

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590729

研究課題名(和文) 神経障害性疼痛における骨髄由来ミクログリアを介した治療戦略

研究課題名(英文) Treatment strategy through the bone marrow-derived microglia in neuropathic pain

研究代表者

新山 幸俊(Niiyama, Yukitoshi)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：90423764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：慢性疼痛は不快情動を惹起するが、その機序は不明である。われわれはGFP陽性キメラマウスを用いて神経障害性疼痛マウスを作成し、28日後に扁桃体中心核に骨髄由来ミクログリア(BMDM)の集積と、不安行動の発現を確認した。BMDMはIL1-bおよびCCR2受容体、CCR2受容体のリガンドであるMCP-1に有意に発現していた。CCR2受容体拮抗薬により、BMDMの発現と不安行動および疼痛関連行動は改善した。IL1-b受容体拮抗薬では不安行動は改善したが、疼痛関連行動は改善しなかった。よって BMDMは扁桃体中心核でMCP-1/CCR2との相互作用を介して慢性疼痛に惹起する不快情動の発生に関与する。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of neuropathic pain-induced anxiety has not been clarified. We examined the involvement of bone marrow-derived microglia (BMDM). We prepared partial sciatic nerve ligations (PSNL) in mice that received BM transplantation from green fluorescent protein (GFP)-Tg mice. BMDM increased in the central nuclei of the amygdalae (CeA) concurrent with anxiety-like behavior. BMDM highly expressed interleukin (IL)-1b and C-C chemokine receptor type 2 (CCR2). Neurons highly expressed monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in PSNL mice. Injection of a CCR2 antagonist decreased the number of BMDM, and reversed the behavior and neuropathic pain in PSNL mice. Injections of an IL-1b receptor antagonist directly reversed the behavior in the PSNL mice even though the neuropathic pain persisted. These results suggest that the recruitment of BMDM to the CeA via the MCP-1/CCR2 axis and neuron-microglia interactions might be important in the pathogenesis of neuropathic pain-induced anxiety.

研究分野：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：骨髄由来ミクログリア 扁桃体 神経障害性疼痛 不安

1. 研究開始当初の背景

慢性疼痛は不快情動を惹起する。近年、これらの病態の形成に中枢神経系の免疫細胞であるミクログリアが関与していることが明らかになっているが、その詳細な機序は不明である。また、これまで脳内には存在しないとされていた骨髄由来ミクログリアがストレス刺激に反応して脳内に発現し、神経作用に影響を与えることが報告されている。今回、われわれは慢性疼痛による不快情動の発生機序が、扁桃体中心核に集積する骨髄由来ミクログリアと神経細胞の相互作用によるものであると想定した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、慢性疼痛による不快情動の形成に扁桃体中心核に集積する骨髄由来ミクログリアが関与するという仮説を証明し、最終的には扁桃体中心核への骨髄由来ミクログリアの集積を抑制することで慢性疼痛により惹起される不快情動に対する新たな治療戦略を提案することである。

3. 研究の方法

骨髄由来細胞を同定するために green fluorescent protein (GFP) トランスジェニックマウスの骨髄幹細胞を、放射線全身照射した雄性 C57BL/6J マウス(7-8週)に尾静脈内投与(骨髄移植)して、GFP 陽性キメラマウスを作成した。Seltzer らの方法(Pain 1990)に従い、全身麻酔下に 8-0 ナイロン糸を用いてマウスの右坐骨神経を部分結紮して神経障害性疼痛モデルマウスを作成した。また、神経結紮を行わず手術侵襲のみを与えるシャムマウスも作成した。解剖学的解析による骨髄由来ミクログリアの脳内への発現、また、von Frey hair を用いた疼痛関連行動および高架十次試験を用いた不安行動の解析、さら

に RT-PCR による分子生物学的解析手法を用いて関連物質を同定した。その後、関連物質の拮抗薬を投与することによる骨髄由来ミクログリアの発現、疼痛関連・不安行動に対する影響を検討した。

4. 研究成果

結紮 28 日後に神経障害性疼痛モデルマウスではシャムマウスに比べて扁桃体中心核に骨髄由来ミクログリアが集積した(図 1, 2)

図 1

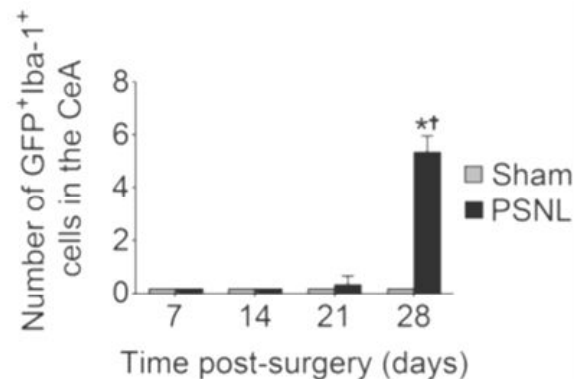
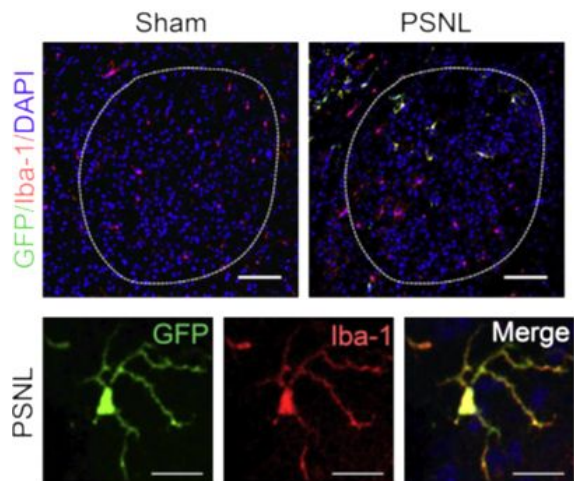


図 2



また、結紮 28 日後、疼痛関連行動は両者の間に有意な変化を認めなかったが(図 3)、不安行動は神経障害性疼痛モデルマウスでシャムマウスに比べて有意な変化を認めた(図

4).

図 3

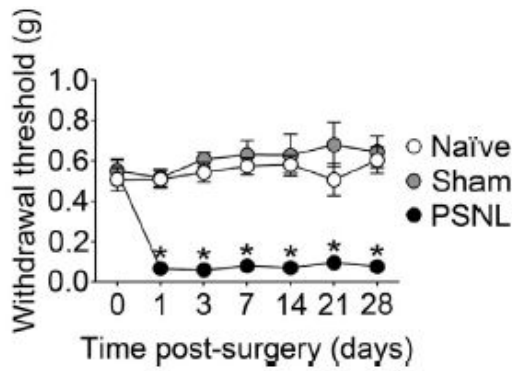
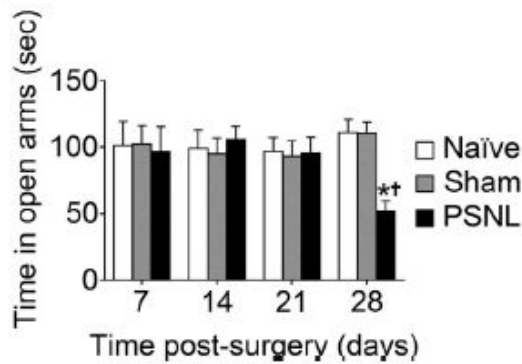
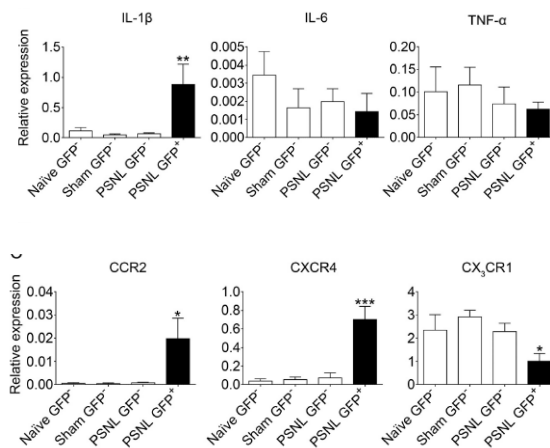


図 4



扁桃体中心核における骨髄由来ミクログリアは interleukin (IL)1- および C-C chemokine receptor type 2 (CCR2) 受容体に有意に発現していた (図 5)。

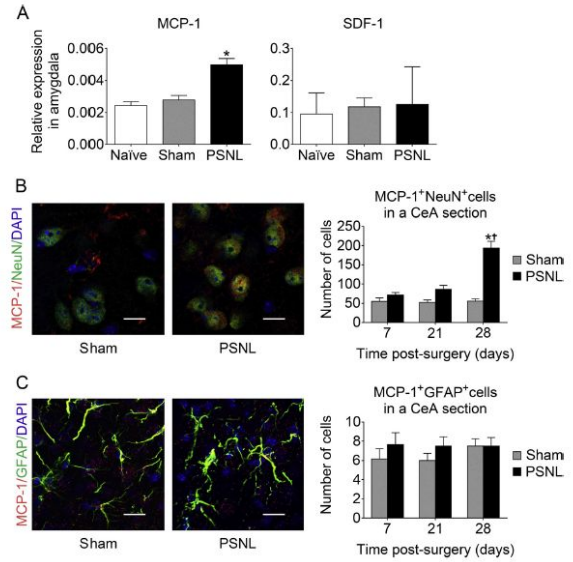
図 5



また、神経障害性疼痛モデルマウスでは CCR2 受容体のリガンドである monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) に有意に発

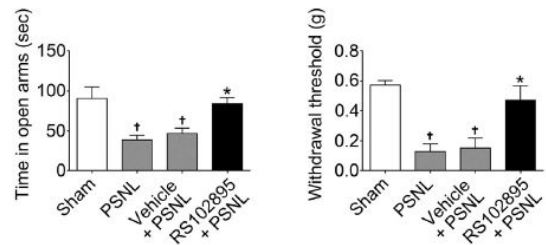
現しており、MCP-1/CCR2 の相互作用の関与が示唆された (図 6)。

図 6



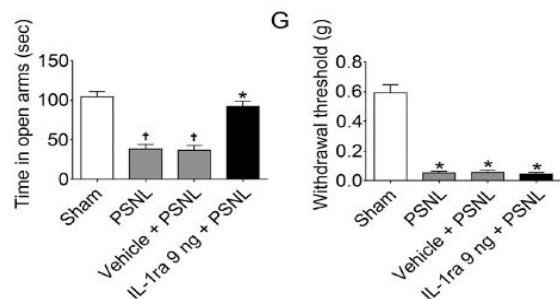
CCR2 受容体拮抗薬の投与により、骨髄由来ミクログリアの発現は減少し、疼痛関連行動および不安行動は改善した (図 7)。

図 7



また、IL1-1- 受容体拮抗薬の投与によりでは不安行動は改善したが、疼痛関連行動は改善しなかった (図 8)。

図 8



以上の結果より，骨髄由来ミクログリアは扁桃体中心核において，MCP-1/CCR2 との相互作用を介して慢性疼痛に惹起する不快情動の発生に関与することが明らかとなった．本研究の成果により，慢性疼痛に惹起する不快情動にたいして新たな治療戦略の可能性を提示できた．

5．主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Sawada A, Niiyama Y, Ataka K, Nagaishi K, Yamakage M, Fujimiya M. Suppression of bone marrow-derived microglia in the amygdala improves anxiety-like behavior induced by chronic partial sciatic nerve ligation in mice. Pain 2014; 155(9): 1762-72. (査読あり)
doi:10.1016/j.pain.2014.05.031.

[学会発表](計 8 件)

Sawada A, Niiyama Y, Yamakage M: A CCR2 antagonist suppresses infiltration of bone marrow-derived microglia into the central nervous system and reverses anxiety-like behavior as well as hypersensitivity induced by chronic neuropathic pain. The annual meeting of the American Society of Anesthesiologists. New Orleans, USA. Oct. 11-15, 2014

澤田敦史, 新山幸俊, 山蔭道明: CCR2 受容体拮抗薬は，骨髄由来ミクログリアの扁桃体への集積を抑制し，慢性痛による不安行動を改善する．日本ペインクリニック学会第 48 回大会 京王プラザホテル (東京) 2014.07.24-26

Sawada A, Niiyama Y, Yamakage M: Migration of Bone Marrow-Derived Microglia into the Central Nucleus of the Amygdala in a Neuropathic Pain Model Following Peripheral Nerve Injury (oral presentation). The annual meeting of the American Society of Anesthesiologists. Sanfrancisco, USA. Oct. 16-20, 2013

澤田敦史, 新山幸俊, 山蔭道明: 脳内の骨髄由来ミクログリアは IL-1 を介して慢性疼痛による不快情動形成に関与する (支部最優秀演題) 北海道・東北支部第 3 回学術集会 仙台市情報・産業プラザ (仙台) 2013.09.14

澤田敦史, 新山幸俊, 山蔭道明: 脳内の骨髄由来ミクログリアは IL-1 を介して慢性疼痛による不快情動形成に関与する．日本麻酔科学会第 60 回学術集会 ロイトン札幌 (札幌) 2013.06.07-9

Sawada A, Niiyama Y, Yamakage M: Migration of Bone Marrow-Derived Microglia into the Central Nucleus of the Amygdala in a Neuropathic Pain Model Following Peripheral Nerve Injury (oral presentation) The annual meeting of the American Society of Anesthesiologists. Washington, USA. Oct. 16-20, 2012

Sawada A, Niiyama Y, Yamakage M. Migration of Bone Marrow-Derived Microglia into the Central Nucleus of the Amygdala in a Neuropathic Pain Model Following Peripheral Nerve Injury.平成 24 年度 生理学研究所 国際

研究集会 NIPS International Workshop
2012 Central Neuroplasticity in
Sensory-Emotional Link 感覚と情動を
結ぶ神経機構の可塑性 岡崎コンファ
レンスセンター（岡崎）2012.09.13-16

研究者番号：

澤田敦史，新山幸俊，山蔭道明：神経障
害性疼痛における骨髄由来ミクログリ
アの関与（支部最優秀演題）北海道・東
北支部第2回学術集会 札幌コンベ
ンションセンター（札幌）2012.09.01

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新山 幸俊（Niiyama Yukitoshi）
札幌医科大学・医学部・講師
研究者番号：90423764

(2) 研究分担者

澤田 敦史（Sawada Atsushi）
札幌医科大学・医学部・特任助教
研究者番号：10551492

(3) 連携研究者

()