

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 9 月 16 日現在

機関番号：22101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19215

研究課題名(和文) 三叉神経痛の慢性化にともなう大脳皮質疼痛応答の変容

研究課題名(英文) Changes in cerebral nociceptive responses with chronic trigeminal neuralgia

研究代表者

角 友起 (Kaku, Yuki)

茨城県立医療大学・保健医療学部・准教授

研究者番号：50551363

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：三叉神経領域の慢性疼痛の成立の機序に大脳皮質体性感覚野がどのように関連するか調べた研究は少ない。本研究では慢性疼痛における大脳体性感覚野の刺激応答を経時的に記録し、疼痛慢性化と大脳応答変化との関連性を記述することを目的とした。大脳応答を同一個体で経時的に記録するため、非侵襲で皮質感覚応答を記録できるフラビンタンパク蛍光イメージングを用いたが、麻酔の種類や深度によって記録の再現性に乏しく、三叉神経領域という狭小領域の感覚応答を十分に解析することは困難であった。そこで膝関節慢性炎症モデルを用いて皮質応答の変化を調べた結果、フラビンイメージングにより慢性炎症に伴う皮質応答の増強を見出すことが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性疼痛の神経メカニズムを解明することは慢性疼痛性疾患の治療薬の新規開発、新しい治療法の開発のために重要である。今回の結果により、身体に慢性炎症を起こすと、大脳皮質の過剰な反応が出現することが示唆された。この大脳の過剰反応と慢性的な痛みとの因果関係はまだ明らかになっていないが、新規治療薬の効果を調べる実験研究において、治療薬投与によって大脳皮質の反応がどのように変化するかを調べることで、鎮痛効果を客観的に評価することが出来る可能性が考えられ、医療的・社会的意義があると思われる。

研究成果の概要(英文)：Few studies have investigated how the cortical somatosensory cortex is involved in the mechanism of chronic pain in the trigeminal nerve area. The purpose of this study was to examine the response of the somatosensory cortex in chronic pain model over time and to describe the relationship between chronic pain and changes in the cerebral response. To record the cerebral response in the same individual over time, we used the flavoprotein fluorescence imaging. However, the reproducibility of the recording was insufficient depending on the type and depth of anesthesia, and it was difficult to fully analyze the sensory response in the narrow area of the trigeminal nerve area. Therefore, in order to obtain basic knowledge using a chronic inflammation model that is easy to analyze, we investigated the cortical responses in a knee joint chronic inflammation model. As a result, flavin imaging recording revealed the enhancement of the cortical response associated with chronic inflammation.

研究分野：生理学

キーワード：慢性疼痛

1. 研究開始当初の背景

三叉神経痛は発作発生の頻度や痛みの程度が徐々に悪化していくことが知られており、慢性進行例では顔面に軽く触れただけで痛みが誘発されるようになる。この原因として、痛みを伝達する三叉神経系回路網の可塑性が考えられているが、その全貌は明らかになっていない。

三叉神経支配領域からの痛覚情報は橋～延髄の三叉神経脊髄路核尾側亜核に到達する。その後二次ニューロンは反対側の脊髄視床路を上行し、視床後内側腹側核に投射する。視床後内側腹側核のニューロンは大脳皮質体性感覚野へ投射している。体性感覚野はかつては疼痛認知には関与しないとされてきたが、近年 fMRI などの脳機能イメージング法の発達によって、体性感覚野活動が疼痛情報処理に関与していることが示され、慢性疼痛における痛みの認知にも重要な役割を果たしていることが示唆されている。しかし疼痛慢性化と体性感覚野活動との関連について調べた研究は少ない。また、慢性疼痛モデルの神経活動解析では、病態進行に伴い脳の疼痛応答がどのように変化していくか、同一個体内で時系列的観察することが重要であると考えられるが、そのような観点で行われた研究は少ない。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、本研究では *in vivo* 三叉神経慢性疼痛モデルにおける体性感覚野疼痛応答を経日的に解析することで、大脳皮質の痛覚情報処理回路に引き起こされる可塑的变化を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究ではフラビン蛋白蛍光イメージング法を導入することで、その目的を達成したいと考えた。フラビン蛋白蛍光イメージングはミトコンドリアの酸化型フラビン蛋白が緑色蛍光を発する性質を利用した神経活動イメージングであり、フラビン蛋白蛍光という内因性シグナルを検出するため、毒性が全く無いイメージング法である。マウスにおいては頭蓋骨越しでも神経イメージングが可能であることなど、同手法は同一個体の神経活動を複数日にわたって解析する慢性モデル実験に適しているといえる。

実験 三叉神経領域に対する痛覚刺激と体性感覚野応答

実験動物としてマウスを用いた。マウスにウレタン麻酔を施し、頭部固定装置に固定した状態で頭蓋の皮膚を切開し、体性感覚野を中心とした大脳皮質直上の頭蓋骨を露出した。頭蓋骨表面にパラフィンオイルを塗布した後ラップ片をかぶせて頭蓋骨の乾燥を防ぎ、蛍光顕微鏡下で身体各部の瞬間的な触覚刺激に対する体性感覚野のフラビントリニウム蛍光イメージングを実施した。

実験 大脳皮質体性感覚野における複数日に渡るフラビン蛋白蛍光イメージング実験

マウスに回復が可能な麻酔である塩酸メドミジン・ミダゾラム・酒石酸ブトルファノールの3種混合麻酔を施し、頭部固定装置に固定した状態で頭蓋の皮膚を切開し、体性感覚野を中心とした大脳皮質直上の頭蓋骨を露出、頭蓋骨表面に透明のレジンを塗布し、継続的・経日的にフラビントリニウムイメージングが可能かどうか検証した。マウスモデルを飼育ケージに戻し、翌日に3種混合麻酔施行下にて身体各部の瞬間的な触覚刺激に対する体性感覚野のフラビン蛋白蛍光イメージングを実施した。

実験 本研究の目的は三叉神経領域における慢性疼痛の大脳皮質応答変容を調べることであるが、マウスにおける同領域は非常に狭小であるため、一般的な慢性疼痛モデルにおける皮質応答を調べるため、マウス膝関節炎モデルを作成し、フラビントリニウム蛍光イメージング実験を実施した。マウスに回復が

可能な麻酔である塩酸メドミジン・ミダゾラム・酒石酸ブトルファノールの3種混合麻酔を施し、後肢膝蓋骨直下の皮下(膝関節腔内)に起炎物質であるカラゲニンを注入し、飼育ケージに戻して12日間飼育した。その後ウレタン麻酔下で頭部固定装置に固定、状態で頭蓋の皮膚を切開し、体性感覚野を中心とした大脳皮質直上の頭蓋骨を露出した。その状態で、両側膝関節の皮膚を綿棒の軸でつつく機械的刺激(通常状態であれば非痛覚の強度)を与え、刺激に対する大脳皮質感覚野応答をフラビントリニウムイメージングにより記録した。

4. 研究成果

実験

イメージングの結果、触覚刺激に応じて体性感覚野に局所的なフラビントリニウム蛍光信号の増強が見られた。前肢、後肢、眼周囲、耳、ヒゲ部の皮膚に刺激を与えてイメージングを行うと、蛍光信号の増強部位が刺激部位によって異なり、体性感覚野に皮膚触覚の部位再現があることがフラビントリニウムイメージングでも確認できた。これは先行研究において電気生理学的に観察されたもの類似しており、フラビントリニウム蛍光イメージングが空間解像能力を有して

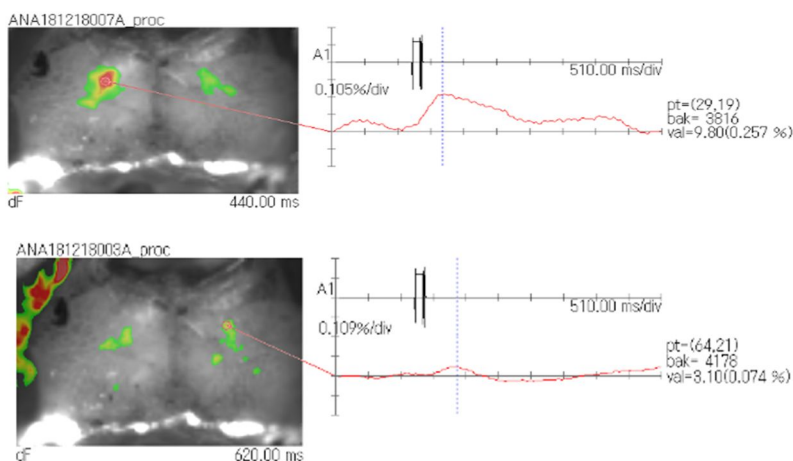
いることが確認できた。

実験

触覚刺激に応じて体性感覚野に局所的なフラビン蛋白蛍光信号の増強が見られたものの、ウレタン麻醉下で見られたような体性感覚野の身体部位再現を記録することが出来なかった。ウレタン麻醉に比べて3種混合麻醉の深度がより深い可能性が考えられた。そこで3種混合麻醉は手術時でのみ使用し、手術時に頭蓋骨に金属フレームを固定し、イメージング実験ではウレタン麻醉下で金属フレームをクランプ固定する方法を実施した。その結果、翌日もフラビン蛋白イメージングの記録が可能となった。しかし身体部位再現については個体によって記録可能なものとそうでないものがあり、また刺激側の責任半球とは逆の大脳皮質にもフラビタンパク信号が検出されるなど、本実験の計測システムの刺激-応答の特異性についてさらに検証が必要であると考えられた。

実験

カラゲニン注入12日後の注入側の膝関節は反対側に比べて有意に腫脹をし、関節炎症を惹起したことが確かめられた。このモデルの膝関節皮膚をウレタン麻醉下で刺激した時のフラビタンパクイメージング応答は、生理食塩水を注入した対側刺激による応答と比較して、信号の立ち上がりの早期化および信号強度の増大が観察され、膝関節炎症により大脳皮質の感覚応答の鋭敏化が見いだされた。この実験により、慢性炎症成立後の大脳皮質の感覚応答の差異はフラビタンパクイメージングによって捉えることが可能であることが分かった。しかしこの実験では炎症成立前(刺激物質注入前)のイメージング実験を行っておらず、本研究の目的である大脳皮質感覚応答の時系列的变化を明らかにするには至らなかった。また、実験でも観察された、刺激側の責任半球とは逆の大脳皮質にもフラビタンパク信号が検出される計測特性は本実験でも見られた。これがそもそものマウスの神経系の特性なのか、計測システムの特性なのかは明らかではないが、今後、電気生理学実験により詳細を検証する必要があると考えられた。



上段 カラゲニン注入側刺激のイメージング

下段 非注入側刺激のイメージング

以上の結果より、慢性疼痛性の脳皮質応答の差異をフラビタンパクイメージングにより描き出すことが可能であることが明らかになった。本研究の最終目的であった三叉神経痛の成立過程における脳皮質感覚応答については研究期間内に迫ることが出来なかったが、今回の一連の研究の経験・知見をもとに、さらに研究を継続し、疼痛慢性化と体性感覚野活動との関連について明らかにしていきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Shun-ichi Kuwana, Akiko Matsumoto, Takeo Sugita, Nobuo Umezawa, Yuki Kaku, Shigeki Sakuraba, Hitoshi Maeda, and Hirofumi Arisaka | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Visualized Projection From the Spinal Trigeminal Nucleus to the Parabrachial Nucleus in Isolated Brainstems of Neonatal Rats: A Voltage-Sensitive Dye Imaging Study | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 B.Edu.Health Sci.UG Univ. | 6. 最初と最後の頁 145-151 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号） | 所属研究機関・部局・職 （機関番号） | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|