

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：34519

研究種目：奨励研究

研究期間：2021～2021

課題番号：21H04252

研究課題名 脳疼痛情動ニューロンの活動操作と鎮痛発現に必要な総ニューロン数の定量化

研究代表者

中村 亜由美 (Nakamura, Ayumi)

兵庫医科大学・医学部・実験補助員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 410,000円

研究成果の概要：疼痛は、身体面だけでなく心理や社会面にも影響を及ぼし、患者のQOLを損なう。新規治療法の開発を行う上で有益となり得る疼痛の神経機構の詳細を解明するために、痛みに関する神経の活動と逃避行動との関連を検討した。脊髄抑制性介在神経や情動に関連する前帯状回錐体神経に着目し、その活動を人為的に操作する動物を作出した。Creマウスを用いてウイルスの力価や投与量を調整し、抑制性介在ニューロンを光で活性化すると脊髄における痛みの神経応答が有効に抑制された。また、前帯状回の錐体ニューロンにGタンパク質共役型受容体（hM4Di）を発現させ、その活動を抑制すると鎮痛効果が有意に現れるなど成果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、脊髄における抑制性介在ニューロンや前帯状回における錐体ニューロンの活動を光遺伝学的あるいは薬理遺伝学的に活動操作すると、有効な鎮痛効果が得られることが明らかになった。従って、今後の新規治療薬や治療法を開発する上で、これらのニューロン群は鎮痛のターゲットとなり得る。また、本研究に用いた人為的操作による行動評価法は、新規候補化合物等の鎮痛効果の評価に有用であると考えられる。得られた成果は神経活動と個体の行動変化を説明する上での架け橋となり得、今後の痛覚伝達や鎮痛の機構解明における基礎医学の発展にも寄与できる。

研究分野：神経生理

キーワード：ウイルスベクター 鎮痛 GABA 疼痛

1. 研究の目的

疼痛は、身体面だけでなく心理面や社会面にも影響を及ぼし、患者の QOL を大きく損なうことが知られている。医学の進歩による鎮痛薬の開発によって疼痛の緩和が進められているが、モルヒネを含めた既存薬に抵抗性の疼痛が大きな問題となっている。これら Nociceptive (疼痛と可塑性の造語) な疼痛と呼ばれる疼痛を緩和するために、本来生体が持つ痛覚調節回路を利用する方法が最近注目されているが、その機構の詳細は未だ不明な点が多い。現在所属している研究室では、ウイルスベクターを用いて特定の疼痛ニューロン群に外来の G タンパク質などを発現させ、人為的にニューロンの活動を操作・抑制する実験系を立ち上げている。また、独自の電気生理学的手法を開発し、活動電位閾値下のシナプスレベルの解析も進めている。そこで本研究は、痛みに関与するニューロン群を人為操作するマウスを作出し、神経活動と鎮痛効果との関係を明らかにすることを目的とした。

2. 研究成果

近年、ウイルスベクターを用いて特定のニューロン群に外来の光依存性のイオンチャネルや G タンパク質を発現させ、人為的に活動を操作する手法が注目されている。そこで、痛みの中核への入り口である脊髄後角表層、特に抑制性介在ニューロンに着目し、抑制性介在ニューロンに Cre を発現するマウスを導入・使用した。ウイルスベクターの力価や投与量を調整し、その神経活動を光遺伝学的に操作する動物を作出した。まず、痛みの応答を抑制するか否かを検討するために、電気生理学的解析を行った。マウスを全身麻酔下に置き腰部脊髄を露出させ、定位固定装置にセットした。脊髄後角から細胞外記録を行い、後肢皮膚へ感覚刺激を加えると、触刺激に応答する神経、ピンセットを用いた機械的刺激に応答する神経 (図 1A、矢頭は活動電位を指す) 化学物質に応答する神経に分類された。これらの神経の中で、機械的刺激に応答する神経は、その応答が安定して記録出来たため、抑制性介在ニューロンを人為的に活動操作して、その抑制作用を検討した。光刺激を脊髄に加えて抑制性介在ニューロンを活性化すると、

機械的刺激に対する応答が抑制され、発火頻度が有意に低下した (図 1B)。一方、投与量を増加させ過剰発現させると、融合発現させた蛍光タンパク質の観察と電気生理学的検討から、ニューロンの静止膜電位が浅くなるなど興奮性が低下し、抑制能が減弱することが示された。

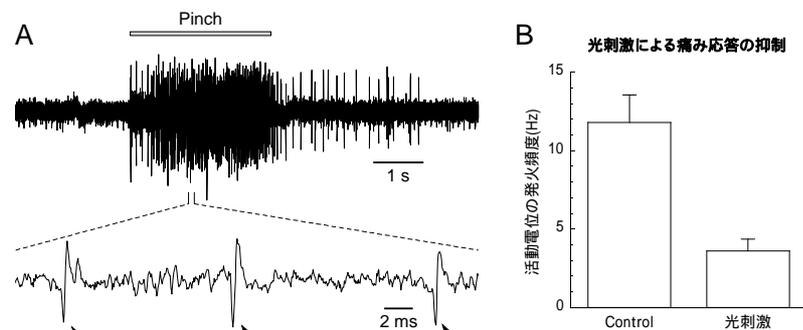


図 1. 脊髄後角神経の機械的痛み応答 (A) と光刺激による GABA ニューロンを賦活化させたときの抑制効果 (B)

次いで、疼痛を抑制する脳領域として、痛みの情動的側面に関与すると考えられている辺縁系の前帯状回に着目し、前帯状回の活動を人為的に操作する系を検討した。前帯状回の錐体ニューロン群特異的に G タンパク質共役型受容体 (hM4Di) を発現させた動物を作出した。人工リガンドである CNO を投与させて前帯状回錐体ニューロンの活動を抑制すると、逃避行動の閾値が増加し、鎮痛効果が現れた。前帯状回の両側に発現させた場合に鎮痛効果が現れた。

以上より、脊髄における抑制性介在ニューロンや前帯状回における錐体ニューロンの活動を、光遺伝学的あるいは薬理遺伝学的に活動操作すると、有効な鎮痛効果が得られることが明らかになった。逃避行動の変化を検討する上で、マウスでは閾値が低いいため von Frey フィラメントの重さの間隔が狭く、鎮痛効果の差を見出すのが容易であった。しかしながら、ラットでは von Frey フィラメントの重さの間隔が疎なところに閾値があったため、鎮痛効果の評価は困難であった。ラットを用いる場合には、機械的閾値を定量化できるダイナミックプランターを用いた方が行動閾値の変化の検出が容易であることが示された。本研究より明らかになった、抑制性介在ニューロンや情動に関与するニューロンの活動を人為的操作により鎮痛効果が現れる事は、今後の新規治療薬の開発に、また、本研究に用いた評価法は鎮痛効果の検証に有用であると示唆された。得られる成果は神経活動と個体の行動変化を説明する上での架け橋となり得、今後の痛覚伝達や鎮痛の機構解明における基礎医学の発展にも寄与できる。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 2件）

1. 著者名 古江秀昌、中村善隆、中村亜由美、古賀啓祐	4. 巻 -
2. 論文標題 脊髄副交感節前ニューロンからのin vivo電気生理学的記録法	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 自律神経	6. 最初と最後の頁 印刷中
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshitaka Nakamura, Ayumi Nakamura, Keisuke Koga, Hidemasa Furue	4. 巻 71 (S1)
2. 論文標題 Action of baclofen on micturition and parasympathetic preganglionic neurons in the sacral spinal cord	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 印刷中
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 無
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石川 敏三、中村 亜由美、Kim Woojin、古江 秀昌
2. 発表標題 磁気刺激に対する脊髄後角感覚神経応答の解析
3. 学会等名 第14回日本緩和医療薬学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

兵庫医科大学生理学神経生理部門ホームページ
<https://www.hyo-med.ac.jp/department/neurophysiol/index.html>

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
古江 秀昌	(Furue Hidemasa)
古賀 啓祐	(Koga Keisuke)