

平成21年3月7日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591783
 研究課題名（和文） 脳内における不安と痛みの相互作用機序解明および新しい慢性疼痛治療法の開発
 研究課題名（英文） Interaction of anxiety with pain in the brain and new approach for improving the neuropathic pain-like state in mice
 研究代表者
 山崎 光章（YAMAZAKI MITSUAKI）
 富山大学・大学院医学薬学研究部・教授
 研究者番号：70158145

研究成果の概要：まず、抗うつ薬を用いた疼痛時の不安感受性亢進に対する効果および抗うつ薬の抗侵害効果・抗不安効果の脳内作用機序について検討した。神経障害性疼痛により、不安関連行動の生ずることがマウスで示された。また、抗うつ薬は疼痛に伴う不安などの情動障害の治療に有用であることが示された。次に、感覚・運動刺激が豊富な環境（EE）下で自己複製能と多分化能を有する海馬神経の新生変化に対する神経障害性疼痛の影響について検討した。EE下では、海馬における神経新生が促進され、神経障害性疼痛がEEによる神経新生促進作用を抑制することが示された。

これらは、慢性疼痛（神経障害性疼痛）患者に対する治療戦略の手がかりとなりうる重要な所見であり、今後の臨床への応用が期待できる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：neuropathic pain, anxiety, antidepressants, enriched environment, neurogenesis, hippocampus

1. 研究開始当初の背景

(1) 神経障害性疼痛などの慢性疼痛は難治性であるが故に、その機序解明と治療方法の確立がペインクリニック診療の発展に大きく寄与すると考えられる。一方、下行性抑制系を介した脊髄における抗うつ薬の鎮痛作用はよく知られた事実であるが、上位中枢（脊髄レベル以上）における慢性疼痛と不安

との関連は依然として未知の領域である。

(2) 以前、我々は、基盤研究（C）（平成16年度～18年度）「疼痛下におけるモルヒネ依存不形成に及ぼす脊髄・脳内プロテインキナーゼCの役割」によって、神経障害性疼痛時には、オピオイド神経系に変化が生じ、さらにアストロサイトが活性化し、不安感受性の亢進が生じていることを初めて明らかにした。

(3) この上位中枢における不安と慢性疼痛との関連について、これまでに検討された報告はきわめて少ない。仮に上位中枢におけるこれらの作用機序が解明され、各種鎮痛補助薬（抗不安薬、抗うつ薬、抗けいれん薬、抗不整脈薬など）による効果が解明されれば、新しい慢性疼痛治療方法の開発にもつながり、患者にとって大きな福音となる。

2. 研究の目的

(1) そこで、本研究では、マウスを用い、1) 神経障害性疼痛がオピオイド神経系以外にも機能変化を生ずるかどうか、2) 抗うつ薬により不安感受性亢進の抑制が可能か、3) 抗うつ薬により疼痛緩和が期待できるかどうかについて明らかにすることを目的とした。この研究では、長期間にわたる実験系（4週間観察可能な神経障害性疼痛モデルを新たに作成）を用い、行動薬理的、分子生物学的ならびに免疫組織学的に検討した。

(2) また、本研究遂行中、マウスで感覚・運動刺激の豊富な環境下における飼育を行うと中枢神経新生が生じ、これが神経障害性疼痛と密接に関連するのではなかとの着想に至り、その研究も開始した。

3. 研究の方法

(1) 神経障害性疼痛モデルはマウスの右側後肢大腿部座骨神経を半周結紮することにより作製した。1) 熱痛覚過敏反応、アロディニア反応を測定した。2) 不安感受性の測定には明暗試験法および高架式十字迷路試験法を用いた。3) オピオイド受容体およびセロトニンの機能変化を[35S]GTP γ S binding assay法に従い検討した。4) 脳内への微量注入はmicroinjection法を用いた。

(2) 感覚・運動刺激が豊富な環境（enriched environment: EE）下で自己複製能と多分化能を有する海馬神経の新生変化に対する慢性疼痛の影響について検討した。EE飼育群と通常飼育群について、nestin（神経幹差イボに特異的に発現する中間系フィラメントの細胞骨格蛋白質分子）、doublecortin（神経芽細胞や未熟な神経細胞に特異的に発現する微小管タンパク）、NeuroD（神経への分化に促進的に働く転写因子）、BrdU

（5-bromo-2'-deoxyuridine：細胞増殖のマーカー）の蛍光免疫染色活性を測定した。また、BrdUとNeuN（神経細胞のマーカー）の局在について検討した。

4. 研究成果

(1) マウスは座骨神経結紮後4週間神経因性疼痛を示し、熱痛覚過敏反応およびアロディニア反応を示した。結紮4週間後には、明暗試験法と高架式十字迷路試験法で不安感受性の亢進が認められた。一方、低用量の抗うつ薬であるイミプラミン、ミルナシプラン、パロキセチン、マプロチリンを投与したところ、熱痛覚過敏反応およびアロディニア反応の減弱が認められ、4週間後の不安感受性も回復した。神経障害性疼痛により不安感受性亢進の認められた前頭前野および扁桃体では、 δ オピオイド受容体作動薬およびセロトニンによるGタンパク質活性化作用に減弱が認められ（図1）、受容体機能低下が示唆された。さらにパロキセチンを前頭前野および扁桃体に微量注入することにより神経障害性疼痛時の不安関連行動が抑制された。

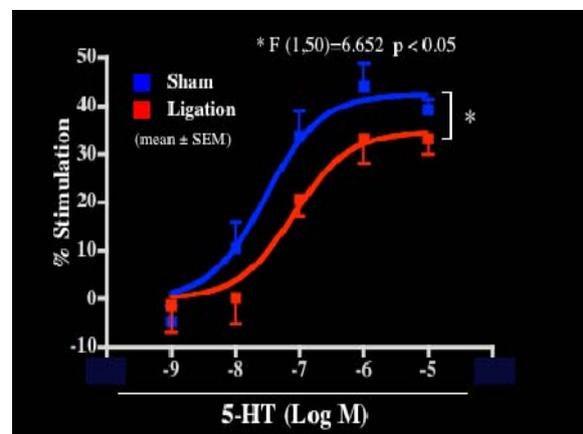


図1. 扁桃体におけるセロトニン誘発Gタンパク質活性化作用の変化

以上から、神経障害性疼痛により、不安関連行動の生ずることがマウスで示された。また、抗うつ薬は疼痛に伴う不安などの情動障害の治療に有用であることが示された。さらに慢性疼痛に伴う不安は、前頭前野および扁桃体の δ オピオイド受容体やセロトニン受

容体の down regulation と関連すると考えられた。これらから慢性疼痛患者の疼痛や不安に対する抗うつ薬の臨床使用への有用性が示唆された。

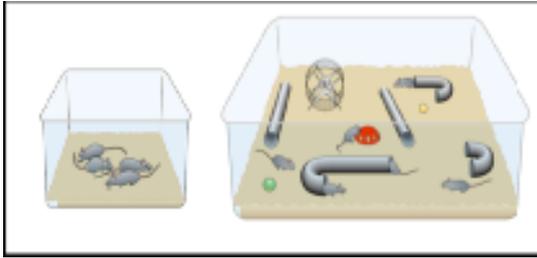


図2. 通常飼育群 (左) と EE 飼育群 (右)

(2) ① EE 飼育群 (図2) では、通常飼育群に比較して、海馬歯状回顆粒細胞下層における nestin 免疫活性に差はなかったが、doublecortin 免疫染色活性、NeuroD 陽性細胞数、BrdU 陽性細胞数は有意に増加した。② また BrdU 陽性細胞の多くが NeuroD と共局在を示した。さらに 3) EE 飼育により認められた。doublecortin および NeuroD 陽性細胞数の増加は、坐骨神経結紮により有意に抑制された (図3)

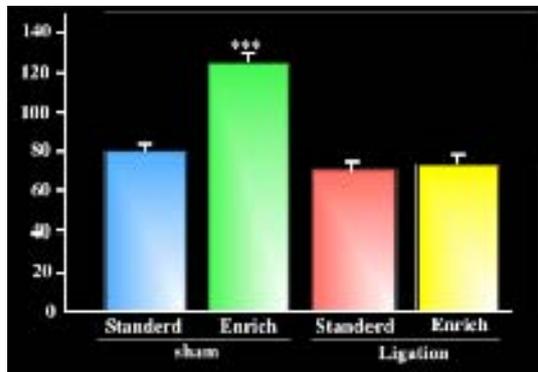


図3. 神経障害性疼痛による EE 飼育の海馬神経新生への影響 (NeuroD)
神経障害性疼痛下では EE 飼育による NeuroD 陽性細胞数の増加が抑制された。

以上より、EE 飼育されたマウスでは、海馬における神経新生が促進されること、神経障害性疼痛が EE による神経新生促進作用を抑

制することが示された。これらのことは、慢性疼痛に対する神経新生を考慮した治療戦略の手がかりとなりうる重要な所見であり、今後の臨床への応用が十分に期待できる。

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3件)

① Terada M, Kuzumaki N, Hareyama N, Imai S, Niikura K, Narita M, Yamazaki M, Suzuki M, Narita M. Suppression of enriched environment-induced neurogenesis in a rodent model of neuropathic pain. Neuroscience Letter. 440. 314-8, 2008.

② Matsuzawa-Yanagida K, Narita M, Nakajima M, Kuzumaki N, Niikura K, Nozaki H, Takagi T, Tamai E, Hareyama N, Terada M, Yamazaki M, Suzuki T. Usefulness of antidepressants for improving the neuropathic pain-like state and pain-induced anxiety through actions at different brain sites. Neuropsychopharmacology, 33. 1952-65, 2008.

③ Narita M, Nakajima M, Miyoshi K, Narita M, Nagumo Y, Miyatake M, Yajima Y, Yanagida K, Yamazaki M, Suzuki T. Role of spinal voltage-dependent calcium channel alpha 2 delta-1 subunit in the expression of a neuropathic pain-like state in mice. Life Sciences; 80 2015-2045, 2007.

〔学会発表〕 (計2件)

① 寺田美緒子、成田 年、柳田聖実、葛巻直子、新倉慶一、山崎光章、鈴木 勉：坐骨神経障害モデルにおける疼痛ならびに不安発現に対するパロキセチンの脳内微量注入の影響。日本ペインクリニック学会 第41回大会、2007、7、横浜

② 寺田美緒子、成田 年、葛巻直子、成田道子、晴山菜奈、柴田圭輔、鈴木 勉：Enriched environment飼育による神経新生へのオピオイド神経系の関与、第37回日本神経精神薬理学会、2007、7、札幌

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況（計0件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 光章 (YAMAZAKI MITSUAKI)
富山大学・大学院医学薬学研究部・教授
研究者番号：70158145

(2) 研究分担者

佐々木 利佳 (SASAKI RIKA)
富山大学・大学院医学薬学研究部・助教
研究者番号：10345572

成田 年 (NARITA MINORU)
星薬科大学・准教授
研究者番号：40318613