

令和元年6月13日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21187

研究課題名(和文)化学シナプスによる情報伝達をターゲットとした神経障害性疼痛発症機構の解明

研究課題名(英文) Involvement of signal transduction by chemical synapse in neuropathic pain mechanisms.

研究代表者

丸濱 功太郎 (Maruhama, Kotaro)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：60712792

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：ラット眼窩下神経・総腓骨神経を結紮した神経障害性疼痛を生じさせたラットモデルを作製し、摘出した三叉神経節・後根神経節培養細胞にBoNTを直接投与することで、三叉神経系と脊髄神経系におけるBoNTの機能発現部位を調べた。その結果、三叉神経節細胞において神経終末に存在する膜タンパク質であるSNAP-25を切断する可能性が示唆された。以上の結果から、BoNTが三叉神経節において機能を発現して神経障害性疼痛の抑制に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疼痛という感覚入力における情報伝達機構の解明やその治療法の開発は喫緊の課題である。本申請研究は、化学シナプスによる情報伝達を抑制するBoNTの効果を用いて、神経障害性疼痛の発症機構ならびに感覚入力における1次求心性ニューロンでの情報伝達機構の解明が目的とした。BoNTの機能発現部位が三叉神経系に存在する可能性が示唆されたことから、頭頸部の痛みにおけるBoNTの疼痛抑制発現メカニズムの解明、またその応用につながることから社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Involvement of BoNT localization in the peripheral nervous system in abnormal orofacial pain sensations after peripheral nerve injury was investigated. It was revealed that BoNT might cleave the SNAP-25 that is a membrane protein of the nerve ending after the trigeminal nerve injury, suggesting that BoNT may function in the trigeminal ganglia and be involved in the suppression of neuropathic pain.

研究分野：神経解剖

キーワード：ボツリヌス毒素 神経伝達物質 三叉神経 神経障害性疼痛

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛は、既存の鎮痛薬が十分に奏功しない難治性疼痛として臨床上大きな問題となっている。しかしながら、従来から治療に用いられる抗てんかん薬や抗うつ薬は、めまいなどの中枢性副作用が強く、継続服用不可能である患者も少なくない。

中枢性副作用が少なく疼痛を軽減する治療法の一つの戦略として末梢知覚神経節が注目されている。慢性疼痛モデルにおいて、末梢知覚神経節では神経興奮と神経伝達物質の遊離が増加しており、シナプスが存在しないにも関わらず近傍の知覚ニューロン同士で伝達物質を介した疼痛情報の伝達が報告されている (Devor et al. J Neurophysiol 1990)。

ボツリヌス毒素 (BoNT) は神経伝達物質の放出を抑制する神経毒素であり、多汗症やしわ取りの治療薬として臨床応用されている。申請者は、A 型ボツリヌス毒素 (BoNT/A) の神経障害性疼痛モデルにおける疼痛抑制効果を明らかにした [Toxins 2015;7(8):2906-17]。しかし、その作用機序は未だ解明されていない。

2. 研究の目的

昨今の高齢社会で慢性疼痛や癌性疼痛を有する患者の増加、またそれによって生じる労働損失の増加や社会的生産性の減少が予想される社会的背景において、疼痛という感覚入力における情報伝達機構の解明やその治療法の開発は喫緊の課題である。本申請研究では、化学シナプスによる情報伝達を抑制する BoNT の効果を用いて、神経障害性疼痛の発症機構ならびに感覚入力における 1 次求心性ニューロンでの情報伝達機構を解明する。

3. 研究の方法

BoNT について三叉神経系・脊髄神経系・中枢における BoNT による SNAP-25 の切断と神経障害性疼痛モデルにおける BoNT の侵害受容二次ニューロンへの効果を解析し、BoNT の機能発現部位の特定、また各投与部位において化学シナプスによる情報伝達の抑制効果を比較検討することで、神経障害性疼痛の発症に関わる 1 次ニューロンにおける興奮伝達部位を調べる。(図 1.)

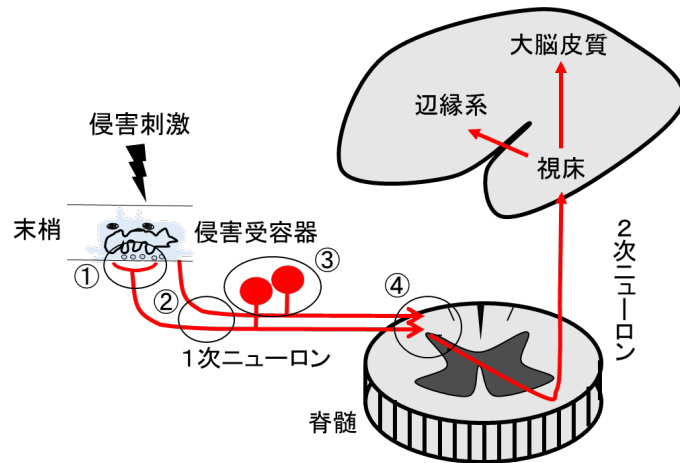


図 1. 1 次ニューロンにおける疼痛情報伝達経路

そして明らかとなった情報伝達部位へ BoNT を投与し、感覚入力における行動実験と脊髄の変化を観察することで、感覚情報の伝達機構を明らかにする。

4. 研究成果

三叉神経節・脊髄神経系・中枢における BoNT の膜タンパク質 SNAP-25 の切断を確認するため、in vitro において 6 週齢ラットから抽出した三叉神経節と後根神経節培養細胞に BoNT を直接投与して western 解析したところ、三叉神経節細胞において神経終末に存在する膜タンパク質である SNAP-25 を切断する可能性が示唆された (図 2)。

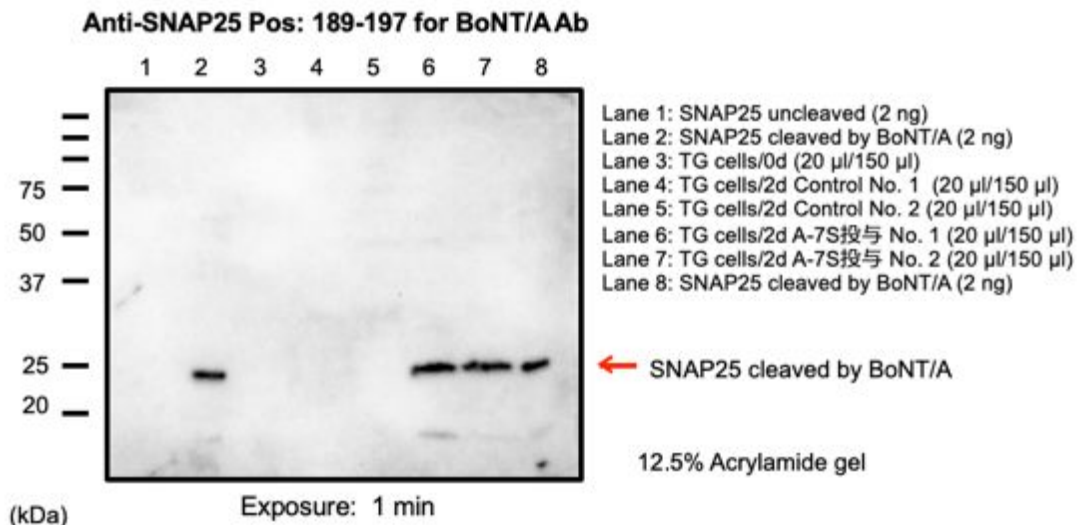
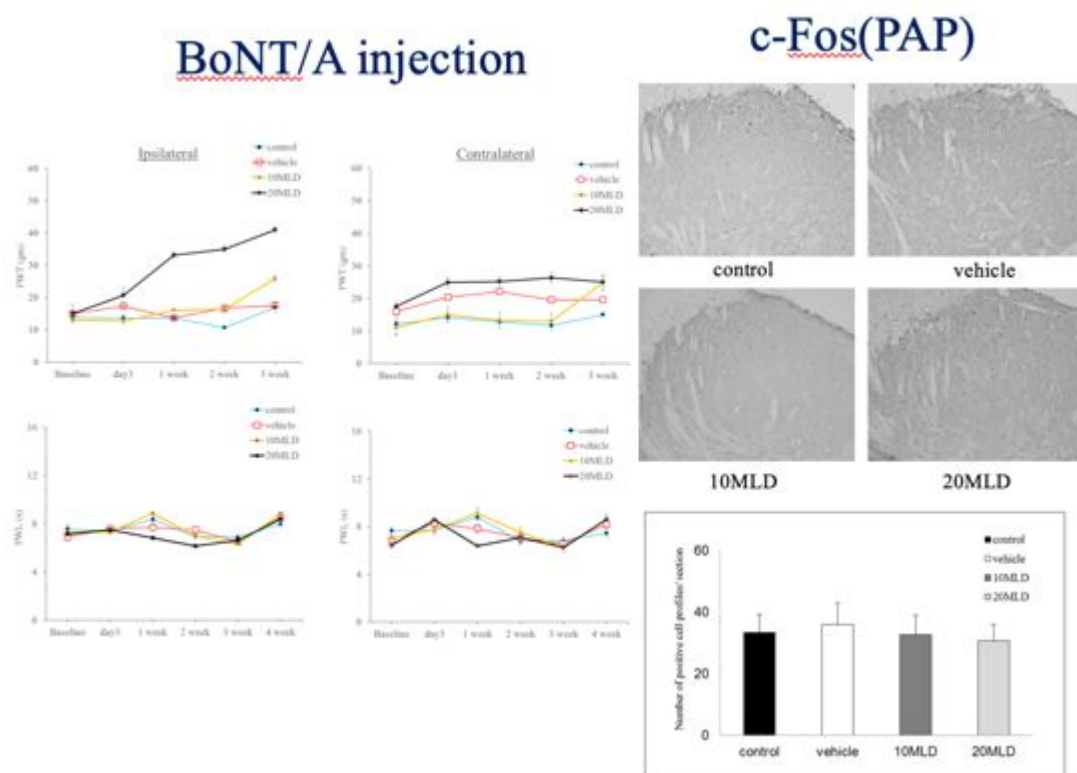


図 2 . SNAP-25 cleaved by BoNT

神経障害性疼痛モデルにおける BoNT の侵害受容 2 次ニューロンへの効果を確認するため 6 週齢ラットの総腓骨神経を結紮し、von Frey filament を用いた機械的刺激、およびプランターテストを用いた熱刺激を加え、逃避行動を示す閾値と潜時の測定を行った結果、後根神経節



へ BoNT を投与することにより神経障害性疼痛モデルラットにおいて発現する疼痛関連行動を軽減することが示された。しかし、同神経の支配領域の 2 次ニューロンにおける侵害情報伝達の指標として用いてきた c-Fos タンパク誘発について比較検討した結果、関連は認められなかった。(図 3)

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Tabata M, Terayama R, Maruhama K, Iida S, Sugimoto T. Differential induction of c-Fos and phosphorylated ERK by a noxious stimulus after peripheral nerve injury. International Journal of Neuroscience, 査読有, 128:208-218, 2018. DOI: 10.1080/00207454.2017.1381697

Terayama R, Yamamoto Y, Kishimoto N, Tabata M, Maruhama K, Iida S, Sugimoto T. Differential Changes in Neuronal Excitability in the Spinal Dorsal Horn After Spinal Nerve Ligation in Rats. Neurochemical research, 査読有, 41:2880-2889, 2016. DOI: 10.1007/s11064-016-2003-0

〔学会発表〕(計 2 件)

田畑光康、寺山隆司、丸濱功太郎、飯田征二、杉本朋貞. 末梢神経損傷後の侵害刺激に対する脊髄後角での c-Fos および p-ERK の誘発変化について. 日本解剖学会第 72 回中国・四国支部学術集会, 2017.10.28, 広島大学霞キャンパス(広島県)

寺山隆司、山本祐也、岸本宜子、田畑光康、丸濱功太郎、飯田征二、杉本朋貞. 末梢神経損傷後の脊髄後角ニューロンの興奮性における時間空間的变化. 第 58 回歯科基礎医学会学術大会・総会, 2016.8.25, 札幌コンベンションセンター(北海道)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。