

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593057

研究課題名(和文) 難治性疼痛の痛覚-情動系の分子機構解析と栄養因子治療応用

研究課題名(英文) Elucidation of molecular mechanisms in pain-emotion system for chronic pain and application of BDNF treatment

研究代表者

石川 敏三 (ISHIKAWA, Toshizo)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90034991

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)：慢性疼痛はしばしば不安や鬱を併発し、極めて難治性である。そこで、痛覚-情動系における分子メカニズムを解明し、また神経栄養因子(BDNF)治療応用について検討した。その結果、前帯状回や脳幹部(網様体)におけるモノアミン変調に随伴したBDNFの機能低下が慢性疼痛や気分障害に関連すること、またカテコール化合物や磁気治療の有用性が判明した。慢性疼痛の治療法に新たな指針を提唱するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)： Depression-like behavior is often complicated by chronic pain. However, little is known about neurotrophic factor(BDNF) mediated preventing effect on mood disorder in chronic pain and its molecular mechanisms. We aimed to investigate the effects of magnetic field stimulation(MFS) and 4-methylcatechol(4-MC) based on brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-mediated signaling and gene expression in chronic pain. Both MFS and 4-MC ameliorated chronic pain and pain-related negative emotion by normalizing the induction of BDNF. These results suggest that MFS and 4-MC may represent the additional strategies against chronic pain associated with depression.

研究分野： 痛みの分子機構

キーワード： 慢性疼痛 気分障害 神経栄養因子 pERK カテコール化合物 magnetic stimulation

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛は、末梢神経損傷および中枢神経系の細胞障害に起因し、痛覚異常のみならず気分障害や不安障害を併発する(“痛覚 情動系の変調”)。この“痛覚 情動系の変調”は、侵害情報が体性感覚領野(S1, S2 領域)のみならず、視床内束系の前帯状回 (ACC), さらには扁桃体(AM), 海馬 (HC), 視床下部(HT)などの情動系に広く伝達され関連ネットワークの機能異常をもたらす。つまり、痛みが“不快な情動”として認知され、これらが相互に影響し合っ“痛みの悪循環”状態に陥ることに関係する。一方、脳イメージ診断法の著しい進歩により、この“痛覚 情動系の変調”に関する分子レベルから個体レベルまでの解析が画期的に進んだ。すなわち、慢性疼痛患者の脳イメージにおいて情動系ネットワーク細胞群において細胞機能の活性化を示す報告が多くみられる。しかし、“痛覚 情動系変調”の病態における分子メカニズムを下行性抑制系の脳幹網様体細胞群あるいは感情調節を担当する ACC 細胞群のモノアミン系薬物の作用様式について調べたものはほとんどない。

最近、うつ病など気分障害において、モノアミン作動性神経の変調に伴い、BDNF が低下することが示唆され、痛覚 情動系機能にも密接に関与する可能性がある。しかし、慢性疼痛におけるモノアミン作動性神経と BDNF との相互作用は明らかでない。BDNF を含有する培養液の脊髄移植でアロディニアと痛覚過敏が軽減されること、などが報告されている。したがって、BDNF は痛覚や情動系機能の発現・調節および細胞の生存や傷害後の修復において主たる活性分子と考えられ慢性疼痛において BDNF がその発症や維持に関与する可能性がある。

こうした中、本研究では慢性疼痛の病態

メカニズムについて感情調節および下行性抑制系神経を関連させ、細胞シグナルと神経栄養因子の変調の面より解析したものである。

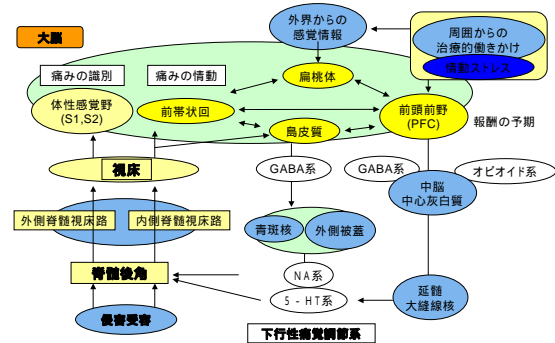


Fig. Recent concept for” Pain-related negative emotion” as a pivotal mechanism of chronic pain. (石川 2010)

さらに、慢性疼痛の治療によく用いられモノアミン作用を有する三環系抗うつ薬 imipramine (IMI)および鎮痛薬 Neurotrophin (NTP)について、その作用を調べたところ神経栄養因子を誘導する作用が見出され、臨床における有用な知見と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、慢性疼痛を情動系神経(帯状回: ACC、扁桃体など)の変調と捉え分子機構を解析した。特に、高次神経疾患に共通とされる神経栄養因子(BDNF)とその関連シグナルの挙動と治療応用について検討した。

3. 研究の方法

雄 Sprague-Dawley (SD) ラットを用い、坐骨神経の慢性絞扼(CCI)による疼痛モデルを作製した。CCI 後 7 日目で、痛覚過敏が持続的となることを確認した後、IMI あるいは NTP を投与した。痛覚過敏の評価は、プランターテストにより左後肢底部への熱刺激に対する反応潜時(PWL: sec)で、また

うつ様行動の評価には強制水泳試験による不動時間(sec)を、それぞれ測定した IMI あるいは NTP の抗うつ作用メカニズムを調べるため、BDNF 受容体 (TrkB) 阻害剤 K252a あるいは 5-HT 神経毒 5,7-DHT 投与による修飾作用を調べた。

また細胞シグナルや遺伝子の解析では、ACC および吻側延髄腹側部 (RVM) について pERK1/2, pCREB 活性 (免疫染色) および BDNF mRNA 発現 (RT-PCR) を、それぞれ測定した。また、これらの病態に対し pregabalin (PG) を加え、神経栄養因子誘導剤 (4-MC) と磁気治療の修飾作用についても合わせ比較検討した。

4. 研究成果

CCI 後 14 日以降、PWL の持続的低下および不動時間の延長が認められた。抗うつ治療の用量の IMI では鎮痛効果は認められず、不動時間の延長を軽減した (ただし、高用量 10mg/kg では鎮痛効果があった)。この抗うつ効果は、抗 BDNF 中和抗体、K252a および 5,7-DHT 投与により消失した。IMI は pERK1/2 の異常な活性化に関連する pCREB および BDNF mRNA の低下を是正し、これらの効果は 5,7-DHT により消失した。一方、NTP は CCI 後の PWL 低下および不動時間の延長を軽減したが (鎮痛・抗うつ効果)、PG では不動時間に影響しなかった。また NTP の鎮痛および抗うつ効果は、K252a および 5,7-DHT で消失したが、PG の抗うつ効果は明らかでなかった。NTP は、慢性疼痛による ACC および RVM における pERK1/2 の活性化、pCREB および BDNF mRNA 低下を正常化し、これらの変化は 5,7-DHT により消失した。

以上から、慢性疼痛における“痛覚 情動系の変調”の病態において、細胞シグナルの変調や BDNF 産生低下が関与することが明

らかとなった。IMI および NTP は疼痛関連負の情動を改善し、その作用には脳幹部および ACC における 5-HT 作動性神経系を活性化するとともに、同宿する BDNF 産生の促進を介し、細胞シグナルの変調を正常化することが示唆された。しかし、PG は鎮痛効果のみで疼痛関連負の情動および BDNF 経路のどちらにも影響しなかった。

本研究から、慢性疼痛における“痛覚 情動系の変調”の病態において、広く使用されている IMI や NTP などモノアミン神経系を賦活する薬物が、気分障害を緩和すると共に、BDNF を誘導することが明らかとなった。この作用は、神経系の再生やネットワーク再構築が期待され、合理的薬物治療法として極めて有用な成果と考えられる。以下の図に、本研究結果から想定される慢性疼痛における痛覚 情動変調概念における薬物の作用様式を示した。

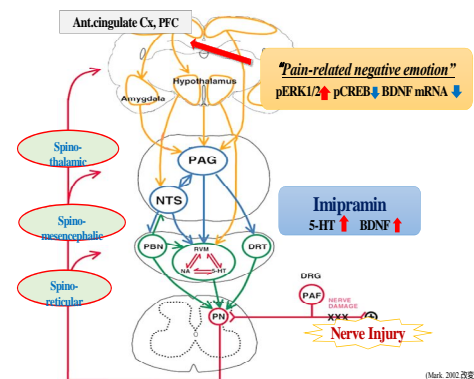


Fig. Schematic drawing for preventing “pain-emotion” state during chronic pain. See text for detailed explanation.

結論:本研究ではラット慢性疼痛モデルを用い、併発する気分障害の機構解析および神経栄養因子治療の可能性を検討し、その有用性について検証した。その結果、慢性疼痛にうつ症状が併発すること、そのメカニズムに不快情動に關与する前帯状回のシグナルおよび神経栄養因子合成過程の変調が関与することが分かった。これらの結果から、BDNF 誘導が期待されるモノアミ

ン神経作用薬はBDNFを誘導することが明らかとなった。さらに、下行性痛覚抑制系にも効果があることが判明した。以上のことから、慢性疼痛に伴ううつ症状にはBDNF不足が関与すると考えられる。

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 8 件)

- 1) T. Ishikawa, S. Yasuda, S. Minoda, T. Ibuki, K. Fukuhara, Y. Iwanaga, T. Ariyoshi, H. Sasaki.: Neurotrophin ameliorates chronic pain via induction of brain-derived neurotrophic factor. **Cell Mol Neurobiol**, 35(2):231-241. 3.2015.査読有り doi: 10.1007/s10571-014-0118-x
- 2) K Ishikawa, S Yasuda, K Fukuhara, Y Iwanaga, Y Ida, J Ishikawa, H Yamagata, M Ono, T Kakeda, T Ishikawa: 4-Methylcatechol prevents Derangements of brain-derived neurotrophic factor and TrkB-related signaling in anterior cingulate cortex in chronic pain with depression-like behavior. **Neuroreport**, 25(4), p226-232, 3.2014. 査読有り doi:10.1097/WNR.0000000000000072
- 3) S Yasuda, M Yoshida, H Yamagata, Y Iwanaga, H Suenaga, K Ishikawa, M Nakano, S Okuyama, Y Furukawa, S Furukawa, T Ishikawa: Imipramine ameliorates pain-related negative emotion via induction of brain-derived neurotrophic factor. **Cell Mol Neurobiol**, 34(8), p119-208, 11.2014. 査読有り. doi:10.1007/s10571-014-0097-y
- 4) Y Miyazaki, T Sawada, M Kiyohira, Z Yu, K Nakamura, Y Yasumoto, Y Kagawa, M Ebrahimi, A Islam, K Sharifi, S Kawamura, T Kodama, Y Yamamoto, Y Adachi, N Tokuda, S Terai, I Sakaida, T Ishikawa, Y Owada: Fatty acid binding protein 7 regulates phagocytosis and cytokine production in Kupffer cells during liver injury, **American Journal of Pathology**, 184(9), p2505-2515, 9. 2014. 査読有り doi: 10.1016/j.ajpath.2014.05.015
- 5) S Yamamoto, Y Kishishita, M Yoshida, D Miura, H Suzuki, K Ishikawa, H Miyazaki, J Nojima, M Yamamoto, T Ishikawa: Activation of different signals identified with glia cells contribute to the progression of hyperalgesia, **Cell Mol Neurobiol**, 33(2), p167-174, 3.2013. 査読有り doi: 10.1007/s10571-012-9881-8
- 6) T Murakami, T Kanchiku, H Suzuki, Y Imajyo, Y Yoshida, H Nomura, Dan cui, T Ishikawa, E Ikeda, T Taguchi: Anti-interleukin-6 receptor antibody reduces neuropathic pain following spinal cord injury in mice, **Experimental and Therapeutic Medicine**, 6(5), p1194-1198, 11. 2013 doi: 10.3892/etm.2013.1296. 査読有り
- 7) S Shiiba, S Yamamoto, H Sasaki, M Nishi, K Ishikawa, S Yasuda, N Tokuda, O Nakanishi, T Ishikawa: Cutaneous magnetic stimulation reduces rat chronic pain via activation of the supra-spinal descending Pathway, **Cell Mol Neurobiol**, 32(2), p245-253, 3.2012. 査読有り doi: 10.1007/s10571-011-9756-4
- 8) K Fukuhara, K Ishikawa, S Yasuda, Y Kishishita, Hae-Kyu Kim, T Kakeda, M Yamamoto, T Norii, T Ishikawa: Intracerebroventricular 4-Methylcatechol (4-MC) Ameliorates chronic pain associated with depression-like behavior via induction of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), **Cell Mol Neurobiol**, 32(6), p971-977, 8. 2012. 査読有り doi: 10.1007/s10571-011-9782-2

[学会発表](計 14 件)

- 1) T Ishikawa, S Yasuda, H Fujimura, K Fukuhara, K Ishikawa, Y Ida, Y Iwanaga, T Ibuki: Neurotrophin R) ameliorates depression-like behavior in chronic pain via induction of brain-derived neurotrophic factor, **NEUROSCIENCE 2014**, Washington, DC, USA, Nov. 16. 2014
- 2) S Yasuda, H Yamagata, K Fukuhara, Y Iwanaga, M Nakano, K Ishikawa, Y Furukawa, Y Watanabe, T Ishikawa: Low dose of imipramine ameliorates pain-related negative emotion via induction of brain-derived neurotrophic factor, **NEUROSCIENCE 2014**, Washington, DC, USA, Nov. 16. 2014
- 3) Y Iwanaga, K Fukuhara, S Yasuda, Y Ariyoshi, T Ibuki, S Okuyama, Y Furukawa, J Ishikawa, T Ishikawa: 4-Methylcatechol, an inducer of brain derived neurotrophic factor, ameliorates pain-related negative emotion by preventing the ERK/CREB signaling pathway anterior cingulate cortex, **NEUROSCIENCE 2014**, Washington, DC, USA, Nov. 16. 2014
- 4) T Ishikawa, S Yasuda, K Ishikawa, T Kakeda, M Yanagihara: Activation of descending inhibitory system may prevent chronic pain related depression: possible interaction between 5-HT and brain-derived neurotrophic factor, **8th Congress of the European Federation of IASPR Chapters (EFICR) – PAIN IN EUROPE VIII**, Florence, Italy, Firenze Fiera S.p.A., Congress & Exhibition Center, 10. 11. 2013
- 5) O Nakanishi, K Ishikawa, K Fukuhara, S Yasuda, M Yoshida, T Ishikawa: 4-Methylcatechol (4-MC), BDNF inducer, ameliorates chronic pain with depression via prevention of TrkB related signaling, **8th Congress of the European Federation of IASPR Chapters (EFICR) – PAIN IN EUROPE VIII**, Florence, Italy, Firenze Fiera S.p.A., Congress & Exhibition Center, 10.10. 2013
- 6) T Ishikawa, Y Iwanaga, K Ishikawa, S Yasuda, Y Ida, K Fukuhara, M Ono, M Yamamoto: Neuroprotective effects of 4-methylcatechol against depression related to chronic pain: similar action to trkb agonist, 7, 8, 3'-thf, **NEUROSCIENCE 2013**, San Diego, USA, 324.10/F31, 11. 11. 2013
- 7) S Yasuda, T Kakeda, Y Ida, H Yamagata, Y Iwanaga, S Sonoda, H Suzuki, T Ibuki, T Ishikawa: Reconfirmation of interaction between monoaminergic neuron and BDNF in RVM with imipramine for reducing depression related to chronic pain, **NEUROSCIENCE 2013**, San Diego, USA, 461.02/YY1, 11. 11. 2013
- 8) M Yoshida, O Nakanishi, K Ishikawa, D Miura, H Sasaki, S Yasuda, Y Ida, Y Iwanaga, S Watanabe, T Ishikawa: Spinal microglia mediate the modulation in the GABAA receptor antagonist induced allodynia, **NEUROSCIENCE 2013**, San Diego, USA, 166.10/OO8, . 11. 10. 2013
- 9) T Ishikawa: Therapeutical challenge by neuro-modulation: newly developed low-power magnetic stimulator in chronic pain with mood disorder, **2012 Spring Symposium for Clinical Trials**, Busan Haundae Grand Hotel, KOREA, 5. 25. 2012
- 10) T Ishikawa, K Ishikawa, S Yasuda, Y Kishishita, A Masuzawa: 4-Methylcatechol ameliorates chronic pain concurrent with mood disorder by inducing brain-derived neurotrophic factor, **American Pain Society 31st Annual Meeting**, Honolulu, USA,

5.16.2012

- 11) Y Kishishita, S Yasuda, S Yamamoto, D Miura, H Miyazaki, H Sasaki, T Ariyashi, K. Ishikawa, Y Ida, T Ishikawa: Different activation of trkB-pERK contribute to the progression of hyperalgesia, **NEUROSCIENCE 2012**, New Orleans, USA, 179.26, HH14, 10.14.2012
- 12) M Yoshida, S Yasuda, S Minoda, K. Ishikawa, S Yamamoto, Y Kishishita, S Watanabe, O Nakanishi, T Ishikawa: 4-Methylcathechol, neurotrophin inducer, prevents abnormal pain-emotion response including hypersensitization and mood disorder in rat with chronic pain, **NEUROSCIENCE 2012**, New Orleans, USA, 267. 06, CC11, 10.14.2012
- 13) Y Iwanaga, K Ishikawa, K Fukuhara, Y Kishishita, M Yamamoto, D Miura, K Okano, Y Watanabe, T Ishikawa: 4- Methylcathechol (4-MC) modulates chronic pain with depression via. Prevention of abnormal pERK and BDNF in rats, **NEUROSCIENCE 2012**, New Orleans, USA, 606.04, EEE68, 10.16.2012
- 14) K Ishikawa, S Yasuda, Y Iwanaga, Y Ida, R Okazaki, M Kawamura, T Kakeda, T Ibuki, T Ishikawa: Neurotrophin^R ameliorates chronic pain concurrent with depression-like behavior by preventing the derangements of pain-emotion and descending systems, **NEUROSCIENCE 2012**, New Orleans, USA, 785.20, PP10, 10.17.2012

〔図書〕(計 1 件)

- 1) 石川敏三, オピオイドを取り巻く新しい話題 A. オピオイドとは何か. 2. 下行性抑制系とオピオイド. **ペインクリニック** (特集: 別冊秋号) 33. , 2012

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 敏三 (ISHIKAWA, Toshizo)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 90034991

(2) 研究分担者

仲西 修 (NAKANISHI, Osamu)
九州歯科大学・歯学部・名誉教授
研究者番号: 50137345

掛田 崇寛 (KAKEDA, Takahiro)
川崎医療福祉大学・医療福祉学部・准教授
研究者番号: 60403664

山本 美佐 (YAMAMOTO, Misa)
山口大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号: 70379957

古川 昭栄 (FURUKAWA, Shoei)
岐阜薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 90159129

伊吹 京秀 (IBUKI, Takae)
京都府立医科大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 90232587

徳田 信子 (TOKUDA, Nobuko)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 70227578

石川 浩三 (ISHIKAWA, Kouzou)
北海道大学・遺伝子病制御研究所・その他
研究者番号: 20624795

鈴木 秀典 (Suzuki, Hidenori)
山口大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 30393432