

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19603004

研究課題名 (和文) 疼痛による情動の発現機序と学習記憶効果

研究課題名 (英文) Mechanisms of pain-induced emotion and its effects on learning and memory

研究代表者

片淵 俊彦 (KATAFUCHI TOSHIHIKO)

九州大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：80177401

研究成果の概要:急性あるいは慢性的な疼痛をコントロールすることが困難な理由の一つに感染や疼痛というストレス刺激によって不安、恐怖、およびうつなどの情動が発現し、それらが学習記憶されることで感覚認知の鋭敏化や遷延化を引き起こしていることが考えられる。従って痛覚を受容する中枢神経系として、視床や大脳皮質感覚野以外に、視床下部や、扁桃体、海馬、および前帯状回などの辺縁系の重要性が示唆される。実際、poly I:Cによる感染ストレス時に、視床下部室傍核、視索前野および帯状回において、IFN- $\gamma$  やセロトニントランスポーターの発現が増強し、痛覚伝達において重要な役割を果たしている脊髄後角膠様質ニューロンに対し、セロトニンが5-HT<sub>1A</sub>受容体を介して、K<sup>+</sup>イオンチャンネルの開放による抑制を起こすこと、および膠様質のGABA含有抑制性ニューロンに対し5-HT<sub>3</sub>受容体を介して活動を上昇させ抑制性シナプス後膜電流を増加させることなどが明らかになった。これらの作用は、侵害受容機構において、セロトニン下行性鎮痛系の作用機序をになうものと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：疼痛学

キーワード：感染ストレス、辺縁系、下行性セロトニン系、サイトカイン、セロトニントランスポーター、セロトニン 1A 受容体、脊髄膠様質

## 1. 研究開始当初の背景

(1)急性あるいは慢性的な疼痛をいかにコントロールするかは、われわれにとって重要な課題であり、そのための基礎的な研究や、疼痛を緩和するための様々な薬物の開発が、これまで精力的に行われてきた。にもかかわらず、未だ解明されていない問題は多い。

その理由の一つとして、疼痛というストレス刺激によって、不安、恐怖およびうつなどの情動が発現し、それらが学習記憶されることで感覚認知の鈍化、あるいは逆に鋭敏化や遷延化を引き起こしている可能性が否定できない (Trends Neurosci, 26: 303, 2003)。生体は、様々な肉体的あるいは精神的ストレス

に対して、神経・内分泌系を動員して、発熱や交感神経系の亢進、およびACTH分泌などの対応を行い、一方で、不安などの情動が惹起され、それらを学習記憶して、将来に備える。この時、脳幹および橋に存在するモノアミン系が重要な役割を果たしているが、ノルアドレナリン(NA)およびセロトニン(5-HT)の両システムは、脊髄へも軸索をのばし、従来から提唱されている下行性鎮痛系を形成している。最近では、5-HT系のうち、5-HT<sub>3</sub>受容体を介した下行性痛覚過敏系の存在も示されている(Trends Pharmacol Sci, 25:613, 2004)。(2)これまで、本申請者は、免疫学的ストレスとしての感染モデルや、精神的ストレスとしての拘束などを用い、その際の脳内、特に視床下部、辺縁系におけるサイトカインやセロトニントランスポーター(5-HTT)の産生動態を検討し、その中枢作用として、末梢免疫系、中枢神経活動への作用や、中枢性疲労、不安行動、および学習記憶への影響について解析してきた(Brain Res, 946: 179, 2002; Mol Brain Res, 118: 24, 2003; Neuroscience, 120: 837, 2003; Eur J Neurosci, 22: 2817, 2005; Brain Res, 1037: 180, 2005)。と同時に、肉体的ストレスとしての痛覚刺激に対する脊髄 視床 大脳皮質各所での神経細胞の応答と、下行性鎮痛系の修飾機序を電気生理学的に解析してきた(Neurosci Res, 47: 97, 2003; J Physiol, 560.1: 303, 2004; J Physiol, 559.3: 707, 2004; J Physiol, 555.2: 515, 2004; J Physiol, 569.2: 685, 2005; J Physiol, 573.3: 753-763; J Neurosci, 26: 1787, 2006)。(3)近年、ストレスに対する生体応答系に、免疫系が組み込まれ、特に免疫学的ストレス(感染、腫瘍など)によって末梢組織および中枢神経系で産生されたサイトカインが、高次脳機能に影響を与えていることが明らかになってきた。一方で、痛覚を受容する中枢神経系として、視床や大脳皮質感覚野以外に、視床下部や、扁桃体、海馬、および前帯状回などの辺縁系の重要性が示されつつある。これまで、視床下部による神経内分泌系や自律神経系の制御機構、辺縁系による学習記憶や情動の神経機構については、多くの報告があるが、これらの神経部位を痛覚の処理機構の一部として解析したものは少ない。最近になって“恒常性維持のための情動としての痛覚”という概念(Trends Neurosci, 26: 303, 2003)が提唱されているが、その詳細を検討した報告は数少ない。その中で、扁桃体および前帯状回については、両部位を破壊しても、侵害受容行動そのものは変化しないが、痛覚刺激による場所回避学習行動が抑制されること、しかし、痛覚閾値下のフットショックによる恐怖条件づけ回避行動は前帯状回の破壊では抑制されないことから、前帯状回が痛覚に関連し

た学習行動に、特異的に重要であることが示唆されている(Pain, 110: 343, 2004)。

## 2. 研究の目的

本研究では、免疫学的ストレスによって疼痛の伝達機序がどのように修飾を受けるのかを明らかにするため、情動や学習に影響を与える物質としてサイトカインおよびその関連物質について、ストレス時の脳内産生動態を明らかにし、サイトカインの産生細胞と考えられるグリア細胞に関してその初代培養系を用いサイトカインおよびセロトニントランスポーター(5-HTT)の発現機序を明らかにした。また、情動や学習に関与すると同時に侵害受容にも鎮痛系物質として知られているモノアミンの一つであるセロトニンについて、脊髄における作用機序を明らかにした。

## 3. 研究の方法

(1)感染ストレスとして合成2重鎖RNAであるpoly I:Cのラット腹腔内への投与、および免疫学的刺激による疼痛ストレスとしてフロイントの完全アジュバントのラット足底部への皮下注を行い、帯状回および前頭前野を含む大脳皮質、海馬、視床下部および縫線核などの脳幹部、さらに脊髄からのパンチアウト標本を作製し、キャピラリーリアルタイムRT-PCR法により、脳内局所のサイトカインおよびその関連物質や5-HTTの発現量を定量した。

(2)ラット新生児の脳より取り出したグリア細胞の初代培養系を用い、IFN- $\gamma$ の投与による5-HTTの誘導を確認し、さらに培養系をミクログリアとアストロサイトの混合培養系、およびアストロサイト単独の培養系において検討することにより、ミクログリア-アストロサイト相互関係を明らかにした。

(3)ラット脊髄スライス標本を用い、侵害受容の伝達機構において重要な役割を果たしている脊髄膠様質ニューロンに対するセロトニンの効果を、パッチクランプ法を用いて電気生理学的に解明した。

## 4. 研究成果

(1)poly I:C (3mg/kg)を末梢投与するとラットの脳内において、特に前頭前野、視床下部室傍核、視索前野、海馬、においてインターフェロン(IFN- $\gamma$ )、インターロイキン-1(IL-1)の発現が増強していた。IL-6およびTNF- $\alpha$ の発現は有意な変化がなかった。また、同じ部位でNF- $\kappa$ Bの活性化を反映するI- $\kappa$ B- $\alpha$ やp38 MAPキナーゼの発現も増強していた。また、IFN- $\gamma$ の発現増強が観察された部位と全く同じ部位で、5-HTTのmRNAおよび蛋白が増加していた。図1にウェスタンブロット法によるpoly I:C投与後1日目および7日目

の 5-HTT の発現増強を示す。

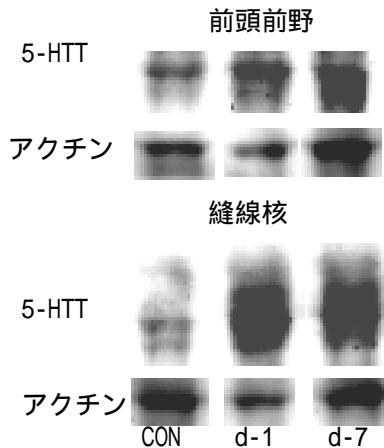


図1 poly I:C 投与による脳内 5-HTT の発現  
CON: コントロール、d-1: poly I:C 投与 1 日  
後、d-7: poly I:C 投与 7 日後。

(2) ラット新生児の全脳より取り出したグリア細胞の初代混合培養系において、ラットおよびヒトのリコンビナント IFN- $\alpha$  (10,000 U/ml) を投与し、24 時間後の 5-HTT mRNA を定量したところ、いずれの IFN- も 5-HTT の発現を誘導した。IFN- $\gamma$  は無効であった。

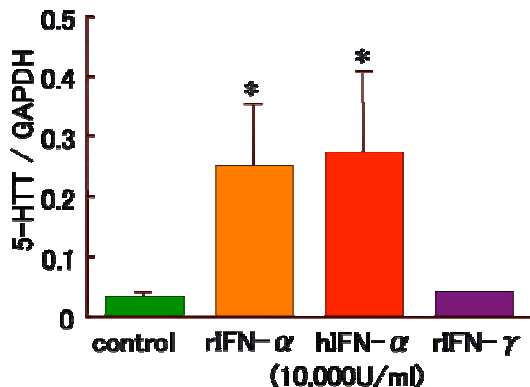


図2 混合グリア培養系におけるラットおよびヒト IFN- (rIFN- および hIFN- ) による 5-HTT mRNA の発現増強

ところが、アストロサイトのみの培養系に IFN- を投与しても 5-HTT の発現は増強しなかったことから、IFN- の受容体はミクログリアに存在し、活性化されたミクログリアが放出する二次媒介物質によってミクログリア/アストロサイトにおいて 5-HTT の発現が誘導されたと考えられる。今後さらに研究を進展させる必要があると考えられる。また、感染ストレス時の学習機能の変化にグリア細胞の活性化が関与している可能性が示唆され、さらに検討する必要があると考えられる。

(3) 脊髄スライス標本を用いて、脊髄膠様質 (substantia gelatinosa, SG) ニューロンに

対するセロトニンの作用を検討したところ、興奮性の SG ニューロンに対して、セロトニンの 1A 受容体 (5-HT<sub>1A</sub>) を介した K<sup>+</sup> イオンチャンネルの開放による抑制を惹起し、一方抑制性の SG ニューロンに対しては、5-HT<sub>3</sub> 受容体を介して興奮を起こすことが明らかになった。また、抑制性シナプス後電流 (IPSC) も 5-HT<sub>3</sub> 受容体の活性化によって頻度が増強することから、抑制性ニューロンのシナプス終末に作用して抑制性神経伝達物質 (GABA) の放出を増加させることが示唆された。以上からセロトニンは、SG に存在する興奮性ニューロンを抑制し、一方で抑制性ニューロンを興奮させることによって、鎮痛作用を持つと考えられた。この作用は侵害受容の伝達系における中継点である SG におけるセロトニン下行性鎮痛系の作用機序をになうものと考えられた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文) (計 8 件)

Ota, K., Kitazono, T., Ooboshi, H., Kamouchi, M., Katafuchi, T., Aou, S., Yamashita, Y., Ibayashi, S. and Iida, M. Role of substantia innominata in cerebral blood flow autoregulation. *Brain Res.* 1135: 146-153, 2007. 査読有

Doi, A., Mizuno, M., Katafuchi, T., Furue, H., Koga, K. and Yoshimura, M. Slow oscillation of membrane currents mediated by glutamatergic inputs of rat somatosensory cortical neurons: *in vivo* patch-clamp analysis. *Eur. J. Neurosci.* 26: 2565-2575, 2007. 査読有

片淵俊彦. 疲労および疲労感の中枢神経メカニズムとその防御. *PHARMSTAGE.* 第 6 巻 11 号, 29-34, 2007. 査読無

片淵俊彦. 疲労モデルラットにおける脳内サイトカイン異常. *治療.* 第 90 巻第 3 号, 562-567, 2008. 査読無

片淵俊彦. 慢性疲労症候群とサイトカイン. *BRAIN MEDICAL* 第 20 巻第 2 号, 153-158, 2008. 査読無

Abe, K., Kato, G., Katafuchi, T., Tamae, A., Furue, H. and Yoshimura, M. Responses to 5-HT in morphologically identified neurons in the rat substantia gelatinosa *in vitro*. *Neuroscience.* 159: 316-324, 2009. 査読有

片淵俊彦. 免疫学的疲労モデルにおける疲労の分子神経メカニズム. *医学のあゆみ* 第 228 巻第 6 号, 615-619, 2009. 査読無

Katafuchi, T., Duan, S., Take, S. and Yoshimura, M. Cytokine-induced

suppression of medial preoptic neurons: mechanisms and neuroimmunomodulatory effects. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1153: 76-81, 2009. 査読有

[学会発表](計4件)

Katafuchi, T., Take, S. and Yoshimura, M. Serotonin system in poly I:C-induced fatigue model in rats. International Symposium: Interaction of the nervous and immune systems in health and disease. Abstract book p.32-33, 2007. May 31-June 2. (St. Petersburg, RUSSIA) (Chairman)

Katafuchi, T. Cytokine-induced suppression of MPO neurons: its mechanisms and neuroimmunomodulatory effects. Round Table 3. Cytokines/chemokines regulating nervous/endocrine tissues. The 7th Meeting of the International Society for Neuroimmunomodulation. Program & Abstract book p.15, 2008. April 24-27. (Rio de Janeiro, BRAZIL)

Katafuchi, T., Take, S., Ifuku, M., Izumi, K., Noda, M. and Yoshimura M. Brain mechanisms of immunologically induced fatigue in the rat. Symposium 4. Mechanisms of fatigue and fibromyalgia. International Conference on Fatigue Science 2008. Program & Abstract book p.48, 2008. September 3-5. (Okinawa)

片淵俊彦. 脳・免疫系連関とストレス応答. シンポジウムセッション1「心身相関の基礎医学」アトピー性皮膚炎治療研究会 第14回シンポジウム「アトピー背皮膚炎への心身医学的アプローチ」プログラム・抄録集 p.12, 2009. 2月7日. (大阪)

[図書](計7件)

片淵俊彦. 免疫系. 環境生理学, 本間研一, 彼末一之編, 北海道大学出版会, 札幌, p.101-112, 2007.総ページ数 446

片淵俊彦. 自律神経機能と免疫・内分泌との相関. 自律神経機能検査. 第4版. 日本自律神経学会編. 文光堂. 東京. p.77-78, 2007.総ページ数 433

片淵俊彦, 吉村恵. 体温調節のしくみ. 人工環境デザインハンドブック. 第2章 温熱環境, 2.2 生理的評価. 栃原裕編, 丸善株式会社, 東京, pp.25-28, 2007.総ページ数 461

Furue, H., Katafuchi, T. and Yoshimura, M. In vivo patch-clamp technique. In: Patch-Clamp Analysis: advanced techniques, second edition. (Ed. Walz, W.) Humana Press Inc., Totowa,

pp.229-251, 2007.総ページ数 475

Katafuchi, T. Brain mechanisms of poly I:C-induced fatigue in rats. In: Fatigue Science for Human Health. (Eds. Watababe, Y., Evengard, B., Natelson, B.H., Jason, L.A. and Kuratsune, H.) Springer-Verlag Tokyo, Tokyo, pp.219-230, 2008.総ページ数 236

Katafuchi, T. Impairment of adaptive responses to heat exposure: aging and bacterial translocation. In: Adaptation Biology and Medicine: Health Potentials. (Eds. Lukyanova, L., Takeda, N. and Singal, P.K.) Narosa Publishers, New Delhi, India, Vol. 5, pp.339-345, 2008. 総ページ数 360

Katafuchi, T. Involvement of brain cytokines in stress-induced immunosuppression. In: Cytokines and the Brain. Neuroimmune Biology, Vol. 6, (Eds. Phelps, C. and Korneva, E.) Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, pp.391-401, 2008.総ページ数 608

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

片淵 俊彦 (KATAFUCHI TOSHIHIKO)  
九州大学・大学院医学研究院・准教授  
研究者番号: 80177401

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: