

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：23903

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2018～2019

課題番号：17KK0172

研究課題名（和文）疼痛認知における大脳領域間の機能連関の解明と慢性疼痛治療への応用

研究課題名（英文）Investigation of functional relationship in cortico-cortical connection in pain perception and its application for treatment of chronic pain

研究代表者

大澤 匡弘（Ohsawa, Masahiro）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（薬学）・准教授

研究者番号：80369173

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,100,000円

渡航期間： 9ヶ月

研究成果の概要（和文）：神経障害性疼痛ラットを用いて、多数の脳領域における脳活動を測定し、各脳領域間の活動連関を解析し、疼痛閾値の変化との相関性について検討を行った。神経障害性疼痛ラットでは、機械痛覚閾値の低下が認められた。次に、神経障害性疼痛ラットの脳活動の変化を検討するため、大規模多点電気生理学的測定を、無麻酔・無拘束（自由行動）下のラットで行った。神経障害性疼痛モデルラットでは、情動を司る複数の脳領域の活動同期性に変化が見られ、特に負の情動が強くなった動物と同様の脳活動の変化を示す脳領域が複数あることが明らかになり、疼痛が慢性化する原因の一つとして負の情動を生み出す脳活動の持続的な活性化が挙げられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性疼痛には複合した原因が存在するため適切な治療法の提案が難しく、治療が必要な疼痛を判別する客観的マーカーはない。痛みは主観的症状であるため、客観的評価法の確立は慢性疼痛患者が増加している現代の解決すべき喫緊の課題である。本研究成果では、疼痛が慢性化する際に特徴的な脳活動が認められることを明らかにできた。また、慢性疼痛時には、周波数依存的な脳活動同期性に特徴的な変化も生じていること、ならびに特にネガティブな感情を生み出す脳活動が、慢性疼痛時には持続して認められることが明らかになった。これらの結果より、治療を行うべき疼痛の客観評価を確立できることが示された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the brain activity in multiple regions, analyzed the oscillation of brain activity, and examined the correlation with changes in pain threshold in neuropathic pain model rat. A decrease in mechanical nociceptive threshold was observed in neuropathic pain rat. In order to examine the changes in oscillatory brain activity in neuropathic pain rat, large-scale multiple brain regions electrophysiological measurements were performed in awake and unrestrained rat. In neuropathic pain model rats, the oscillation of brain activity in multiple regions that were involved in emotions are changed, and the multiple brain regions that exhibit changes in brain activity similar to those in animals with negative emotions. It is possible that the chronification of pain was regulated by the sustained activation of brain activity that induces negative emotions.

研究分野：神経科学

キーワード：難治性疼痛 脳神経回路 情動 体性感覚 大規模多点電気生理記録 オシレーション 大脳皮質 大脳辺縁系

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。

1. 研究開始当初の背景

痛みとは、体の内外に異常や異変が生じていることを自覚させる警告系であり、動物が生存するために必須の生体反応である。一方、生体に生じた異常や異変を認識した後も残存する痛み（疼痛）は不快な感覚経験であり、生体を危ぶむことさえある。これまでの研究では、痛みとは強度の感覚刺激によって引き起こされるものと理解され、痛みを伝える情報伝導路の神経細胞が過度に興奮した場合に現れる感覚であると捉えられてきた。しかし、人の機能的 magnetic resonance imaging (fMRI) の検討から、侵害刺激は体性感覚を処理する脳領域に加え、負の情動を引き起こす領域をも活性化することが明らかにされた。つまり、痛みとは、単なる触覚などと異なり負の情動を伴う感覚刺激であると示唆されている。

痛み刺激は、感覚神経により中枢へと伝えられる。痛みを伝える末梢神経は脊髄後角の浅層でシナプスを形成するが、この領域に存在する神経細胞は感覚認知に関わる脳領域よりも、情動に関わる脳領域へ投射しており、痛覚以外の感覚情報を伝える神経細胞は、感覚情報を中継する視床 (Thalamus) に数多く投射していた (Todd A et al., Nat Rev Neurosci, 2010)。この発見を機に、疼痛が情動的な変化を起こす感覚刺激であると理解されつつある。

感覚を意識的に表象できる生物において、痛みの感受性は心理状態に影響を受けることが経験的に感じられており、ポジティブな情動の時に痛みの感受性は低下するが、ネガティブな情動のときには痛みの感受性が上昇する。つまり痛みの感受性には、心の状態が大きく影響するといえる。しかし、これまでの研究では、この心の状態と痛み感受性の間の関係について基礎的な検討を加えた論文は少なく、心理的ストレスを与えた際の痛み感受性の変化は、低下と上昇のいずれも報告されており、一致した見解が得られていない。

これまでの我々の研究から、負の情動が亢進している動物モデル（うつ病モデル）において、痛み刺激に対する感受性が亢進していることを明らかにし、その原因が負の情動を受け取る脳領域である前帯状回皮質のノルアドレナリン神経系の機能低下であることを見出した（論文投稿準備中）。次に、急性痛と慢性痛における脳活動の違いを明らかにするため、activation-induced enhanced manganese MRI (AIM-MRI) 法により検討を行った。AIM-MRI 法は fMRI 法で測定できない無拘束・無麻酔動物の脳活動が測定でき、抑制性および興奮性神経の活性化も検出できる。AIM-MRI 法により、神経障害性疼痛モデルマウスの脳活動はホルマリン足蹠皮下投与（急性炎症性疼痛）時と比べ、島皮質や側坐核といった情動に関わる脳領域で活性化していることを見出した。この結果より、急性痛が慢性疼痛に遷移するには、情動に関わる脳領域の不活化が必要である可能性を示した。

2. 研究の目的

本研究では、負の情動に関わる脳領域の賦活化が疼痛閾値の低下を生じる減少の神経基盤として、負の情動に関わる脳領域の神経活動が一時体性感覚領野の神経細胞の興奮性に影響を与えると想定し、そのメカニズムを神経生理学的に明らかにすることを目的とする。すなわち、慢性疼痛時において、負の情動および体性感覚を司る脳領域から直接神経活動を電気生理学的に同時記録し、その高い時間分解能など電気生理記録の利点と情報理論や統計解析を組み合わせることで、脳領域間の活動同期性、情報伝達効率、情報伝達方向（因果性）を検討し、その相互作用を明らかにする。さらに、負の情動を司る脳領域（前帯状回皮質など）の活動を人為的に操作し、体性感覚野の神経活動および疼痛閾値への影響（低下および正常化）を検討する。負の情動を司る脳領域における神経活動が、疼痛（特に慢性疼痛）の認知を制御するメカニズムを神経回路レベルで明らかにし、新規慢性疼痛治療戦略の開発に向けた端緒となりようように発展させる。

3. 研究の方法

(1) 実験動物

実験には、5週齢の C57BL/6J マウスおよび12週齢の Long Evans ラットを使用した。飼育環境は、温度 23±2°C、湿度 50±10% に維持しており、12 時間の明暗サイクル（点灯 7:00、消灯 19:00）に設定した。

(2) 神経障害性モデルの作製

ペントバルビタール (60 mg/kg, i.p.) により麻酔したマウスおよびラットの坐骨神経を露出し、坐骨神経のうち腓腹神経のみを残して、残りの神経を切断する Spared Nerve Injury (SNI) モデルを使用した。

(3) 行動解析

機械的刺激に対する反応閾値は、von Frey filament を用いて測定した。マウスおよびラットの足蹠へ太さの異なるフィラメントを押し当て、逃避行動が認められる重さ (g) から評価を行った。

(4) 神経投射の検討

神経投射は神経細胞の順行性トレーサー（Green Fluorescence Protein を神経細胞に発現するアデノ随伴ウイルスベクター：GFP-AAV）ならびに逆行性トレーサー（蛍光色素を結合したコレラトキシン B）を用いた。各脳領域にトレーサーを微量注入し、GFP-AAV は注入後 8 週間、コレラトキシン B は注入後 3 日後に脳を摘出し、解剖学的解析を行った。

（ 5 ） Designers Receptors Exclusively Activated by Designer Drug (DREADD) 法

青斑核へアデノ随伴ウイルスベクター（AAV）を微量注入後、8 週間経過したマウスの帯状回皮質へ、Clozapine-N-oxide（CNO）を微量注入し、誘発される行動変化と機械的刺激に対する閾値を測定した。

（ 6 ） 大脳における大規模多点同時電気生理記録

イソフルラン麻酔下のラットに複数のタングステン電極を埋植し、ラットの頭上に銅メッシュを用いて固定する。電気生理記録については、Berényi 博士らの開発した 500 チャネル以上の同時記録を可能にしたシステム（電極、プリアンプ、増幅器、記録ソフトウェア；Berényi et al., J Neurophysiol, 2014）を用いて行う。

4 . 研究成果

（ 1 ） 痛み認知に関わる神経投射経路の解析

AIM-MRI 法により明らかになった疼痛の慢性化に関わる脳領域がどのように情報を処理しているのかを明らかにするため、神経細胞トレーサーを用いて神経回路の検討を行った。順行性神経細胞トレーサーである GFP-AAV ならびに逆行性神経細胞トレーサーであるコレラトキシン B を用いた。その結果、島皮質-側坐核-淡蒼球-視床背内側核-前帯状回皮質という神経回路を同定することができ、この回路の活性化により疼痛の慢性化が引き起こされる可能性が示された。

次に、視床背内側核から前帯状回皮質に投射する神経の機能を DREADDs 法により人為的に機能を調節し痛覚閾値に対する効果を検討した。興奮性の DREADDs である hM3Dq をシナプシンプロモーターの制御下で神経細胞に発現する AAV を視床背内側核に微量注入し、hM3Dq の特異的リガンドである CNO を片側前帯状回皮質に微量注入し、機械刺激に対する痛み閾値を測定した。その結果、CNO 注入反対側の足の機械痛覚閾値の著しい低下が認められた。また、CNO 注入同側の足においても機械痛覚閾値の著しい低下が認められた。次に、抑制性の DREADDs である hM4Di をシナプシンプロモーターの制御下で神経細胞に発現する AAV を視床背内側核に微量注入し、CNO を片側前帯状回皮質に微量注入し、機械刺激に対する痛み刺激を測定した。hM4Di を発現する AAV を微量注入したマウスに CNO を前帯状回皮質に微量注入しても、hM3Dq を発現する AAV を微量注入した場合と同様に、両側の足の機械痛覚閾値の著しい低下が認められた。これらの結果より、視床背内側核から前帯状回皮質に投射する神経は、痛みの感受性に関与するが、その制御様式については、複雑なメカニズムが存在している可能性が明らかになった。

（ 2 ） 神経障害性疼痛モデル動物を用いた大規模脳活動同時記録

神経障害性疼痛モデルラットの脳内へ多数の電極を埋植し、無拘束・無麻酔（自由行動）下のラットの脳活動を測定した。神経障害性疼痛モデルラットは、神経障害後 1 週間より機械痛覚閾値の低下が認められ、2 ヶ月以上痛覚閾値の低下が持続していた。この神経障害性モデルラットの脳活動を、一次体性感覚野（S1）、補足運動野（M2）、前帯状回皮質、前頭前皮質、島皮質、側坐核、淡蒼球、視床背内側核、扁桃核、海馬から多点電気生理同時記録を行った。神経障害性疼痛の持続により、脳活動の変化が顕著に見られる脳領域が複数明らかになり、また、周波数に特異的な活動の変化を示すことが明らかになった。また、特定の脳領域間の興奮同期性や周波数依存的な情報伝達・因果性が高まることが明らかになった。特に、動物の覚醒状態に依存せず、脳活動の変化が常に認められる脳領域だけではなく、情動面の調節を行っている脳領域において脳活動の変化が認められた。さらに、脳活動としては 帯域神経活動や 帯域神経活動が上昇しており、帯域神経活動が減少する脳領域が存在していることを見出した。これらの帯域神経活動において、複数の脳領域間の活動同期性が有意に変化することが示された。

特に痛みの認知に関わるとされる 帯域脳活動では、島皮質や梨状皮質と側坐核における活動同期性が消失することや外側扁桃核と側坐核の活動同期性が亢進することが明らかになった。また、帯域脳活動では島皮質や梨状皮質、外側扁桃核と側坐核における活動同期性が亢進することや帯状回皮質と前頭前皮質の活動同期性が低下することが明らかになった。また、視床背内側核は情動に関わる多くの脳領域と 帯域脳活動の興奮同期性が低下することも明らかになった。

現在、これら脳活動の興奮同期性と痛みの認知や疼痛の慢性化における関与について、中心的な役割をしている細胞の同定や周期的脳活動の同定を行い、疼痛慢性化や難治性の疼痛を緩和するための閉回路ループ制御法の確立を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Masahiro Ohsawa, Keisuke Miyamoto, Daisuke Uta, Kazuhiko Kume
2. 発表標題 L-Lactate-induced activation of PKA pathway sensitizes nociceptive transmission in mice.
3. 学会等名 IBRO2020 workshop in Szeged (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masahiro Ohsawa
2. 発表標題 Visualization of brain activity under chronic pain condition.
3. 学会等名 Juvenes Pro Medicina (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ等 http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/neuro/
--

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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ベレーニ アンタル (Berenyi Antal)	セゲド大学・Faculty of Medicine・Principal Investigator	