

令和 4 年 4 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23254

研究課題名（和文）脳出血後のミクログリアによるシナプス制御機構の解明

研究課題名（英文）Synaptic control mechanism by microglia after thalamic hemorrhage

研究代表者

平賀 慎一郎（Hiraga, Shin-ichiro）

大阪大学・医学系研究科・特任助教（常勤）

研究者番号：00632663

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、脳卒中後に生じる難治性疼痛の発症機構の一端を明らかにした。具体的には、脳内免疫細胞ミクログリアによるシナプス制御が疼痛発症に關与することを示した。またシナプスを制御するミクログリア亜集団の同定にも迫っており、今後更なる解析により、脳卒中後疼痛の発症予防および治療戦略の提案に繋がることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳出血後7日目の感覚野で増加するミクログリア亜集団が、回路再編過程のシナプス除去を担う主な細胞集団であることを示した。この結果は、脳卒中後疼痛を誘発する病態特異的な細胞集団の存在を示しただけでなく、病態形成から維持へと移行する各ステージにおいても個別の細胞集団がいる可能性を示した。今後は、疼痛病態におけるミクログリアの時空間的解析により、その分子機構の解明することで、副作用の少ない治療戦略の提供に繋がるものと考えている。

研究成果の概要（英文）：This study clarified a part of the pathogenic mechanism of intractable pain that occurs after stroke. Specifically, it was shown that synapse removal by microglia, which are immune cells in the brain, is involved in the pain development. We are also approaching the identification of microglial subpopulations that control synapses, and further analysis is expected to lead to proposals for prevention and treatment strategies for post-stroke pain.

研究分野：疼痛学、病態神経科学、リハビリテーション医学

キーワード：脳出血 ミクログリア シナプス貪食 回路再編

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質感覚野には、末梢感覚情報を中継する視床から2つの入力(視床-皮質回路)を受ける。通常、非侵害刺激と侵害刺激を伝達する回路は互いに異なる領域へ投射する。これに対し申請者は、これまで視床出血により触覚回路が損傷されると、触覚回路領域に痛覚回路から新たな側枝が形成され、脳卒中後疼痛と呼ばれる難治性疼痛が誘発されることを見出した。また側枝形成と疼痛発症は、脳内免疫細胞であるミクログリアの除去により抑制されることを示した。しかし、ミクログリアがどのように痛覚回路を再編し、疼痛を発症させるかについては不明である。一方、発達期のミクログリアは出生直後に脳内で過剰形成される不必要なシナプス除去により、機能的な神経回路を構築する役割を担っている。さらに近年、シナプスの除去に関わるミクログリア特異的受容体も同定され、特定の機能を有するミクログリア亜集団の役割に注目が集まっている。シナプス除去は回路再編過程でもみられるため、痛覚回路再編におけるミクログリア亜集団の役割解明は、脳卒中後疼痛発症機構の理解を深める重要な課題であると考えられる。以上より、「シナプス除去」と「疼痛発症」に関与するミクログリア亜集団が、痛覚回路再編を伴う脳卒中後疼痛の発症機構を解明する手がかりになり得ると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、ミクログリア亜集団による感覚野でのシナプス除去の役割に着目し、脳卒中後疼痛の発症機構の解明を目指した。

3. 研究の方法

(1)ミクログリア亜集団を同定するため、出血後の感覚野からミクログリアをセルソーターにより単離し、網羅的遺伝子発現解析を行った。本研究ではシナプス貪食に関わる因子に着目し、その遺伝子群について、出血後の発現増加時期をqRT-PCRにより解析した。またflow cytometryにより、シナプス貪食因子を発現するミクログリアの細胞集団が出血後の感覚野で増加するかを解析した。(2)さらに、シナプス貪食に関わる因子を欠損させたマウスを導入し、出血後の機械刺激に対する疼痛行動に及ぼす影響を解析した。疼痛行動は、細いフィラメントでマウスの後肢足底を刺激した際の逃避閾値を測定するvon Frey testにより評価した。

4. 研究成果

(1)出血後7日目の感覚野において、シナプス貪食型ミクログリアが有意に増加することがわかった(図1)。

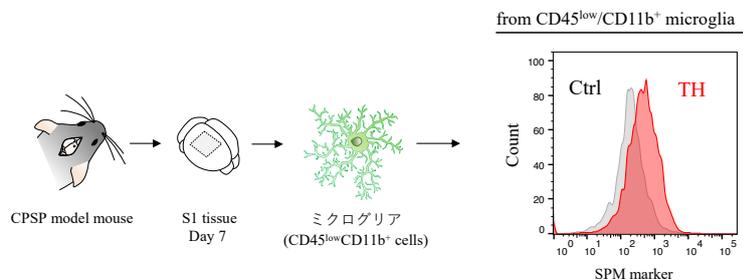


図1. 出血後の感覚野におけるシナプス貪食型ミクログリアの増加
 ※シナプス貪食型ミクログリアマーカー：Synapse phagocytic microglia, SPM

(2)シナプス貪食型ミクログリアに発現する遺伝子の欠損により、出血後7日目にみられるマウス後肢足底の疼痛が抑制されることがわかった(図2)。

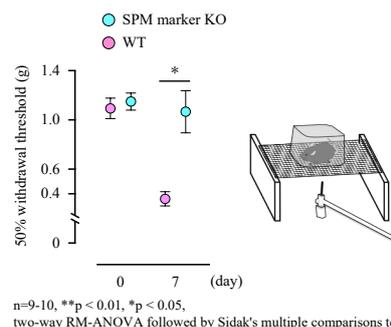


図2. SPM marker 遺伝子欠損による疼痛緩和

以上より、脳卒中後疼痛の発症機構においてミクログリアによる感覚野でのシナプス除去が関与することが示唆された(図3)。

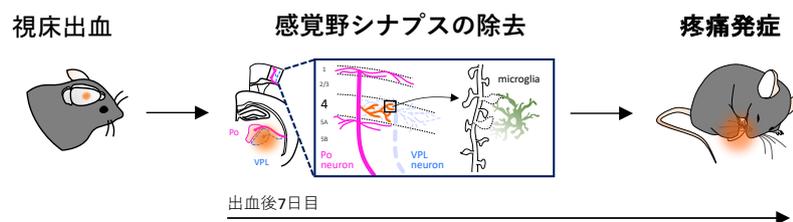


図3. ミクログリアによる感覚野シナプスの除去を介した疼痛発症機構

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 0件）

1. 著者名 Shin-ichiro Hiraga, Takahide Itokazu, Mariko Nishibe, Toshihide Yamashita	4. 巻 in press
2. 論文標題 Neuroplasticity related to chronic pain and its modulation by microglia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammation and Regeneration	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shin-ichiro Hiraga, Toshihide Yamashita
2. 発表標題 Microglia-regulated neuroplasticity is associated with chronic pain
3. 学会等名 Neuroscience and Pain Symposium（招待講演）（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
---------	---------