

令和 7 年 6 月 11 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2024

課題番号：20K09881

研究課題名（和文）神経節マクロファージとニューロンとのコンタクトは神経因性疼痛のスイッチとなるか？

研究課題名（英文）Are contacts between ganglionic macrophages and neurons a switch for neuropathic pain?

研究代表者

岩井 治樹 (Iwai, Haruki)

鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教

研究者番号：30452949

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）：神経損傷後、感覚神経節では血管浸潤性および組織常在性マクロファージの両方の細胞数の増加が認められた。しかし、感覚神経節で増加するマクロファージの大部分は、組織常在性であることが明らかとなった。また、神経損傷後、感覚神経節のマクロファージは、一次ニューロンと衛星細胞との間に入り込み、マクロファージとニューロンとの間でコンタクト様構造を形成した。さらにこのコンタクト様構造は、電子顕微鏡により、マクロファージとニューロンとが直接接触していることが確かめられた。これらの神経損傷後に生じるマクロファージは、CD206 陽性の組織修復性であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性疼痛は、世界的な有病率の高さと医療費および生産性の損失という観点から、身体的および経済的な面で人々に多大な影響を与えている。この中に含まれる神経因性疼痛は、一般の鎮痛薬ではほとんど改善が期待できないことから、その原因究明と有効な治療法の開発が望まれている。本研究は、このような神経因性疼痛の発症機序の解明に寄与するだけでなく、治療法の開発に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：After nerve injury, the number of both bone-marrow-derived and tissue-resident macrophages increased in sensory ganglia. However, most macrophages that increased in sensory ganglia were found to be tissue-resident. After nerve injury, macrophages in sensory ganglia entered between primary neurons and satellite cells, forming contact-like structures between macrophages and neurons. Furthermore, these contact-like structures were confirmed by electron microscopy to involve direct contact between macrophages and neurons. These macrophages that arise after nerve injury were found to be CD206 phenotype.

研究分野：神経解剖学

キーワード：マクロファージ キメラマウス 末梢神経損傷 感覚神経節 神経炎症 M1 M2

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

慢性疼痛は、米国で 20.4% の有病率 (米国疾病管理予防センター) を抱え、その医療費と生産性損失の合計額が年間 560 億ドルから 635 億ドルになると試算されており (Cohen et al., 2021)、身体的および経済的な面から人々に多大な影響を与えている。この中でも神経因性疼痛は、一般の鎮痛薬ではほとんど改善が期待できず、またオピオイド依存症など薬物関連の有害事象を高めるリスクもあることから (Smith et al., 2023)、その原因究明と有効な治療法の開発が望まれている。

神経因性疼痛の原因として、これまでに中枢神経の免疫細胞であるミクログリアが二次ニューロンの活動を促進することが報告されてきた (Tsuda et al., 2023)。しかし近年、末梢神経の免疫細胞である神経節マクロファージを単独に活性化させただけでも神経因性疼痛が発症することが明らかとなり (Peng et al., 2016)、なぜ神経節マクロファージの活性化によって神経因性疼痛が生じるのか、そのメカニズムを解明する必要性が現れた。さらにマクロファージは、骨髄から単球を経て分化する血管浸潤性と卵黄嚢から各組織に移動し増殖する組織常在性の由来の異なる集団があることから (Zhao et al., 2018)、血管浸潤性および組織常在性の両方、あるいはいずれかの活性化によって神経因性疼痛が発症するのか明らかにする必要がある。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、神経因性疼痛時、「血管浸潤性あるいは組織常在性マクロファージが神経節の一次ニューロンにコンタクトすることで、このニューロンの遺伝子発現が誘導され、ここから産生された因子が中枢に放出、二次ニューロンの活動を促進し、神経因性疼痛が惹起される」という仮説を証明することである。得られた結果は、神経因性疼痛の発症機序の解明に寄与し、さらに末梢を標的とした全身への影響の少ない限局した治療法の開発に繋がることが考えられる。

### 3. 研究の方法

(1) キメラマウスを用いた解析：血管浸潤性あるいは組織常在性マクロファージのどちらが神経因性疼痛の発生に関わるのか明らかにするために、キメラマウスを用いた。オスの C57BL/6J マウスの頭部に放射線防護用のヘッドキャップを装着し、全身に 10Gy の放射線を照射した。このマウスに GFP-Tg マウス由来の骨髄を移植し、キメラマウスを得た。キメラマウスの三叉神経の上顎神経領域を切断した後、三叉神経節の組織を採取し、この組織に対し免疫組織化学的な検討を行なった。

(2) 三次元再構築と電子顕微鏡を用いた解析：神経節マクロファージと神経節の一次ニューロンとの関係を明らかにするために、三次元再構築と電子顕微鏡を用いた。オスの C57BL/6J マウスの三叉神経の上顎領域を結紮した後、三叉神経節の組織を採取し、免疫組織染色後、三次元再構築像を作製した。また、電子顕微鏡によって微細構造を解析した。

(3) 神経トレーサーを用いた解析：一次ニューロンから投射を受ける二次ニューロンの領域を明らかにするために、神経トレーサーを用いた。オスの C57BL/6J マウスの前頭部、上顎部、および下顎部の皮下に神経トレーサーを注入した後、脳幹の組織を採取し、免疫組織学的に検討した。また、上顎部に神経トレーサーを注入後、三叉神経の上顎領域を結紮し、上記と同じ組織学

的な方法で検討した。

#### 4. 研究成果

(1) 神経因性疼痛時の血管浸潤性および組織常在性マクロファージの分布：神経損傷 7 日目の三叉神経節では、GFP 陽性・Iba1 陽性の血管浸潤性マクロファージおよび GFP 陰性・Iba1 陽性の組織常在性マクロファージ両方の細胞数の増加が認められたが、大部分のマクロファージは、組織常在性であった。

(2) 神経節マクロファージと神経節一次ニューロンとの関係：神経節マクロファージ、衛星細胞、および一次ニューロンを三次元解析再構築した結果、多数の神経節マクロファージが一次ニューロンと衛星細胞との間に入り込み、マクロファージとニューロンとの間でコンタクト様構造を構成した。この構造について電子顕微鏡を用いて解析したところ、電子密度の高い脂質体とリソソームを持つマクロファージがニューロンと直接接触していた。さらに、神経損傷後のマクロファージの機能を解析した結果、神経損傷 7 日目では、ほとんどのマクロファージは、CD206 陽性の組織修復性マクロファージであった。

(3) 二次ニューロンの分布域と活性化因子：脳幹内での一次ニューロンの投射領域を神経トレーサーによって確認した結果、三叉神経脊髄路核では尾側から吻側に向かって眼神経、上顎神経、下顎神経と異なる領域に投射があることが確認された。また、神経トレーサーを上顎部に注入した後、三叉神経の上顎神経領域を損傷させた結果、神経トレーサーで標識された脳幹領域において、Iba1 陽性ミクログリアの活性化が認められた。さらに、これらの領域において、vesicular nucleotide transporter の発現を確認したところ、継時的に発現上昇することが認められた。

以上の研究内容は、Journal of neuroinflammation 誌にて発表した (Iwai et al., 2021)。

#### <引用文献>

- ① Cohen, S. P., Vase, L., & Hooten, W. M. (2021). Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances. *Lancet (London, England)*, 397(10289), 2082-2097.
- ② Smith, T. J., Wang, E. J., & Loprinzi, C. L. (2023). Cutaneous Electroanalgesia for Relief of Chronic and Neuropathic Pain. *The New England journal of medicine*, 389(2), 158-164. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2110098>
- ③ Peng, J., Gu, N., Zhou, L., B Eyo, U., Murugan, M., Gan, W. B., & Wu, L. J. (2016). Microglia and monocytes synergistically promote the transition from acute to chronic pain after nerve injury. *Nature communications*, 7, 12029.
- ④ Zhao, Y., Zou, W., Du, J., & Zhao, Y. (2018). The origins and homeostasis of monocytes and tissue-resident macrophages in physiological situation. *Journal of cellular physiology*, 233(10), 6425-6439.
- ⑤ Tsuda, M., Masuda, T., & Kohno, K. (2023). Microglial diversity in neuropathic pain. *Trends in neurosciences*, 46(7), 597-610.
- ⑥ Iwai, H., Ataka, K., Suzuki, H., Dhar, A., Kuramoto, E., Yamanaka, A., & Goto, T. (2021). Tissue-resident M2 macrophages directly contact primary sensory neurons in the sensory ganglia after nerve injury. *Journal of neuroinflammation*, 18(1), 227.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Iwai Haruki, Ataka Koji, Suzuki Hajime, Dhar Ashis, Kuramoto Eriko, Yamanaka Atsushi, Goto Tetsuya	4. 巻 18
2. 論文標題 Tissue-resident M2 macrophages directly contact primary sensory neurons in the sensory ganglia after nerve injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 227
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12974-021-02283-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Goto Tetsuya, Kuramoto Eriko, Iwai Haruki, Yamanaka Atsushi	4. 巻 66
2. 論文標題 Cytoarchitecture and intercellular interactions in the trigeminal ganglion: Associations with neuropathic pain in the orofacial region	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 485 ~ 490
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2024.07.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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
研究分担者	鈴木 甫 (Suzuki Hajime) (10623340)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教  (17701)	
研究分担者	八坂 敏一 (Yasaka Toshiharu) (20568365)	新潟医療福祉大学・健康科学部・教授  (33111)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	安宅 弘司  (Ataka Koji)  (30563358)	神戸薬科大学・薬学部・特任助教     (34512)	

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