

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18688

研究課題名（和文）内因性カンナビノイド機構の中枢性制御に着目した神経障害性疼痛の新規治療戦略

研究課題名（英文）New strategy for neuropathic pain treatment associated with endocannabinoid system

研究代表者

上村 藍太郎（KAMIMURA, Rantaro）

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：00804535

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）：眼窩下神経部分切断群の切断側では切断後3日から行動実験において痛覚過敏が生じていることが示された。免疫組織学的解析から、三叉神経脊髄路核（Vc）におけるMAGL陽性神経細胞が有意に増加すると同時に、ミクログリアが増加していることが観察された。また神経部分切断群にJZL184を投与することで濃度依存的に鎮痛作用が得られた。免疫組織学的解析から、JZL184の投与によりMAGL陽性神経細胞は有意に減少した。

本研究成果は、Heliyon 8(8) e10034-e10034, 2022.で報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、臨床応用されている神経障害性疼痛治療薬は副作用が報告されており、新規の疼痛治療薬の開発が急務とされている。本研究成果は、神経伝達物質の放出の低下に関わる内因性カンナビノイド（2-Arachidonoyl Glycerol：2-AG）をターゲットとした薬剤が口腔顔面領域の神経障害性疼痛治療につながる可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：ION-CCI group show increase of pain, MAGL positive cells, microglia.

Whereas, JZL184 injected group show decrease of pain, MAGL positive cells, microglia.

We reported at Heliyon 8(8) e10034-e10034, 2022.

研究分野：神経科学

キーワード：内因性カンナビノイド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、臨床応用されている神経障害性疼痛治療薬は副作用が報告されており、新規の疼痛治療薬の開発が急務とされている。内因性カンナビノイドは、放出後、直ちに分解されるが、MAGLの阻害剤であるJZL184などにより分解が阻害されることで神経障害性疼痛の改善に効果があることが分かっている。MAGL阻害剤は、脊髄損傷による神経障害性疼痛モデルにおいて鎮痛効果があると報告されているが、口腔顔面領域の神経障害性疼痛モデルでは報告されていない。そこで、神経伝達物質の放出の低下に関わる内因性カンナビノイド(2-Arachidonoyl Glycerol : 2-AG)をターゲットとした薬剤が口腔顔面領域の神経障害性疼痛治療薬として臨床応用されることを目指して実験を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究では、口腔顔面領域における神経障害性疼痛に対する内因性カンナビノイド(2-AG)の鎮痛作用を解明することを目的として、行動実験および免疫組織学的解析を行った。

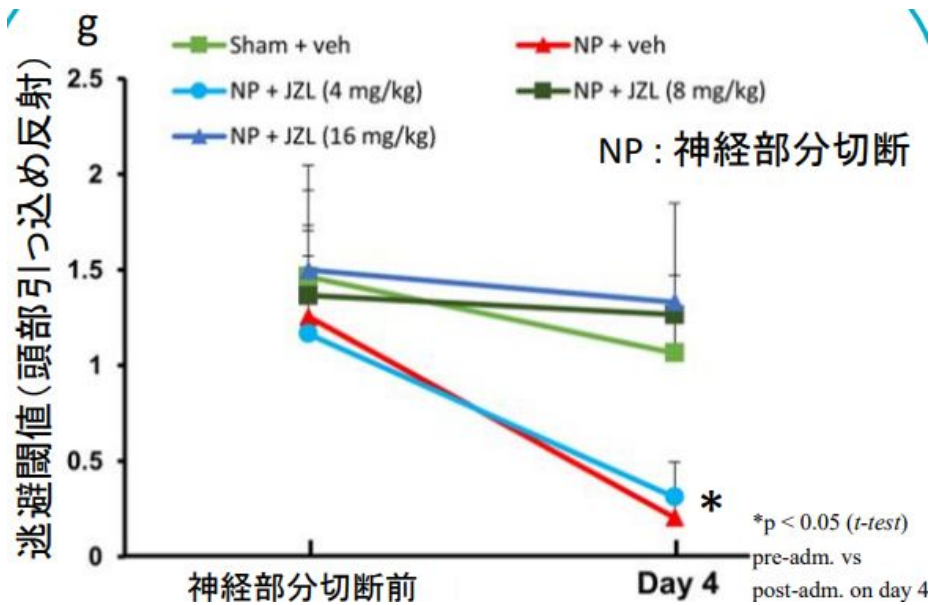
3. 研究の方法

7週齢 C57BL/6j 雄性マウスを使用し、眼窩下神経部分切断により神経障害性疼痛モデルマウスを作製した。モデルマウスの作製は、第一臼歯近心の歯肉頬移行部を切開して眼窩下神経を剖出し、部分切断することで行った。行動実験では、神経部分切断前および部分切断後3, 5, 7日目に口ひげ部への機械刺激に対する逃避閾値を測定した。測定は、頭部が露出するようにマウスを把持し、von Frey毛を用いて眼窩下神経支配領域である口ひげ部を刺激した。さらに、神経部分切断から7日目には、JZL184を1, 4, 16mg/kg腹腔内投与し、2時間後に逃避閾値を測定した。その後、灌流固定した上で脳を摘出し、三叉神経脊髄路核および上部頸髄(C1-C2)について厚さ20 μ mの凍結切片を作製し、抗MAGL抗体および抗Iba-1抗体を用いて免疫組織染色を行った。統計学的解析は、行動実験では逃避閾値について一元配置分散分析およびt検定を、免疫組織学的解析ではMAGL陽性細胞数について一元配置分散分析を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。また三叉神経脊髄路核を摘出して、MAGLおよびミクログリアについて免疫組織化学的に解析した。さらに神経部分切断3日後にJZL184を投与し、逃避閾値の計測および三叉神経脊髄路核の解析を行った。

4. 研究成果

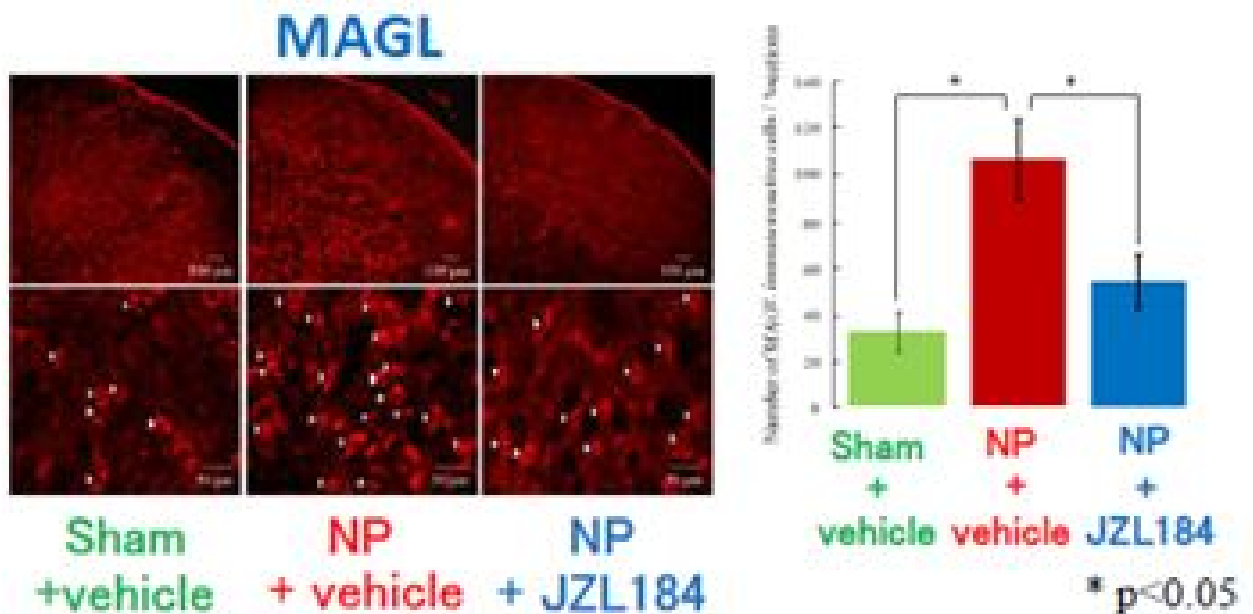
口腔顔面領域の神経障害性疼痛状態で、内因性カンナビノイド機構がミクログリアに与える影響を明らかにすることを目的として実験したところ、以下の研究成果を得られた。

眼窩下神経部分切断群の切断側では切断後 3 日から行動実験において痛覚過敏が生じていることが示された。



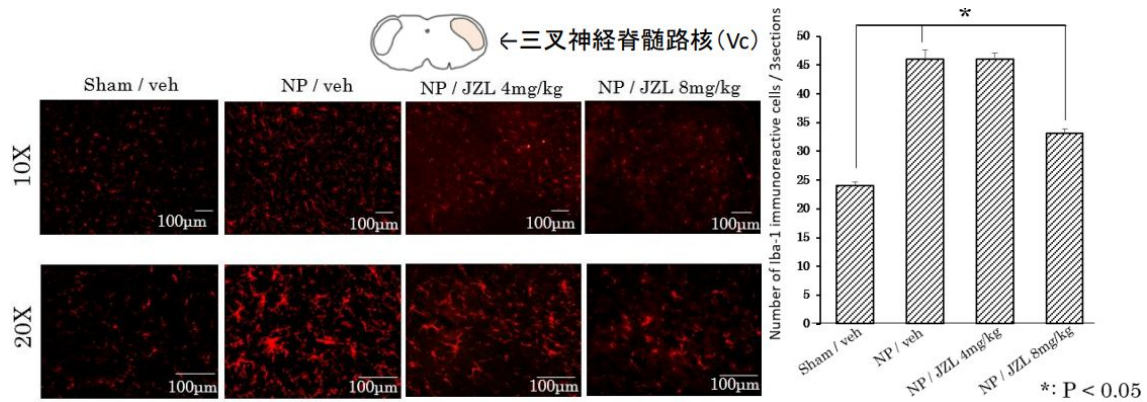
上記実験から、
 ・眼窩下神経部分切断群の切断側では、切断後 4 日で逃避閾値が有意に低下すること
 ・さらに JZL184(8, 16 mg/kg)の投与により、鎮痛効果が得られたことが示された。

さらに免疫組織学的解析から、三叉神経脊髄路核 (Vc) における MAGL 陽性神経細胞が有意に増加することが示された。



ミクログリアについて免疫染色したところ、JZL184 を投与することで濃度依存的

にミクログリアの減少が観察された。



上記実験から、

- ・眼窩下神経部分切断群ではミクログリアが増加すること
- ・JZL184 8mg/kg でミクログリアは有意に減少することが示された。

以上の結果から、(1) 眼窩下神経の損傷が引き起こす三叉神経脊髄路核におけるミクログリアの増大によって、口腔顔面領域の神経障害性疼痛が生じた。(2) 内因性カンナビノイドの分解抑制によって内因性カンナビノイド機構を亢進させると、三叉神経脊髄路核のミクログリアが抑制される結果、神経障害性疼痛が改善したことが示された。

上記の研究成果から、内因性カンナビノイド機構の疼痛抑制メカニズムとして、ミクログリアの制御が関与しており、内因性カンナビノイドの疼痛抑制機構をターゲットとした新しい疼痛治療法の開発に向けた基礎データを提示できたと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kamimura Rantaro, Hossain Mohammad Zakir, Takahashi Kojiro, Saito Isao, Kitagawa Junichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Attenuation of allodynia and microglial reactivity by inhibiting the degradation of 2-arachidonoylglycerol following injury to the trigeminal nerve in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e10034 ~ e10034
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.heliyon.2022.e10034	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上村藍太郎, ホッサイン ザキール, 高橋功次朗, 北川純一, 齋藤 功
2. 発表標題 内因性カンナビノイド分解酵素阻害剤による口腔顔面領域の神経障害性疼痛に対する鎮痛効果
3. 学会等名 第80回日本矯正歯科学会学術大会 & 第5回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上村藍太郎, ザキール ホサイン, 高橋功次朗, 北川純一, 齋藤 功
2. 発表標題 内因性カンナビノイド分解酵素阻害剤による口腔顔面領域の神経障害性疼痛に対する鎮痛効果の検討
3. 学会等名 第36回甲北信越矯正歯科学会学術大会（Webinar開催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kamimura R, Hosain MZ, Takahashi K, Kitagawa J, Saito I
2. 発表標題 Attenuation of neuropathic pain by inhibiting the degradation of 2-arachidonoylglycerol following an injury to the trigeminal nerve in mice
3. 学会等名 9th International Orthodontic Congress（第79回日本矯正歯科学会、12th APOC併催）
4. 発表年 2020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
---------	---------