

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：13501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20650

研究課題名（和文）ライブセルイメージングを用いた新たな痛みモニターシステムの確立

研究課題名（英文）Establish of a pain monitoring system using live-cell imaging

研究代表者

波多野 裕（Hatano, Yu）

山梨大学・大学院総合研究部・研究助教

研究者番号：60966307

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）：女性は痛みが強と言われてきたが、近年では女性は男性よりも痛みに敏感であることが明らかになってきた。このように、痛みは性差があるにも関わらず詳細な制御機構は解明されていない。本研究は脊髄組織内ライブセルイメージングによる痛みモニターシステムを構築することを目的とした。脊髄組織内のミクログリアを特異的に可視化し共焦点顕微鏡で数日間の観察を行った。疼痛モデルマウスを用いた解析により細胞動態に関するパラメーター抽出、定量することができた。さらにミクログリアの応答性確認および応答過程を可視化することに成功した。これらの抽出したパラメーターを精査することで、今後の疼痛理解に貢献することが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みの研究は行動実験に依存しており、分子・細胞レベルでの疼痛制御機構を理解するためには新たな研究ツールの確立が必要とされている。しかし、行動実験に変わる評価系は、これまで例がないのが現状である。本研究で確立したライブセル痛みモニターシステムにより今後の疼痛理解に貢献できると期待される。

研究成果の概要（英文）：Female have long been said to be more sensitive to pain, but in recent years it has become clear that female are more sensitive to pain than male. Thus, despite the gender differences in pain, the detailed control mechanism of pain has not yet been elucidated. In this study, we aimed to construct a pain monitoring system using live cell imaging in spinal cord tissue. Microglia in spinal cord tissue were specifically visualized and live cell imaging was performed for several days using confocal microscopy. Using pain model mice, we were able to extract and quantify parameters related to cell dynamics. Furthermore, we succeeded in confirming the responsiveness of microglia and visualizing the response process. We expect that close examination of these extracted parameters will contribute to the understanding of pain in the future.

研究分野：細胞生物学

キーワード：ライブセルイメージング 疼痛 性差 アンドロゲン

1. 研究開始当初の背景

女性は痛みが強いと言われてきたが、ヒトやマウスを用いた研究から、女性は男性よりも痛み敏感であることが明らかになってきた。さらに慢性的な痛みを伴う疾患の罹患率は、女性の方が多いことが知られている。このような痛みの性差はどのように形成されるのか。しかし、痛みの研究は古典的な行動実験に依存しており、分子・細胞レベルでの疼痛制御機構を理解するためには新たな研究ツールの確立が不可欠である。本研究は、痛み研究の新たな基盤となる脊髄組織内ライブセルイメージングによる痛みモニターシステムを構築する。

2. 研究の目的

痛みは、性差のある病態であり、性によって痛みの制御機構が異なることがわかってきたが、その詳細なメカニズムは未だ解明されていない。本研究は、これまでの古典的な行動実験に代わる新たな痛み評価システムを確立し、痛みの可視化を目的とする。本研究により確立する痛みライブセルイメージングシステムは、新たな痛みモニターシステムという新規性と有用性に加え、痛みを可視化することで分子・細胞レベルの解析アプローチが可能になる。

3. 研究の方法

ミクログリアを特異的に可視化できる Iba1-Cre;tdTomato マウスの脊髄組織切片(厚さ 250 μm)をマイクロビブラトームにより作製する。共焦点ライブイメージングシステム (CSU-W1 または CV1000) を用いてタイムラプスデータを取得し、3D/4D 画像解析からミクログリアの細胞動態(細胞体の大きさ、突起の数、長さ、太さ、形態変化、細胞移動速度、移動方向、移動距離)を計測し、ミクログリアの活性化に性差があるかを検証する。さらに、雌マウスから作製した脊髄組織切片を用いて、アンドロゲンによるミクログリアの活性化抑制効果について、上述の細胞動態の観点から検証する。

4. 研究成果

Iba1-Cre;tdTomato マウスから作製した脊髄組織切片を共焦点レーザー顕微鏡でライブセルイメージングを行った。その後、画像解析によりミクログリアの細胞を抽出した(図1)。

ライブセルイメージングから得られた画像を用いて、ミクログリアをトラッキングし、細胞の挙動を測定した(図2)。また、アンドロゲンの抑制効果について測定した(図2)。

測定したミクログリアの細胞動態から細胞体の大きさ、突起の数、長さ、太さ、形態変化、細胞移動速度、移動方向、移動距離などを指標にパラメーター A、B、C を抽出した(図3)。以上から慢性疼痛モデルマウスの脊髄組織内ミクログリアの細胞挙動をパ

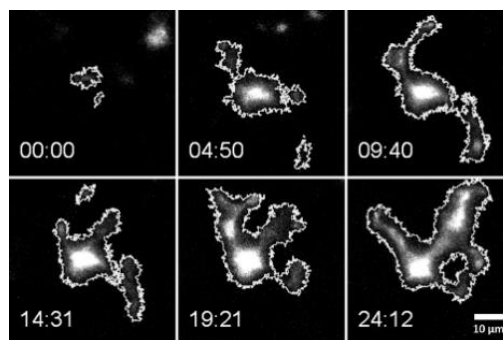


図1. マウス脊髄組織のライブセルイメージング

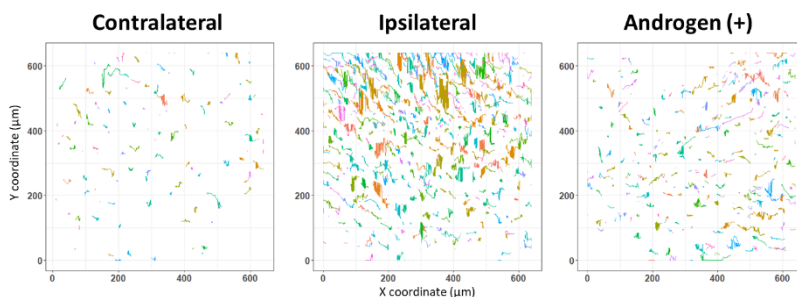


図2. マウス脊髄組織内のミクログリアの細胞動態

ラメーター化し、アンドロゲンによるミクログリアの抑制効果を確認することができた。

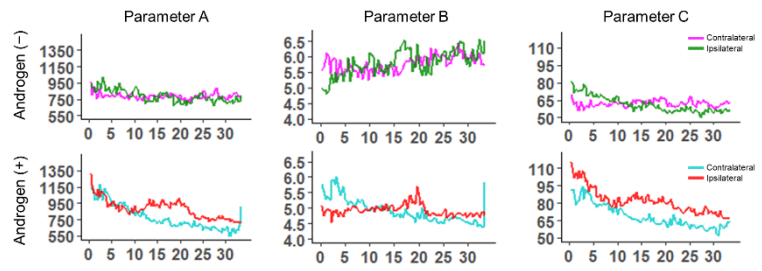


図 2. マウス脊髄組織のライブセルイメージング解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------