

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390434

研究課題名（和文） 神経障害性疼痛に関連する情動異常の脳内発現機序と疼痛増悪機序の解明

研究課題名（英文） Cerebral and peripheral pathophysiology of delayed emotional disturbances associated with neuropathic pain

研究代表者

真下 節（MASHIMO TAKASHI）

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10110785

研究成果の概要（和文）：神経障害性疼痛モデルマウスでは疼痛出現後しばらくしてうつなどの情動異常が発症するが、うつ行動の発現には $\alpha 2A$  アドレノ受容体が深く関与していることを明らかにした。さらに、モルヒネ耐性マウスではデクスメドミジンの鎮痛効果が増強し、後根神経節の $\alpha 2A$ 、 $\alpha 2C$  アドレノ受容体 mRNA の発現増加がみられた。また、神経障害性疼痛モデルラットでは、セロトニン 2C 受容体の RNA 編集が起こり、受容体作動薬の疼痛軽減効果が増強された。

研究成果の概要（英文）：Nerve injury triggered affective disturbances such as depression and anxiety that appeared much later than sensory hypersensitivity in mice. The alpha-2A adrenergic receptor may play a role in the neural mechanism of affective disturbances. Systemic daily morphine enhanced the analgesic effect of intrathecal dexmedetomidine via up-regulation of the alpha-2A, -2B and -2C adrenergic receptors in lumbar dorsal root ganglion and dorsal horn in mice. In the trigeminal neuropathic pain model rats, intrathecal serotonin 2C receptor agonists produced antiallodynic effect. This effect was attenuated by intrathecal pretreatment with the serotonin 2C receptor antagonist. These results indicate that the serotonin 2C receptor plays a role in spinal inhibition of trigeminal neuropathic pain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2010年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

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：神経障害性疼痛、情動異常、 $\alpha 2A$  アドレノ受容体、モルヒネ耐性、セロトニン 2C 受容体、RNA 編集

## 1. 研究開始当初の背景

痛みの認知は感覚的要素だけでなく情動的要素も含んでおり、痛みが情動に大

きく作用し、また情動面の異常が痛みの認知や痛みへの対応行動に大きな影響を与える。このため、慢性に続く痛みはし

ばしば患者を不安・恐怖・抑うつ状態に陥れ、痛みの増悪という悪循環を生み出す。われわれは慢性疼痛患者にしばしば合併する不安・うつといった情動異常に注目し、これまで神経障害性疼痛と情動異常の関係についてモデル動物を用いて検討を進めてきた。そして、神経損傷に起因して不安様・うつ様行動が発症することを、初めて証明することに成功し、神経損傷が誘発する情動行動異常モデルを確立した (Suzuki et al, Anesth Analg 2007;104:1570-7)。この現象は、末梢神経の損傷が脳レベルの情動中枢に可塑的变化を引き起こすことを示唆している。

## 2. 研究の目的

本研究では、痛みと情動系に焦点を合わせて、(1) 神経障害性疼痛モデル動物を用いた、情動異常の発症とモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与のメカニズム解明、(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおけるセロトニン2C受容体(5-HTR 2C)の変化に関する研究、(3) ヒトにおいて脳機能画像fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討、などを主な目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 神経障害性疼痛モデル動物における情動異常およびモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与に関する研究

正常マウス(コントロール)、 $\alpha 2A$ 受容体変異マウス( $\alpha 2A-D79N$ )、 $\alpha 2C$ 欠損マウス( $\alpha 2C K0$ )において第5腰神経結紮による神経障害性疼痛モデルを作成し、強制水泳試験によってうつ行動を評価した。

次に、モルヒネを連続投与して作成したモルヒネ耐性マウスに対してデクスメドミジンの髄腔内投与による鎮痛効果を測定し、後根神経節における $\alpha 2$ アドレノ受容体の全サブタイプのmRNA発現をリアルタイムPCR法で測定した。

(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運

動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおける5-HT 2C受容体(5-HTR 2C)の変化に関する研究

脊髄損傷後には痙性麻痺を伴う難治性の神経障害性疼痛を発症することが多い。今回、脊髄損傷後の運動ニューロンが5-HTの喪失をRNA編集で補うことによって興奮性を再獲得する機序を、脊髄損傷後の回復過程における運動ニューロン膜5-HTR 2Cのアイソフォームの発現を調べることによって検討した。

さらに、5-HTR 2Cは疼痛行動が鋭敏になると受容体機能が高くなるRNA編集が起こるが、5-HTR 2Cが疼痛行動を抑制するかどうかについては明らかでなかった。三叉神経の神経障害性疼痛モデルラットにおいて、5-HTR 2C作動薬を投与して疼痛閾値を測定した。

(3) ヒトにおいて脳機能画像fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討

ヒトの痛みの認知に関する脳機能画像の研究において、筋肉痛の認知についての研究は少ない。健康成人において下腿の骨膜・筋に圧刺激によって痛みを与え、fMRIによって脳の活動部位を調べた。右脛骨前面(骨膜痛)と右腓腹筋(筋痛)にデジタル式圧痛計を用いて圧刺激を加え、NRS 3~8の間で4種類の痛みを与えた。疼痛刺激20秒間与え、40秒の間隔を空けてそれぞれ3回与えるのを1タスクとした。各タスクにおいてfMRIによる脳機能画像を測定し、SP99を用いて解析した。

## 4. 研究成果

(1) 神経障害性疼痛モデル動物における情動異常およびモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与に関する研究

神経結紮を行わない群では、不動時間は $\alpha 2A-D79N$ 、コントロール、 $\alpha 2C K0$ の順で長かった。神経結紮40日後の群では、コントロールと $\alpha 2C K0$ マウスでは有意な不動時間の延長がみられたが、 $\alpha 2A-D79N$ マウスでは不動時間の延長は認められなかった。これらの結果から、神経障害性疼痛から誘導されるうつ行動の発現には $\alpha 2A$ アドレノ受容体が深く関与していることが示唆された。

モルヒネ耐性マウスではデクスメドミジンの鎮痛効果が増強し、後根神経節において $\alpha 2$ アドレノ受容体サブタイプAおよびCの増加がみられた。これらの結果から、モルヒネ耐性マウスにおける $\alpha 2$ アドレノ受容体アップレギュレーションにはサブタイプA、BおよびCの増加が関与していることが明らかになった。

(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおける5-HTR 2Cの変化に関する研究

ラットの脊髄損傷モデルにおいて、脊髄損傷後に起こるRNA編集の変化の結果として5HT<sub>2C</sub>の受容体アイソフォームの発現増加が起こり、このアイソフォームは5-HTがほとんどない状態でも活性化することで、持続性カルシウム電流の回復をもたらすことを明らかにした。この変化は運動ニューロンの機能回復と関連しており、脊髄損傷後のRNA編集による5HT<sub>2C</sub>受容体たんぱく質の機能変化の重要性を示唆するものであった。

さらに、三叉神経の神経障害性疼痛モデルラットの実験では、5-HT<sub>2C</sub>作動薬を投与すると疼痛閾値の上昇を認め、その変化は5-HT<sub>2C</sub>拮抗薬の前投与で減弱した。本研究の結果は、5-HT<sub>2C</sub>は神経障害性疼痛の減弱に関与していること、この効果にはRNA編集による5-HT<sub>2C</sub>作動薬に対する感受性上昇が寄与していることを示唆している。

(3) ヒトにおいて脳機能画像fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討

骨膜痛では反対側の左視床前障に活動がみられ、筋痛では同側右の被殻、視床および左帯状回に活動が認められた。以上の結果から、筋痛は骨膜痛に比べて辺縁系の活動が有意で、感覚系だけでなく情動系への影響が強いことが示唆された。

#### 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 14 件)

1. 真下 節: 特集・疼痛治療の最前線 CRPS/カウザルギーの治療. Brain Medical (査読なし) 24:73-79, 2012
2. Maeda L, Ono M, Koyama T, Oshiro Y, Sumitani M, Mashimo T, Shibata M: Human brain activity associated with painful mechanical stimulation to muscle and bone. J Anesth (査読あり) 25:523-530, 2011
3. Nakae A, Nakai K, Yano K, Hosokawa K, Shibata M, Mashimo T: The animal model of spinal cord injury as an experimental pain model. J Biomed Biotech (査読あり) 2011:1-11, 2011
4. Nakai K, Nakae A, Oba S, Mashimo T, Ueda K: 5-HT<sub>2C</sub> receptor agonists attenuate pain-related behavior in a rat model of trigeminal neuropathic pain. Eur J Pain (査読あり) 14:999-1006, 2011
5. Uematsu H, Shibata M, Miyauchi S, Mashimo T: Brain imaging of mechanically induced muscle versus cutaneous pain. Neurosci Res (査読あり) 70:78-84, 2011
6. Sumitani M, Shibata M, Sakaue G, Mashimo T: Development of comprehensive diagnostic criteria for complex regional pain syndrome in the Japanese population. Pain (査読あり) 150:243-249, 2010
7. Nakai K, Nakae A, Oba S, Mashimo T: P2X<sub>4</sub> receptor expression in a rat model of trigeminal neuropathic pain. NeuroReport (査読あり) 21:559-563, 2010
8. Murray KC, Nakae A, Stephens MJ, Rank M, D' Amico J, Harvey PJ, Li X, Harris RLW, Ballou EW, Anelli R, Heckman CJ, Mashimo T, Vavrek R, Sanelli L, Gorassini MA, Bennett DJ, Fouad K: recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT<sub>2C</sub> receptor. Nature Med (査読あり) 16:694-700, 2010
9. Tamagaki S, Suzuki T, Hagihira T, Hayashi I, Mashimo T: Systemic daily morphine enhances the analgesic effect of intrathecal dexmedetomidine via up-regulation of alpha 2 adrenergic receptor subtype s, A, B and C in dorsal root ganglion and dorsal horn. J Pharm Pharmacol (査読あり) 62:1760-1767, 2010
10. 斎藤洋司、小川節郎、真下 節、増田 豊、紺野慎一、山下敏彦: 慢性疼痛に対する薬物療法を中心とした治療実態調査 - 日本、米国、ドイツの比較-. Pharma Medica (査読なし) 28:137-148, 2010
11. 中江 文、真下 節: 総説 痛みと情動. Pain Research (査読あり) 25:199-209, 2010
12. 阪上 学、真下 節: CRPS の診断とその対処法. 日本医師会雑誌 (査読なし) 138:2540-2541, 2010
13. 植松弘進、柴田政彦、松村陽子、松田陽二、阪上学、井上隆弥、真下節: 当院における脊髄障害性疼痛症例の検討. Pain Research (査読あり) 25(1):19-25, 2010
14. 柴田政彦、住谷昌彦、真下 節: 神経障害性疼痛 CRPS. Clinical Neuroscience (査読なし) 27:528-529, 2009

[学会発表] (計 12 件)

1. 安達友紀、中江 文、柴田政彦、真下 節、催眠による認知的評価と痛みの変化に関する研究、第 33 回日本疼痛学会、2011 年 7 月 23 日、愛媛県民文化会館
2. 中江 文、真下 節、情動と痛み、第 33

- 回日本疼痛学会、2011年7月23日、愛媛県民文化会館
3. 中江 文、真下 節、脊髄損傷動物モデル動物の疼痛研究への応用、第33回日本疼痛学会、2011年7月23日、愛媛県民文化会館
  4. 住谷昌彦、宮内 哲、松本吉央、他、臨床神経障害性疼痛患者の高次機能（注意と他者理解） 第33回日本疼痛学会、2011年7月22日、愛媛県民文化会館
  5. 中江 文、遠藤香織、安達友紀、他、ワーキングメモリーの容量と実験的痛みの関係、日本ペインクリニック学会第45回大会、2011年7月22日、愛媛県民文化会館
  6. 真下 節、臨床からみたCRPSの新しい展開、第32回日本疼痛学会、2010年7月3日、国立京都国際会館
  7. 中江 文、井上隆弥、柴田政彦、真下 節、他3名、眼窩下神経絞扼モデルにおけるセロトニン2C受容体の関与、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  8. 植松弘進、住谷昌彦、柴田政彦、松田陽二、阪上 学、井上隆弥、真下 節、錯視を用いた疼痛に対する注意の定量化（第一報：基本的発見）、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  9. 植松弘進、柴田政彦、真下 節、他4名、脳機能画像における痛覚認知機構の解析－筋由来の痛みと皮膚由来の痛みの比較検討一、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  10. 中江 文、真下 節、他、眼窩下神経絞扼モデルにおける核小体RNA（RBII-52）の関わり、第31回日本疼痛学会、2009年7月18日、名古屋国際会議場
  11. 中江 文、柴田政彦、真下 節、他、統合失調症患者における痛覚感受性の解析、第31回日本疼痛学会、2009年7月17日、名古屋国際会議場
  12. 植松弘進、柴田政彦、真下 節、他、当院における脊髄障害性疼痛症例の検討、第31回日本疼痛学会、2009年7月17日、名古屋国際会議場

[図書] (計4件)

1. 真下 節編集、克誠堂出版、For Professional Anesthesiologists 神経障害性疼痛 Neuropathic Pain、(2011)、401ページ
2. 井上潤一、真下 節、総合医学社、痛みの基礎 神経障害性疼痛の発生机序 麻酔科学レクチャー これだけは知っておきたい Q&A、(2011)、pp. 597-605 (9ページ)

3. 真下 節、大阪弁護士協同組合、弁護士研修講座 研修速報 CRPS 複合性局所疼痛症候群、(2011)、17ページ
4. 真下 節、柴田政彦編集、真興交易(株)出版部、複合性局所疼痛症候群 CRPS (complex regional pain syndrome)、(2009)、250ページ

#### 5. 研究組織

##### (1) 研究代表者

真下 節 (MASHIMO TAKASHI)  
大阪大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：10110785

##### (2) 研究分担者

柴田 政彦 (SHIBATA MASAHIKO)  
大阪大学・大学院医学系研究科  
・寄附講座教授  
研究者番号：50216016

井上 隆弥 (INOUE TAKAYA)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：00335358

阪上 学 (SAKAUE GAKU)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：70379254  
(平成21年まで分担者として参画)

中江 文 (NAKAE AYA)  
大阪大学・大学院医学系研究科  
・特任准教授（常勤）  
研究者番号：60379170

松田 陽一 (MATSUDA YOICHI)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：00397754

住谷 昌彦 (SUMITANI MASAHIKO)  
東京大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：80420420

喜多 伸一 (KITA SHINICHI)  
神戸大学・大学院人文学研究科・准教授  
研究者番号：10224940

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390434

研究課題名（和文） 神経障害性疼痛に関連する情動異常の脳内発現機序と疼痛増悪機序の解明

研究課題名（英文） Cerebral and peripheral pathophysiology of delayed emotional disturbances associated with neuropathic pain

研究代表者

真下 節（MASHIMO TAKASHI）

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10110785

研究成果の概要（和文）：神経障害性疼痛モデルマウスでは疼痛出現後しばらくしてうつなどの情動異常が発症するが、うつ行動の発現には $\alpha 2A$  アドレノ受容体が深く関与していることを明らかにした。さらに、モルヒネ耐性マウスではデクスメドミジンの鎮痛効果が増強し、後根神経節の $\alpha 2A$ 、 $\alpha 2C$  アドレノ受容体 mRNA の発現増加がみられた。また、神経障害性疼痛モデルラットでは、セロトニン 2C 受容体の RNA 編集が起こり、受容体作動薬の疼痛軽減効果が増強された。

研究成果の概要（英文）：Nerve injury triggered affective disturbances such as depression and anxiety that appeared much later than sensory hypersensitivity in mice. The alpha-2A adrenergic receptor may play a role in the neural mechanism of affective disturbances. Systemic daily morphine enhanced the analgesic effect of intrathecal dexmedetomidine via up-regulation of the alpha-2A, -2B and -2C adrenergic receptors in lumbar dorsal root ganglion and dorsal horn in mice. In the trigeminal neuropathic pain model rats, intrathecal serotonin 2C receptor agonists produced antiallodynic effect. This effect was attenuated by intrathecal pretreatment with the serotonin 2C receptor antagonist. These results indicate that the serotonin 2C receptor plays a role in spinal inhibition of trigeminal neuropathic pain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2010年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

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：神経障害性疼痛、情動異常、 $\alpha 2A$  アドレノ受容体、モルヒネ耐性、セロトニン 2C 受容体、RNA 編集

## 1. 研究開始当初の背景

痛みの認知は感覚的要素だけでなく情動的要素も含んでおり、痛みが情動に大

きく作用し、また情動面の異常が痛みの認知や痛みへの対応行動に大きな影響を与える。このため、慢性に続く痛みはし

ばしば患者を不安・恐怖・抑うつ状態に陥れ、痛みの増悪という悪循環を生み出す。われわれは慢性疼痛患者にしばしば合併する不安・うつといった情動異常に注目し、これまで神経障害性疼痛と情動異常の関係についてモデル動物を用いて検討を進めてきた。そして、神経損傷に起因して不安様・うつ様行動が発症することを、初めて証明することに成功し、神経損傷が誘発する情動行動異常モデルを確立した (Suzuki et al, Anesth Analg 2007;104:1570-7)。この現象は、末梢神経の損傷が脳レベルの情動中枢に可塑的变化を引き起こすことを示唆している。

## 2. 研究の目的

本研究では、痛みと情動系に焦点を合わせて、(1) 神経障害性疼痛モデル動物を用いた、情動異常の発症とモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与のメカニズム解明、(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおけるセロトニン2C受容体(5-HTR 2C)の変化に関する研究、(3) ヒトにおいて脳機能画像 fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討、などを主な目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 神経障害性疼痛モデル動物における情動異常およびモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与に関する研究

正常マウス(コントロール)、 $\alpha 2A$ 受容体変異マウス( $\alpha 2A-D79N$ )、 $\alpha 2C$ 欠損マウス( $\alpha 2C K0$ )において第5腰神経結紮による神経障害性疼痛モデルを作成し、強制水泳試験によってうつ行動を評価した。

次に、モルヒネを連続投与して作成したモルヒネ耐性マウスに対してデクスメドミジンの髄腔内投与による鎮痛効果を測定し、後根神経節における $\alpha 2$ アドレノ受容体の全サブタイプのmRNA発現をリアルタイムPCR法で測定した。

(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運

動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおける5-HT 2C受容体(5-HTR 2C)の変化に関する研究

脊髄損傷後には痙性麻痺を伴う難治性の神経障害性疼痛を発症することが多い。今回、脊髄損傷後の運動ニューロンが5-HTの喪失をRNA編集で補うことによって興奮性を再獲得する機序を、脊髄損傷後の回復過程における運動ニューロン膜5-HTR 2Cのアイソフォームの発現を調べることによって検討した。

さらに、5-HTR 2Cは疼痛行動が鋭敏になると受容体機能が高くなるRNA編集が起こるが、5-HTR 2Cが疼痛行動を抑制するかどうかについては明らかでなかった。三叉神経の神経障害性疼痛モデルラットにおいて、5-HTR 2C作動薬を投与して疼痛閾値を測定した。

(3) ヒトにおいて脳機能画像fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討

ヒトの痛みの認知に関する脳機能画像の研究において、筋肉痛の認知についての研究は少ない。健康成人において下腿の骨膜・筋に圧刺激によって痛みを与え、fMRIによって脳の活動部位を調べた。右脛骨前面(骨膜痛)と右腓腹筋(筋痛)にデジタル式圧痛計を用いて圧刺激を加え、NRS 3~8の間で4種類の痛みを与えた。疼痛刺激20秒間与え、40秒の間隔を空けてそれぞれ3回与えるのを1タスクとした。各タスクにおいてfMRIによる脳機能画像を測定し、SP99を用いて解析した。

## 4. 研究成果

(1) 神経障害性疼痛モデル動物における情動異常およびモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与に関する研究

神経結紮を行わない群では、不動時間は $\alpha 2A-D79N$ 、コントロール、 $\alpha 2C K0$ の順で長かった。神経結紮40日後の群では、コントロールと $\alpha 2C K0$ マウスでは有意な不動時間の延長がみられたが、 $\alpha 2A-D79N$ マウスでは不動時間の延長は認められなかった。これらの結果から、神経障害性疼痛から誘導されるうつ行動の発現には $\alpha 2A$ アドレノ受容体が深く関与していることが示唆された。

モルヒネ耐性マウスではデクスメドミジンの鎮痛効果が増強し、後根神経節において $\alpha 2$ アドレノ受容体サブタイプAおよびCの増加がみられた。これらの結果から、モルヒネ耐性マウスにおける $\alpha 2$ アドレノ受容体アップレギュレーションにはサブタイプA、BおよびCの増加が関与していることが明らかになった。

(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおける5-HTR 2Cの変化に関する研究

ラットの脊髄損傷モデルにおいて、脊髄損傷後に起こるRNA編集の変化の結果として5HT<sub>2C</sub>の受容体アイソフォームの発現増加が起こり、このアイソフォームは5-HTがほとんどない状態でも活性化することで、持続性カルシウム電流の回復をもたらすことを明らかにした。この変化は運動ニューロンの機能回復と関連しており、脊髄損傷後のRNA編集による5HT<sub>2C</sub>受容体たんぱく質の機能変化の重要性を示唆するものであった。

さらに、三叉神経の神経障害性疼痛モデルラットの実験では、5-HT<sub>2C</sub>作動薬を投与すると疼痛閾値の上昇を認め、その変化は5-HT<sub>2C</sub>拮抗薬の前投与で減弱した。本研究の結果は、5-HT<sub>2C</sub>は神経障害性疼痛の減弱に関与していること、この効果にはRNA編集による5-HT<sub>2C</sub>作動薬に対する感受性上昇が寄与していることを示唆している。

(3) ヒトにおいて脳機能画像fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討

骨膜痛では反対側の左視床前障に活動がみられ、筋痛では同側右の被殻、視床および左帯状回に活動が認められた。以上の結果から、筋痛は骨膜痛に比べて辺縁系の活動が有意で、感覚系だけでなく情動系への影響が強いことが示唆された。

#### 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 14 件)

1. 真下 節: 特集・疼痛治療の最前線 CRPS/カウザルギーの治療. Brain Medical (査読なし) 24:73-79, 2012
2. Maeda L, Ono M, Koyama T, Oshiro Y, Sumitani M, Mashimo T, Shibata M: Human brain activity associated with painful mechanical stimulation to muscle and bone. J Anesth (査読あり) 25:523-530, 2011
3. Nakae A, Nakai K, Yano K, Hosokawa K, Shibata M, Mashimo T: The animal model of spinal cord injury as an experimental pain model. J Biomed Biotech (査読あり) 2011:1-11, 2011
4. Nakai K, Nakae A, Oba S, Mashimo T, Ueda K: 5-HT<sub>2C</sub> receptor agonists attenuate pain-related behavior in a rat model of trigeminal neuropathic pain. Eur J Pain (査読あり) 14:999-1006, 2011
5. Uematsu H, Shibata M, Miyauchi S, Mashimo T: Brain imaging of mechanically induced muscle versus cutaneous pain. Neurosci Res (査読あり) 70:78-84, 2011
6. Sumitani M, Shibata M, Sakaue G, Mashimo T: Development of comprehensive diagnostic criteria for complex regional pain syndrome in the Japanese population. Pain (査読あり) 150:243-249, 2010
7. Nakai K, Nakae A, Oba S, Mashimo T: P2X<sub>4</sub> receptor expression in a rat model of trigeminal neuropathic pain. NeuroReport (査読あり) 21:559-563, 2010
8. Murray KC, Nakae A, Stephens MJ, Rank M, D' Amico J, Harvey PJ, Li X, Harris RLW, Ballou EW, Anelli R, Heckman CJ, Mashimo T, Vavrek R, Sanelli L, Gorassini MA, Bennett DJ, Fouad K: recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT<sub>2C</sub> receptor. Nature Med (査読あり) 16:694-700, 2010
9. Tamagaki S, Suzuki T, Hagihira T, Hayashi I, Mashimo T: Systemic daily morphine enhances the analgesic effect of intrathecal dexmedetomidine via up-regulation of alpha 2 adrenergic receptor subtype s, A, B and C in dorsal root ganglion and dorsal horn. J Pharm Pharmacol (査読あり) 62:1760-1767, 2010
10. 斎藤洋司、小川節郎、真下 節、増田 豊、紺野慎一、山下敏彦: 慢性疼痛に対する薬物療法を中心とした治療実態調査 - 日本、米国、ドイツの比較-. Pharma Medica (査読なし) 28:137-148, 2010
11. 中江 文、真下 節: 総説 痛みと情動. Pain Research (査読あり) 25:199-209, 2010
12. 阪上 学、真下 節: CRPS の診断とその対処法. 日本医師会雑誌 (査読なし) 138:2540-2541, 2010
13. 植松弘進、柴田政彦、松村陽子、松田陽二、阪上学、井上隆弥、真下節: 当院における脊髄障害性疼痛症例の検討. Pain Research (査読あり) 25(1):19-25, 2010
14. 柴田政彦、住谷昌彦、真下 節: 神経障害性疼痛 CRPS. Clinical Neuroscience (査読なし) 27:528-529, 2009

[学会発表] (計 12 件)

1. 安達友紀、中江 文、柴田政彦、真下 節、催眠による認知的評価と痛みの変化に関する研究、第 33 回日本疼痛学会、2011 年 7 月 23 日、愛媛県民文化会館
2. 中江 文、真下 節、情動と痛み、第 33

- 回日本疼痛学会、2011年7月23日、愛媛県民文化会館
3. 中江 文、真下 節、脊髄損傷動物モデル動物の疼痛研究への応用、第33回日本疼痛学会、2011年7月23日、愛媛県民文化会館
  4. 住谷昌彦、宮内 哲、松本吉央、他、臨床神経障害性疼痛患者の高次機能（注意と他者理解） 第33回日本疼痛学会、2011年7月22日、愛媛県民文化会館
  5. 中江 文、遠藤香織、安達友紀、他、ワーキングメモリーの容量と実験的痛みの関係、日本ペインクリニック学会第45回大会、2011年7月22日、愛媛県民文化会館
  6. 真下 節、臨床からみたCRPSの新しい展開、第32回日本疼痛学会、2010年7月3日、国立京都国際会館
  7. 中江 文、井上隆弥、柴田政彦、真下 節、他3名、眼窩下神経絞扼モデルにおけるセロトニン2C受容体の関与、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  8. 植松弘進、住谷昌彦、柴田政彦、松田陽二、阪上 学、井上隆弥、真下 節、錯視を用いた疼痛に対する注意の定量化（第一報：基本的発見）、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  9. 植松弘進、柴田政彦、真下 節、他4名、脳機能画像における痛覚認知機構の解析－筋由来の痛みと皮膚由来の痛みの比較検討一、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  10. 中江 文、真下 節、他、眼窩下神経絞扼モデルにおける核小体RNA（RBII-52）の関わり、第31回日本疼痛学会、2009年7月18日、名古屋国際会議場
  11. 中江 文、柴田政彦、真下 節、他、統合失調症患者における痛覚感受性の解析、第31回日本疼痛学会、2009年7月17日、名古屋国際会議場
  12. 植松弘進、柴田政彦、真下 節、他、当院における脊髄障害性疼痛症例の検討、第31回日本疼痛学会、2009年7月17日、名古屋国際会議場

[図書] (計4件)

1. 真下 節編集、克誠堂出版、For Professional Anesthesiologists 神経障害性疼痛 Neuropathic Pain、(2011)、401ページ
2. 井上潤一、真下 節、総合医学社、痛みの基礎 神経障害性疼痛の発生机序 麻酔科学レクチャー これだけは知っておきたい Q&A、(2011)、pp. 597-605 (9ページ)

3. 真下 節、大阪弁護士協同組合、弁護士研修講座 研修速報 CRPS 複合性局所疼痛症候群、(2011)、17ページ
4. 真下 節、柴田政彦編集、真興交易(株)出版部、複合性局所疼痛症候群 CRPS (complex regional pain syndrome)、(2009)、250ページ

#### 5. 研究組織

##### (1) 研究代表者

真下 節 (MASHIMO TAKASHI)  
大阪大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：10110785

##### (2) 研究分担者

柴田 政彦 (SHIBATA MASAHIKO)  
大阪大学・大学院医学系研究科  
・寄附講座教授  
研究者番号：50216016

井上 隆弥 (INOUE TAKAYA)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：00335358

阪上 学 (SAKAUE GAKU)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：70379254  
(平成21年まで分担者として参画)

中江 文 (NAKAE AYA)  
大阪大学・大学院医学系研究科  
・特任准教授（常勤）  
研究者番号：60379170

松田 陽一 (MATSUDA YOICHI)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：00397754

住谷 昌彦 (SUMITANI MASAHIKO)  
東京大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：80420420

喜多 伸一 (KITA SHINICHI)  
神戸大学・大学院人文学研究科・准教授  
研究者番号：10224940

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390434

研究課題名（和文） 神経障害性疼痛に関連する情動異常の脳内発現機序と疼痛増悪機序の解明

研究課題名（英文） Cerebral and peripheral pathophysiology of delayed emotional disturbances associated with neuropathic pain

研究代表者

真下 節（MASHIMO TAKASHI）

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10110785

研究成果の概要（和文）：神経障害性疼痛モデルマウスでは疼痛出現後しばらくしてうつなどの情動異常が発症するが、うつ行動の発現には $\alpha$ 2A アドレノ受容体が深く関与していることを明らかにした。さらに、モルヒネ耐性マウスではデクスメドミジンの鎮痛効果が増強し、後根神経節の $\alpha$ 2A、 $\alpha$ 2C アドレノ受容体 mRNA の発現増加がみられた。また、神経障害性疼痛モデルラットでは、セロトニン2C 受容体の RNA 編集が起こり、受容体作動薬の疼痛軽減効果が増強された。

研究成果の概要（英文）：Nerve injury triggered affective disturbances such as depression and anxiety that appeared much later than sensory hypersensitivity in mice. The alpha-2A adrenergic receptor may play a role in the neural mechanism of affective disturbances. Systemic daily morphine enhanced the analgesic effect of intrathecal dexmedetomidine via up-regulation of the alpha-2A, -2B and -2C adrenergic receptors in lumbar dorsal root ganglion and dorsal horn in mice. In the trigeminal neuropathic pain model rats, intrathecal serotonin 2C receptor agonists produced antiallodynic effect. This effect was attenuated by intrathecal pretreatment with the serotonin 2C receptor antagonist. These results indicate that the serotonin 2C receptor plays a role in spinal inhibition of trigeminal neuropathic pain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2010年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2011年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

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：神経障害性疼痛、情動異常、 $\alpha$ 2A アドレノ受容体、モルヒネ耐性、セロトニン2C 受容体、RNA 編集

## 1. 研究開始当初の背景

痛みの認知は感覚的要素だけでなく情動的要素も含んでおり、痛みが情動に大

きく作用し、また情動面の異常が痛みの認知や痛みへの対応行動に大きな影響を与える。このため、慢性に続く痛みはし

ばしば患者を不安・恐怖・抑うつ状態に陥れ、痛みの増悪という悪循環を生み出す。われわれは慢性疼痛患者にしばしば合併する不安・うつといった情動異常に注目し、これまで神経障害性疼痛と情動異常の関係についてモデル動物を用いて検討を進めてきた。そして、神経損傷に起因して不安様・うつ様行動が発症することを、初めて証明することに成功し、神経損傷が誘発する情動行動異常モデルを確立した (Suzuki et al, Anesth Analg 2007;104:1570-7)。この現象は、末梢神経の損傷が脳レベルの情動中枢に可塑的变化を引き起こすことを示唆している。

## 2. 研究の目的

本研究では、痛みと情動系に焦点を合わせて、(1) 神経障害性疼痛モデル動物を用いた、情動異常の発症とモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与のメカニズム解明、(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおけるセロトニン2C受容体(5-HTR 2C)の変化に関する研究、(3) ヒトにおいて脳機能画像 fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討、などを主な目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 神経障害性疼痛モデル動物における情動異常およびモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与に関する研究

正常マウス(コントロール)、 $\alpha 2A$ 受容体変異マウス( $\alpha 2A-D79N$ )、 $\alpha 2C$ 欠損マウス( $\alpha 2C K0$ )において第5腰神経結紮による神経障害性疼痛モデルを作成し、強制水泳試験によってうつ行動を評価した。

次に、モルヒネを連続投与して作成したモルヒネ耐性マウスに対してデクスメドミジンの髄腔内投与による鎮痛効果を測定し、後根神経節における $\alpha 2$ アドレノ受容体の全サブタイプのmRNA発現をリアルタイムPCR法で測定した。

(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運

動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおける5-HT 2C受容体(5-HTR 2C)の変化に関する研究

脊髄損傷後には痙性麻痺を伴う難治性の神経障害性疼痛を発症することが多い。今回、脊髄損傷後の運動ニューロンが5-HTの喪失をRNA編集で補うことによって興奮性を再獲得する機序を、脊髄損傷後の回復過程における運動ニューロン膜5-HTR 2Cのアイソフォームの発現を調べることによって検討した。

さらに、5-HTR 2Cは疼痛行動が鋭敏になると受容体機能が高くなるRNA編集が起こるが、5-HTR 2Cが疼痛行動を抑制するかどうかについては明らかでなかった。三叉神経の神経障害性疼痛モデルラットにおいて、5-HTR 2C作動薬を投与して疼痛閾値を測定した。

(3) ヒトにおいて脳機能画像fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討

ヒトの痛みの認知に関する脳機能画像の研究において、筋肉痛の認知についての研究は少ない。健康成人において下腿の骨膜・筋に圧刺激によって痛みを与え、fMRIによって脳の活動部位を調べた。右脛骨前面(骨膜痛)と右腓腹筋(筋痛)にデジタル式圧痛計を用いて圧刺激を加え、NRS 3~8の間で4種類の痛みを与えた。疼痛刺激20秒間与え、40秒の間隔を空けてそれぞれ3回与えるのを1タスクとした。各タスクにおいてfMRIによる脳機能画像を測定し、SP99を用いて解析した。

## 4. 研究成果

(1) 神経障害性疼痛モデル動物における情動異常およびモルヒネ耐性に対する $\alpha 2$ アドレノ受容体の関与に関する研究

神経結紮を行わない群では、不動時間は $\alpha 2A-D79N$ 、コントロール、 $\alpha 2C K0$ の順で長かった。神経結紮40日後の群では、コントロールと $\alpha 2C K0$ マウスでは有意な不動時間の延長がみられたが、 $\alpha 2A-D79N$ マウスでは不動時間の延長は認められなかった。これらの結果から、神経障害性疼痛から誘導されるうつ行動の発現には $\alpha 2A$ アドレノ受容体が深く関与していることが示唆された。

モルヒネ耐性マウスではデクスメドミジンの鎮痛効果が増強し、後根神経節において $\alpha 2$ アドレノ受容体サブタイプAおよびCの増加がみられた。これらの結果から、モルヒネ耐性マウスにおける $\alpha 2$ アドレノ受容体アップレギュレーションにはサブタイプA、BおよびCの増加が関与していることが明らかになった。

(2) 脊髄損傷後および末梢神経損傷後の運動ニューロンおよび痛覚ニューロンにおける5-HTR 2Cの変化に関する研究

ラットの脊髄損傷モデルにおいて、脊髄損傷後に起こるRNA編集の変化の結果として5HT<sub>2C</sub>の受容体アイソフォームの発現増加が起こり、このアイソフォームは5-HTがほとんどない状態でも活性化することで、持続性カルシウム電流の回復をもたらすことを明らかにした。この変化は運動ニューロンの機能回復と関連しており、脊髄損傷後のRNA編集による5HT<sub>2C</sub>受容体たんぱく質の機能変化の重要性を示唆するものであった。

さらに、三叉神経の神経障害性疼痛モデルラットの実験では、5-HT<sub>2C</sub>作動薬を投与すると疼痛閾値の上昇を認め、その変化は5-HT<sub>2C</sub>拮抗薬の前投与で減弱した。本研究の結果は、5-HT<sub>2C</sub>は神経障害性疼痛の減弱に関与していること、この効果にはRNA編集による5-HT<sub>2C</sub>作動薬に対する感受性上昇が寄与していることを示唆している。

(3) ヒトにおいて脳機能画像fMRI法を用いた、筋肉痛の脳内認知機構と情動系への影響についての検討

骨膜痛では反対側の左視床前障に活動がみられ、筋痛では同側右の被殻、視床および左帯状回に活動が認められた。以上の結果から、筋痛は骨膜痛に比べて辺縁系の活動が有意で、感覚系だけでなく情動系への影響が強いことが示唆された。

#### 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 14 件)

1. 真下 節: 特集・疼痛治療の最前線 CRPS/カウザルギーの治療. Brain Medical (査読なし) 24:73-79, 2012
2. Maeda L, Ono M, Koyama T, Oshiro Y, Sumitani M, Mashimo T, Shibata M: Human brain activity associated with painful mechanical stimulation to muscle and bone. J Anesth (査読あり) 25:523-530, 2011
3. Nakae A, Nakai K, Yano K, Hosokawa K, Shibata M, Mashimo T: The animal model of spinal cord injury as an experimental pain model. J Biomed Biotech (査読あり) 2011:1-11, 2011
4. Nakai K, Nakae A, Oba S, Mashimo T, Ueda K: 5-HT<sub>2C</sub> receptor agonists attenuate pain-related behavior in a rat model of trigeminal neuropathic pain. Eur J Pain (査読あり) 14:999-1006, 2011
5. Uematsu H, Shibata M, Miyauchi S, Mashimo T: Brain imaging of mechanically induced muscle versus cutaneous pain. Neurosci Res (査読あり) 70:78-84, 2011
6. Sumitani M, Shibata M, Sakaue G, Mashimo T: Development of comprehensive diagnostic criteria for complex regional pain syndrome in the Japanese population. Pain (査読あり) 150:243-249, 2010
7. Nakai K, Nakae A, Oba S, Mashimo T: P2X<sub>4</sub> receptor expression in a rat model of trigeminal neuropathic pain. NeuroReport (査読あり) 21:559-563, 2010
8. Murray KC, Nakae A, Stephens MJ, Rank M, D' Amico J, Harvey PJ, Li X, Harris RLW, Ballou EW, Anelli R, Heckman CJ, Mashimo T, Vavrek R, Sanelli L, Gorassini MA, Bennett DJ, Fouad K: recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT<sub>2C</sub> receptor. Nature Med (査読あり) 16:694-700, 2010
9. Tamagaki S, Suzuki T, Hagihira T, Hayashi I, Mashimo T: Systemic daily morphine enhances the analgesic effect of intrathecal dexmedetomidine via up-regulation of alpha 2 adrenergic receptor subtype  $\alpha_2A$ ,  $\alpha_2B$  and  $\alpha_2C$  in dorsal root ganglion and dorsal horn. J Pharm Pharmacol (査読あり) 62:1760-1767, 2010
10. 斎藤洋司、小川節郎、真下 節、増田 豊、紺野慎一、山下敏彦: 慢性疼痛に対する薬物療法を中心とした治療実態調査 - 日本、米国、ドイツの比較-. Pharma Medica (査読なし) 28:137-148, 2010
11. 中江 文、真下 節: 総説 痛みと情動. Pain Research (査読あり) 25:199-209, 2010
12. 阪上 学、真下 節: CRPS の診断とその対処法. 日本医師会雑誌 (査読なし) 138:2540-2541, 2010
13. 植松弘進、柴田政彦、松村陽子、松田陽二、阪上学、井上隆弥、真下節: 当院における脊髄障害性疼痛症例の検討. Pain Research (査読あり) 25(1):19-25, 2010
14. 柴田政彦、住谷昌彦、真下 節: 神経障害性疼痛 CRPS. Clinical Neuroscience (査読なし) 27:528-529, 2009

[学会発表] (計 12 件)

1. 安達友紀、中江 文、柴田政彦、真下 節、催眠による認知的評価と痛みの変化に関する研究、第 33 回日本疼痛学会、2011 年 7 月 23 日、愛媛県民文化会館
2. 中江 文、真下 節、情動と痛み、第 33

- 回日本疼痛学会、2011年7月23日、愛媛県民文化会館
3. 中江 文、真下 節、脊髄損傷動物モデル動物の疼痛研究への応用、第33回日本疼痛学会、2011年7月23日、愛媛県民文化会館
  4. 住谷昌彦、宮内 哲、松本吉央、他、臨床神経障害性疼痛患者の高次機能（注意と他者理解） 第33回日本疼痛学会、2011年7月22日、愛媛県民文化会館
  5. 中江 文、遠藤香織、安達友紀、他、ワーキングメモリーの容量と実験的痛みの関係、日本ペインクリニック学会第45回大会、2011年7月22日、愛媛県民文化会館
  6. 真下 節、臨床からみたCRPSの新しい展開、第32回日本疼痛学会、2010年7月3日、国立京都国際会館
  7. 中江 文、井上隆弥、柴田政彦、真下 節、他3名、眼窩下神経絞扼モデルにおけるセロトニン2C受容体の関与、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  8. 植松弘進、住谷昌彦、柴田政彦、松田陽二、阪上 学、井上隆弥、真下 節、錯視を用いた疼痛に対する注意の定量化（第一報：基本的発見）、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  9. 植松弘進、柴田政彦、真下 節、他4名、脳機能画像における痛覚認知機構の解析－筋由来の痛みと皮膚由来の痛みの比較検討一、第32回日本疼痛学会、2010年7月2日、国立京都国際会館
  10. 中江 文、真下 節、他、眼窩下神経絞扼モデルにおける核小体RNA（RBII-52）の関わり、第31回日本疼痛学会、2009年7月18日、名古屋国際会議場
  11. 中江 文、柴田政彦、真下 節、他、統合失調症患者における痛覚感受性の解析、第31回日本疼痛学会、2009年7月17日、名古屋国際会議場
  12. 植松弘進、柴田政彦、真下 節、他、当院における脊髄障害性疼痛症例の検討、第31回日本疼痛学会、2009年7月17日、名古屋国際会議場

[図書] (計4件)

1. 真下 節編集、克誠堂出版、**For Professional Anesthesiologists 神経障害性疼痛 Neuropathic Pain**、(2011)、401ページ
2. 井上潤一、真下 節、総合医学社、**痛みの基礎 神経障害性疼痛の発生机序 麻酔科学レクチャー** これだけは知っておきたい Q&A、(2011)、pp. 597-605 (9ページ)

3. 真下 節、大阪弁護士協同組合、**弁護士研修講座 研修速報 CRPS 複合性局所疼痛症候群**、(2011)、17ページ
4. 真下 節、柴田政彦編集、**真興交易(株)出版部、複合性局所疼痛症候群 CRPS (complex regional pain syndrome)**、(2009)、250ページ

#### 5. 研究組織

##### (1) 研究代表者

真下 節 (MASHIMO TAKASHI)  
大阪大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：10110785

##### (2) 研究分担者

柴田 政彦 (SHIBATA MASAHIKO)  
大阪大学・大学院医学系研究科  
・寄附講座教授  
研究者番号：50216016

井上 隆弥 (INOUE TAKAYA)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：00335358

阪上 学 (SAKAUE GAKU)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：70379254  
(平成21年まで分担者として参画)

中江 文 (NAKAE AYA)  
大阪大学・大学院医学系研究科  
・特任准教授（常勤）  
研究者番号：60379170

松田 陽一 (MATSUDA YOICHI)  
大阪大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：00397754

住谷 昌彦 (SUMITANI MASAHIKO)  
東京大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：80420420

喜多 伸一 (KITA SHINICHI)  
神戸大学・大学院人文学研究科・准教授  
研究者番号：10224940