容体のアップレギュレーション状態を明らかにするため、ドパミン D2 受容体作動薬である quinpirole を対照群の側坐核に灌流した。側坐核に quinpirole 10^{-7} M を灌流した場合には側坐核のドパミン放出量に影響を与えなかったが、 10^{-6} M および 10^{-5} M 灌流では用量依存的に側坐核のドパミン放出量を減少した (10^{-5} M 灌流で基礎放出量の約 50%)。低用量 (10^{-7} M) および高用量 (10^{-5} M) quinpirole を 2 時間灌流した後、側坐核のドパミン放出量が一定となったところで von Frey 試験を実施した。von Frey 試験はドパミン放出量に影響を与えなかったが、低用量と高用量の両方で PWT の劇的な減少がみられた。これらの結果は、側坐核のドパミン D2 受容体の活性化によりドパミン放出量が一定または低下しているにもかかわらず、機械的刺激に対する PWT の感度を変化させることを示唆していた。以上の結果より、ドパミン D2 受容体機能はギブス固定ラットのシナプス後部位とシナプス前部位の両方でアップレギュレーションされている可能性が考えられた。ただし、シナプス前部位のドパミン D2 受容体によって調節されるドパミン放出量は、PWT の増加または減少と関連してしないため、シナプス後部位でのドパミン D2 受容体のアップレギュレーションが痛覚の感度増強に重要であると推察された。また、シナプス前部位でのドパミン D2 受容体のアップレギュレーションは、機械的な痛覚過敏を生じるモデルラットでのシナプス後部位のアップレギュレーションに対する代償的なメカニズムであることが示唆された。

(5) ドパミン D2 受容体拮抗薬の全身投与の効果

これまでの結果で、側坐核への raclopride の局所灌流によるドパミン D2 受容体拮抗作用が、Cast 群の PWT の減少を逆転させることを発見した。そのため、raclopride の全身投与においても Cast 群の PWT 減少を逆転させるのに有効であるかを調べた。Cast 群に raclopride (0.1 mg/kg) の腹腔内投与したところ、投与の 60-100 分後に側坐核でドパミンの一時的な増加を誘発した。側坐核のドパミン放出量が最大に増加した raclopride 投与 60 分後に von Frey 試験を実施した。これらの条件下で、raclopride は Cast 群の非常に低い PWT を上昇させ、ドパミン D2 受容体拮抗薬の全身投与がギブス固定によって引き起こされる機械的な痛覚過敏を改善するのに効果的であることが示唆された。

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
---------	---------