

令和元年6月24日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06693

研究課題名(和文)内因性カンナビノイド(2-AG)が関わる鎮痛作用の解明

研究課題名(英文) Involvement of the 2-Arachidonoylglycerol(2-AG) in attenuation of neuropathic pain

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) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：行動実験において、眼窩下神経部分切断群の切断側においてでは切断後3日から逃避閾値の有意な低下が観察され、痛覚過敏が生じていることが示された。また、JZL184の投与により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、三叉神経脊髄路核(Vc)および上部頸髄(C1-C2)におけるMAGL陽性神経細胞およびグリア細胞は神経部分切断群では有意に増加し、さらに、JZL184の投与によりMAGL陽性神経細胞は有意に減少した。これらの結果から、JZL184は神経細胞のMAGLを阻害することで、内因性カンナビノイド(2-AG)による神経伝達物質の放出低下の作用が発現し、鎮痛作用が生じたと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内因性カンナビノイド(2-AG)の中枢における鎮痛メカニズムの解明は、神経障害性疼痛の発症機序を明らかにする上で大きな意義がある。しかしながら、内因性カンナビノイド(2-AG)の鎮痛メカニズムにグリア細胞の変化が与える影響は明らかにされていない。したがって、本研究では内因性カンナビノイド(2-AG)による鎮痛メカニズムの解明において、グリア細胞の影響に着目して解析を進めた。本研究を通して、神経障害性疼痛など難治性の慢性疼痛の病態解明が進み、また内因性カンナビノイド(2-AG)をターゲットとした疼痛治療薬にグリア細胞の抑制機構を組み込むことで新たな疼痛治療薬として報告することができた。

研究成果の概要(英文)：Exogenous cannabinoids are effective in the attenuation of neuropathic pain. However, since they have side effects, targeting the endocannabinoids (ECs) could represent an alternative approach. The major ECs, 2-arachidonoylglycerol (2-AG) are degraded by monoacylglycerol lipase (MAGL). The head-withdrawal threshold (HWT) was significantly reduced on days 3, 5 and 7, indicating the development of neuropathic pain. We observed that MAGL and Iba-1 (microglia marker) immunoreactivity was significantly upregulated in the Vc in neuropathic mice. On day 7, we injected JZL184 at a dose of 4 and 16 mg/kg; the reduced HWT was significantly increased. Two hours after the injection of 16 mg/kg JZL184, the number of immunoreactive cells in the Vc reduced significantly. It is possible that, when the action of MAGL was inhibited by JZL184, the concentration of 2-AG might increase in the brain, including the Vc, and resulted in an attenuation of neuropathic pain.

研究分野：口腔生理学

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

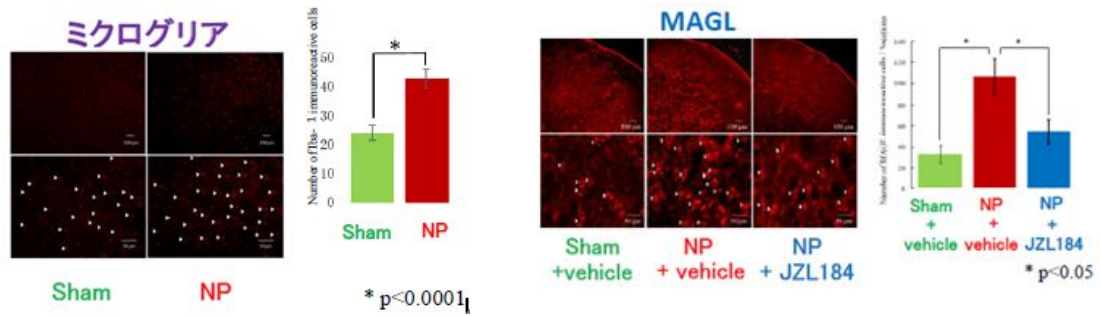
本研究では、口腔顔面領域における神経障害性疼痛に対する内因性カンナビノイド(2-AG)の鎮痛作用を解明することを目的として、行動実験および免疫組織学的解析を行った。

#### 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 $\mu$ 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

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。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

(1) Kamimura R, Hossain MZ, Unno S, Ando H, Masuda Y, Takahashi K, Otake M, Saito I, Kitagawa J: Inhibition of the degrading of 2-arachidonoylglycerol (2-AG) attenuated orofacial neuropathic pain following an injury to the trigeminal nerve in mice. J Oral Sci, 2018. <https://doi.org/10.2334/josnusd.17-0005>

〔学会発表〕(計 2 件)

(1) Rantaro Kamimura, Kojiro Takahashi, Isao Saito, Kensuke Yamamura : Involvement of the 2-Arachidonoylglycerol(2-AG) in attenuation of neuropathic pain following an injury to the trigeminal nerve in mice. The 11th Asian Pacific Orthodontic Conference. March 5th - 7th, 2018, Boracay, Philippines.

(2) 上村 藍太郎, ザキル ホサイン, 高橋 功次朗, 北川 純一, 齋藤 功: 口腔顔面領域の神経障害性疼痛に対する内因性カンナビノイド分解酵素阻害剤の鎮痛効果. 第 77 回日本矯正歯科学会学術大会, 横浜, 2018 年 10 月 30 日-11 月 1 日, 抄録集: 224 頁, 2018.

〔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:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: なし

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。