

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09376

研究課題名(和文) 妊娠鎮痛の機序を介した神経障害性疼痛の新規治療戦略：前帯状皮質の果たす役割の解明

研究課題名(英文) The development of the novel therapy for the neuropathic pain via pregnancy-induced analgesia

研究代表者

澤田 敦史 (Sawada, Atsushi)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：10551492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠そのものが慢性疼痛患者の痛みを和らげる“妊娠鎮痛”と呼ばれており、その詳細な機序は明らかにされていない。本研究において、妊娠マウスを用いた神経障害性疼痛モデルは、前帯状皮質にミクログリアの集積を認めず、神経障害性疼痛を発症しないことが明らかになった。また、妊娠マウスの前帯状皮質においてオピオイド受容体の発現が増加することが明らかになった。本研究の結果から、前帯状皮質のオピオイド受容体の増加が妊娠鎮痛の機序の一端を担う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

神経障害性疼痛に代表される慢性疼痛は既存の治療法では十分な鎮痛が得られず、新規治療法の確立が急務である。妊娠そのものが慢性疼痛患者の痛みを和らげる事象は“妊娠鎮痛”と呼ばれており、性ホルモン以外の機序が関与することが明らかになっている。本研究の結果から、前帯状皮質のオピオイド受容体の増加が妊娠鎮痛の機序の一端を担う可能性が示唆された。本研究は、既存の治療法とは全く異なる妊娠鎮痛の機序を介した神経障害性疼痛の新規治療戦略を提案するものであり、神経障害性疼痛患者の痛み治療の開発を進展させるため、社会に果たす意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Pregnancy-induced analgesia develops in late pregnancy, but its mechanisms are unclear. We demonstrated that pregnancy-induced analgesia ameliorated neuropathic pain by suppressing the activation of microglia in the anterior cingulate cortex in partial sciatic nerve ligation-treated mice. Notably, we also demonstrated that pregnancy produced the upregulation of the μ -opioid receptor in the anterior cingulate cortex. The present results significantly extend our knowledge of the mechanisms of pregnancy-induced analgesia, which could lead to new treatment for neuropathic pain in patients.

研究分野：麻酔科学

キーワード：妊娠鎮痛 前帯状皮質 オピオイド受容体 ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛に代表される慢性疼痛は既存の治療法では十分な鎮痛が得られず、新規治療法の確立が急務である。妊娠そのものが慢性疼痛患者の痛みを和らげる事象は“妊娠鎮痛”と呼ばれており、性ホルモン以外の機序が関与することが明らかになっている。近年、免疫細胞であるT細胞が脊髄後根神経節のオピオイド受容体の発現増加を介して妊娠鎮痛の機序に関わることが報告されている (J Neurosci. 2017)。

神経障害性疼痛の発症には脊髄後角のミクログリアとアストロサイトの活性化が関与する。妊娠ラットによる神経障害性疼痛モデルを用いた研究において、妊娠後期に脊髄後角のミクログリアとアストロサイトの活性化が抑制され、炎症性サイトカインの一種であるTNF- α の分泌が減少し神経障害性疼痛が改善することが報告されている (J Pain Res. 2017)。大脳辺縁系の一部である扁桃体は、本能・情動の中核として不快情動の形成に重要な役割を担っている。申請者は、扁桃体に集積する骨髄由来ミクログリアが慢性疼痛による不安行動の形成に関与することを明らかにした (Sawada A. Pain. 2014)。扁桃体と同じく、大脳辺系の一部である前帯状皮質は、中枢神経における痛み伝導路の一部を形成しており、慢性疼痛の発症、病態形成に深く関わっている (J Neurosci. 2017)。さらに、前帯状皮質のミクログリアとアストロサイトの活性化が神経障害性疼痛の発症に関わることが報告されている (J Pharmacol Sci. 2017)。

2. 研究の目的

申請者は本研究において、妊娠マウスを用いた神経障害性疼痛モデルにおいて、前帯状皮質のミクログリア、アストロサイトの細胞数および炎症性サイトカイン・オピオイド受容体の発現を解析し、妊娠鎮痛に前帯状皮質が果たす役割を明らかにする予定である。申請者は妊娠鎮痛の機序の一端として、前帯状皮質のオピオイド受容体の発現が増加することを解明しており、今後、オピオイド受容体の遺伝子を搭載したウイルスベクターを雄マウスの前帯状皮質に投与することで、神経障害性疼痛が改善することを検証する予定である。本研究を遂行することで神経障害性疼痛に対して、既存の治療法とは全く異なる妊娠鎮痛の機序を介した新規治療戦略を提案できると考えている。

3. 研究の方法

(1) C57BL/6 妊娠マウスを用いた神経障害性疼痛モデルマウスの作製

C57BL/6 妊娠マウス (妊娠 8 日目) を用いて、全身麻酔下に坐骨神経部分結紮を行い、神経障害性疼痛モデルマウスを作製する。また、手術の影響を解析するために坐骨神経の剖出のみを行うシャムマウスを作製する。週齢を揃えた C57BL/6 非妊娠マウスを用いて、神経障害性疼痛モデルマウスおよびシャムマウスを作製する。

(2) von Frey test による神経障害性疼痛および妊娠鎮痛の評価

各種モデルマウス (C57BL/6 妊娠マウス：神経障害性疼痛モデルマウスおよびシャムマウス、C57BL/6 非妊娠マウス：神経障害性疼痛モデルマウスおよびシャムマウス) を用いて、von Frey

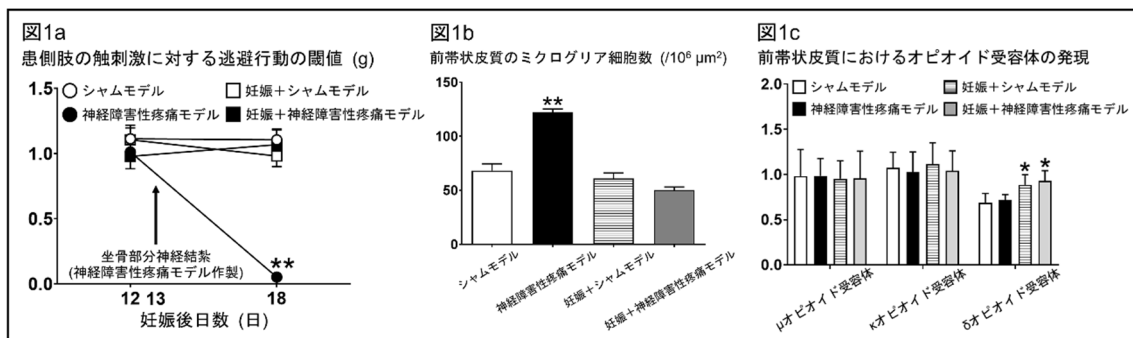
test を行い，神経障害性疼痛および妊娠鎮痛の評価を行う．評価は手術前日および術後 5 日目に行う．

(3) 神経障害性疼痛および妊娠鎮痛における前帯状皮質のミクログリア・アストロサイトの解析
 von Frey test 終了後に，モデルマウスから脳組織を採取して免疫組織学的解析を行う．前帯状皮質に集積したミクログリア，アストロサイトの定量的解析を行う．

(4) 神経障害性疼痛および妊娠鎮痛における前帯状皮質のオピオイド受容体の発現の解析
 von Frey test 終了後に，モデルマウスから脳組織を採取する．前帯状皮質組織よりタンパクを抽出し，分子学的手法(ウエスタンブロッティング法)を用いて，前帯状皮質に発現しているオピオイド受容体の定量的解析を行う．

4 . 研究成果

申請者は妊娠および非妊娠マウスを用いて，坐骨神経部分結紮による神経障害性疼痛モデルを作製し，患側肢の触刺激に対する逃避行動の閾値を測定した．その結果，妊娠マウスにおいて妊娠後期(妊娠 18 日目)には神経障害性疼痛を発症しないことを明らかにした(図 1a. $**P < 0.01$, $n = 8$ /各群)．さらに，免疫組織学的手法を用いて，非妊娠マウスでは，神経障害性疼痛発症後に前帯状皮質におけるミクログリアの細胞数が増加したが，妊娠マウスでは前帯状皮質のミクログリアの細胞数は増加しないことを明らかにした(図 1b. $**P < 0.01$, $n = 4$ /各群)．各モデルマウスの前帯状皮質にアストログリアは観察されなかった．申請者は分子学的解析を行い，妊娠マウスにおいて前帯状皮質の オピオイド受容体の発現が増加することを明らかにした(図 1c. $*P < 0.05$, $n = 6$ /各群)．



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Atsushi Sawada, Natsumi Kii, Michiaki Yamakage
2. 発表標題 Pregnancy improves neuropathic pain in mice through suppression of microglia in the anterior cingulate cortex
3. 学会等名 The annual meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Sawada, Michiaki Yamakage
2. 発表標題 Pregnancy Improves Neuropathic Pain in Mice via Upregulation of Delta Opioid Receptor in Anterior Cingulate Cortex
3. 学会等名 The annual meeting of the American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔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
---------	---------