

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24593052

研究課題名(和文) 痛みとうつの相関関係～NPYを基点として～

研究課題名(英文) Pain have a correlation with Depression-Relevance of NPY-

研究代表者

弦巻 立 (Tsurumaki, Tatsuru)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：10345522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの下歯槽神経損傷モデル動物を作成し、痛みに対する疼痛閾値の低下を認めた。このモデルラットにおいて、Neuropeptide Yという神経伝達物質とその受容体の発現を検討したところ、神経損傷を起こした神経細胞では、神経損傷を起こしていない細胞と比べて有意にNeuropeptide YのRNA発現が変化していた。また、4つある受容体は異なる発現変化を示した。

研究成果の概要(英文)：I developed a trigeminal neuropathic pain model in which the withdrawal threshold to mechanical stimulation of whisker pad was significantly decreased after inferior alveolar nerve injury. Therefore, I performed experiments to examine neuropeptide Y and its receptors (Y1, Y2, Y4 and Y5) expression using this neuropathic pain model. Expression of neuropeptide Y mRNA was significantly increased after inferior alveolar nerve injury. The expressions of neuropeptide Y receptors were also changed after inferior alveolar nerve injury.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：神経ペプチド

1. 研究開始当初の背景

慢性疼痛患者の治療には、抗うつ剤が用いられて、その有効性は認められているが、その作用機序は多くの説があるがまだ解明されていない。一方、同病者はうつ病を示すことも多く、痛みがうつを誘導するのか、うつが痛みを誘導するのかは明らかになっていない。近年、神経ペプチドである Neuropeptide Y (NPY) が中枢神経系においては、摂食、記憶、睡眠、疼痛の制御などに関与し、末梢では血管運動や血管新生などに関わっている (Tsurumaki et al, 2002) ことが報告されている。また、NPY と精神疾患との強い関わりが示唆されており、特に「うつ」と NPY の関係に注目が集まっている。

痛み刺激により NPY の分泌が上昇することは知られている。また、NPY 受容体は NPY が結合すると細胞内取り込みにより脱感作されることも申請者の以前の研究 (Tsurumaki et al, J Cardiovasc Pharmacol. 2003) などにより知られている。また、Zhou らによると、NPY 遺伝子発現と精神活動の関連も示唆されている (Zhou et al, Nature 2008)。しかし、なぜ口腔内特異的に痛みが増強されるのか？ 本当に長期間のストレスで NPY 分泌の上昇と NPY 受容体発現減少や NPY の枯渇がおきるのか？ その期間は？ など不明でかつ重要な点はいまだ解明されていない。

2. 研究の目的

「痛み」から「うつ」を誘発するのか、「うつ」から「痛み」を誘発するのかの関係について今のところ、明白に説明されていない。そこで複雑な疼痛メカニズムに関わっており、さらに精神運動領域においても重要な役割を果たしていると考えられる Neuropeptide Y (NPY) に着目し、「痛み」と「うつ」、「うつ」と「痛み」の相互関係を NPY の発現と機能の面から明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

動物はラットを用いた。下歯槽神経損傷モデルとして、ラットの下顎骨を切削し下歯槽神経を露出させ、左側は切断し、右側は何もせずコントロール側とした。また、異なるモデルとして皮膚切開のみ行い下顎骨を傷つけずに、下歯槽神経の枝であるオトガイ神経を、3-0 絹糸で結紮するモデルも作成した。Neuropeptide Y ならびにその受容体の発現はラットの三叉神経節を摘出し、RNA を抽出、特異的なプライマーを用いて RT-PCR を行い、PCR 産物を電気泳動することで発現変化を検討した。当初の予定では「うつ」発症モデルとして強制水泳など行動的に行う予定であったが、薬物的に ACTH の腹腔内投与をおこなった。

4. 研究成果

ラット下歯槽神経損傷モデルにおける、Fon Frey Filament 刺激による接触閾値の変化を図 1 に示す。

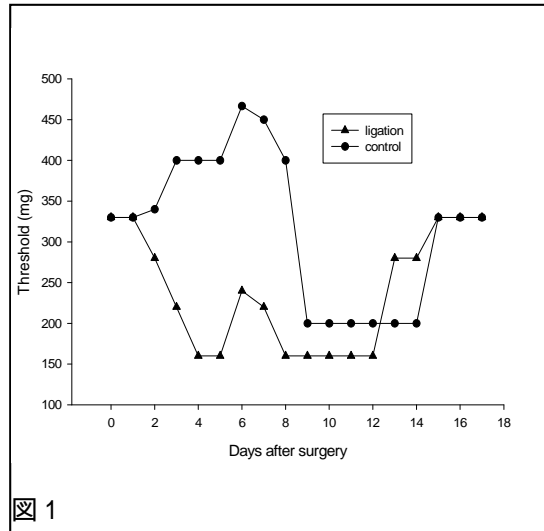


図 1

図のように神経損傷モデルにおいて、神経損傷側では、コントロール側に対して接触閾値の低下が認められた。

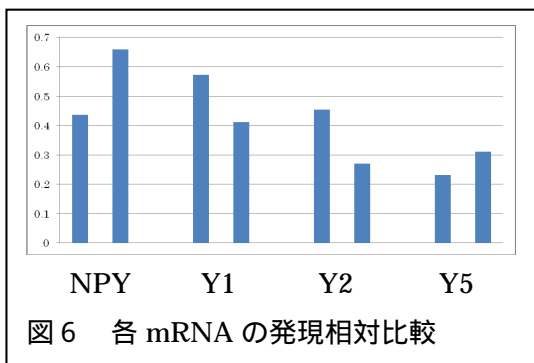
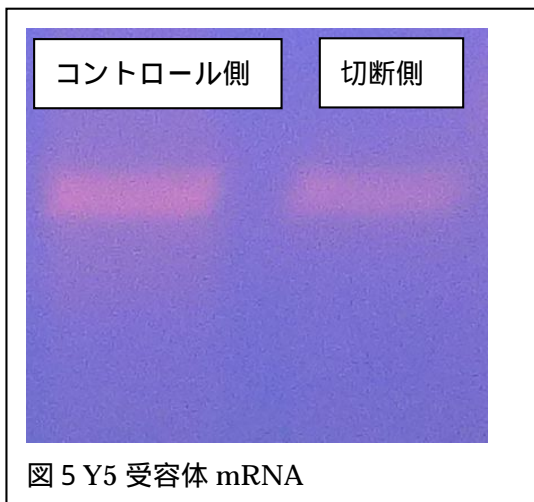
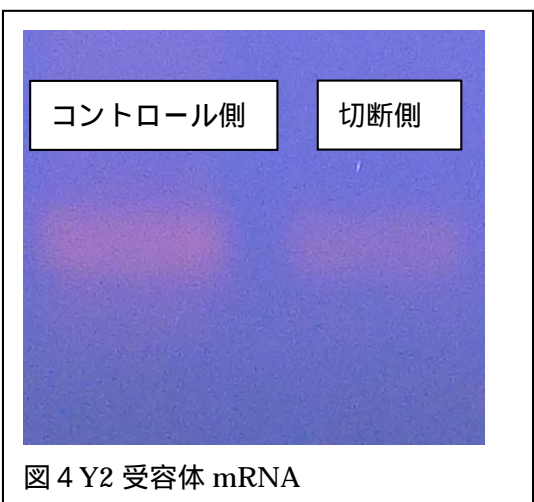
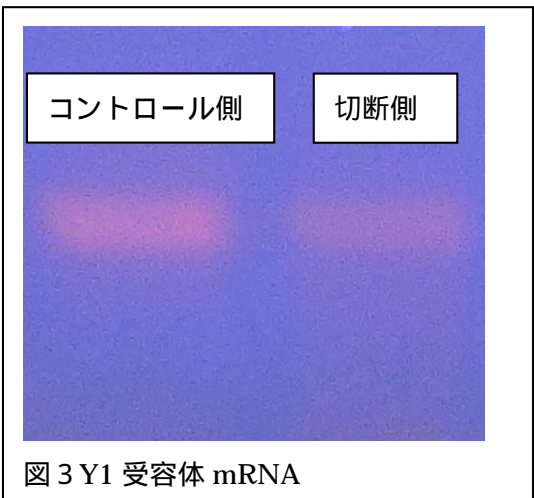
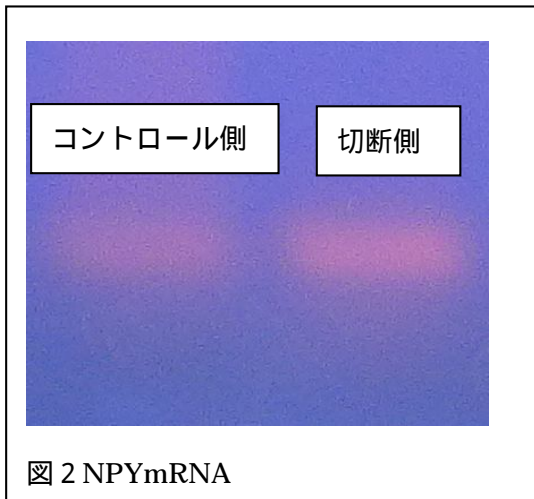
次に、三叉神経節での NPY とその受容体の mRNA 発現変化を RT-PCR により検討した。実験に用いた NPY ならびに NPY 受容体 mRNA に対する特異的なプライマー配列を以下に示す。

NPY (Sense)
5' TGTGGACTGACCCCTCGCTCTAT3'
(Anti-sense),
5' TGTAGTGTCCGAGCGGAGTA3'
Y1 (Sense)
5 -ATAAATTGCATCCAAAGGACTTG-3
(Anti-sense)
5 -TGTGTCATCTGCCATGAAGGA-3
Y2 (Sense)
5 -AACTTGCTGTGGACATCGACAG-3
(Anti-sense)
5 -GTCATGGACACCTCCGAGTGA-3
Y4 (Sense)
5 -TTGCAGTTCTCTGGCTGCCCTG-3
(Anti-sense)
5 -CTTGCTACCCATCCTCATAGAT-3
Y5 (Sense)
5 -AAGCACAGAAGGAGGTACAGCA-3
(Anti-sense)
5 -TGATGGAACGCTTGACTCTCA-3

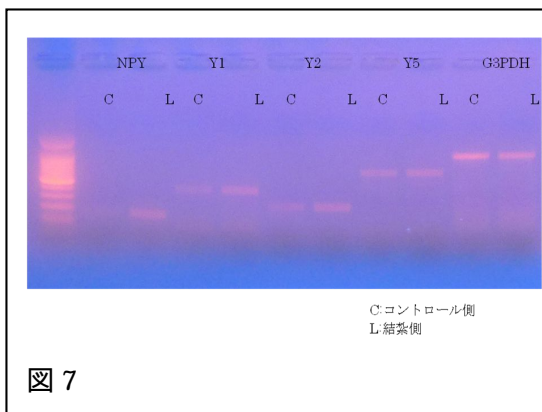
RT-PCR により検討したところ、三叉神経節では、NPY の mRNA の発現が認められた。また、Y1, Y2, Y4, Y5 受容体のうち、Y4 以外の 3 つの受容体の発現が認められた。

そこで、NPY と、Y1, Y2, Y5 受容体について、下歯槽神経損傷モデルにおける mRNA 発現変化を同様に RT-PCR により検討を行った。

図2から図5に結果を示す。
 下歯槽神経損傷モデルのうち、神経切断をした場合、NPYのmRNAは発現が上昇し、Y1,Y2は発現が減少傾向、Y5は発現が上昇傾向であることがわかった。図6に各mRNAのバンド面積を内部標準であるG3PDHのバンド面積の比で表したグラフを示す。



しかし、神経切断モデルでは、手術中、手術後に手術侵襲が原因で死ぬ個体があり、発現の変化も炎症によるものか、神経障害性疼痛によるものか不明であったため、オトガイ神経結紮モデルにより、同様の発現変化を検討した。



代表例を上図7に示す。図6で示したグラフ同様に発現比較したものを図8に示す。

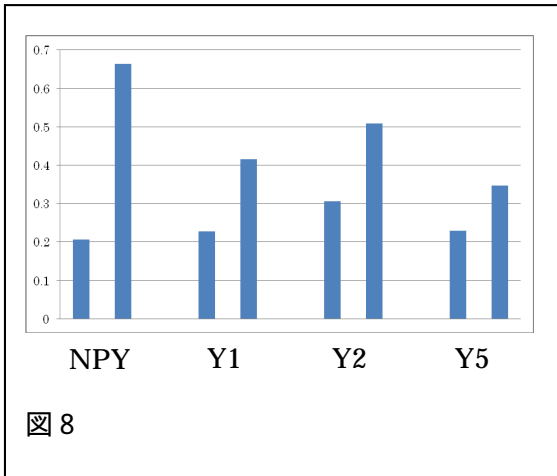


図 8

神経結紮モデルにおいては NPYmRNA 発現が有意に上昇し、Y1,Y2,Y5 いずれの受容体の mRNA も発現上昇する傾向にあることが認められた。

中枢神経系ではストレス、不安に対して NPY 分泌が増加することが報告されている。オトガイ神経結紮によるストレスにより NPY 産生が三叉神経節で増加し、局所での抗ストレス、疼痛軽減に作用している可能性があることが示唆された。また、Y1,Y2 受容体とも、NPY により疼痛緩和に働く受容体として知られている。神経結紮による神経障害性疼痛をこれら Y1,Y2 受容体を介して緩和している可能性があることも示唆された。これらの結果から、下歯槽神経結紮による神経障害性モデルラットでは、NPY ならびに NPY Y1,Y2 受容体の発現が上昇し、疼痛に対しなんらかの働きを持っていることが示唆された。

次に、うつと痛みの関連を検討するためにラットのうつモデルを作成した。文献的には強制水泳などによりうつ様症状を呈するとあったが、今回の検討では再現性が低かったため、薬物的に難治性のうつモデルとして北村らが報告している adeno-corticotropin hormone (ACTH) 投与によるラットを用いて検討を行った。

しかし、ACTH が高価であり、経済的な面からいまだ有意な結果を得る例数にならなかった。ただ、NPY はやはり三叉神経節において神経結紮により発現が上昇する傾向にあると考えられる。

以上より、神経障害性疼痛モデルにおいては、NPY の有意な発現上昇があり、神経障害性疼痛に密接な関連があり、今までの研究と重ねて考えると、おそらく疼痛緩和に働いているものであると考えられる。また、NPY 受容体に関しても発現上昇が認められることから、局所における NPY ならびに NPY 受容体の発現変化によって、神経障害性疼痛の緩和機構が働いている可能性が示唆された。

しかし、うつとの関連については、これまでの検討では有意な結果が認められなかったが、さらなる検討により、有意な結果が認められると考えている。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

弦巻立、吉川博之、山田友里恵、瀬尾憲司、オトガイ神経結紮後のラット三叉神経節における、NPY と NPY 受容体サブタイプ発現の検討、第 43 回日本歯科麻酔学会学術集会、2015 年 10 月 31 日、学術総合センター (東京都千代田区)

弦巻立、吉川博之、瀬尾憲司、下歯槽神経損傷後の三叉神経節における NPY と NPY 受容体サブタイプ発現の検討、第 42 回日本歯科麻酔学会学術集会、2014 年 10 月 11 日、日本歯科大学新潟生命歯学部 (新潟県新潟市)

弦巻立、吉川博之、瀬尾憲司、ラット三叉神経節における NPY と NPY 受容体サブタイプ発現の検討、第 40 回日本歯科麻酔学会学術集会、2012 年 10 月 5 日、アクロス福岡 (福岡県福岡市)

〔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：
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

弦巻立 (TSURUMAKI, Tatsuru)
新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：10345522

(2)研究分担者

吉川 博之 (YOSHIKAWA, Hiroyuki)

新潟大学医歯学総合病院・医員

研究者番号：20547575

瀬尾 憲司 (SEO, Kenji)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：40242440

(3)連携研究者

()

研究者番号：