

平成 21 年 6 月 19 日現在

研究種目：基礎研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19390067

研究課題名（和文）疼痛刺激による脳神経系の可塑的变化と情動変化に関する研究

研究課題名（英文）Research for the molecular mechanisms underlying neuronal plastic changes and alteration of emotional aspect under the chronic pain state

研究代表者

鈴木 勉（SUZUKI TSUTOMU）

研究者番号：90130757

研究成果の概要：本研究では、慢性疼痛下における opioid 精神依存不形成の分子機構ならびに持続する末梢からの疼痛刺激により引き起こされる脳高次機能の変化について明らかにすることを目的として、脳機能変化の可視化を試み、疼痛刺激に応じて活性化される脳部位の検討を行った。申請者は、functional magnetic resonance imaging (fMRI) を用いて blood oxygenation level dependent (BOLD) 法に従い、脊髄 PKC $\gamma$  の活性化による神経障害性疼痛様刺激および炎症性疼痛刺激による脳機能変化を可視化することに成功した。また、持続的な痛み刺激により、腹側被蓋野において内因性  $\mu$ -opioid 受容体リガンドである  $\beta$ -endorphin が持続的に遊離した結果、 $\mu$ -opioid 受容体の機能低下、さらにはそれに続く dopamine 神経の活性低下が引き起こされていることが明らかとなった。こうした変化が、慢性疼痛下における opioid 精神依存不形成機構の一因である可能性が示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	7,400,000	2,220,000	9,620,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：疼痛刺激、痛覚伝導路、fMRI、PKC $\gamma$ 、神経障害性疼痛、炎症性疼痛、大脳皮質、脳内報酬系

## 1. 研究開始当初の背景

現在、米国において痛みの研究が大規模な国家的プロジェクトとして進行しているため、痛みに関する知見が数多く報告されている。

しかしながらそれらのほとんどが下位中枢である脊髄に焦点を当てたものであり、慢性疼痛が脳に与える影響は未だ明確ではない。臨床においても抑うつ状態に陥ると痛みが

出現することや、既にあった痛みが強まるといったことが知られており、精神症状が痛みの慢性化や難治性を誘導しうることが定説となりつつある。しかしながら、これらの現象の神経科学的根拠については全く明らかにされておらず、慢性疼痛下における脳内神経系の変化を立証することは、臨床上非常に有用な情報であると考えられる。こうした背景から、申請者は、慢性疼痛下における脳神経系の可塑的变化と精神依存などの情動変化に関する分子生物学的および神経科学的なメカニズムについて多角的な検討を行った。

## 2. 研究の目的

痛覚に関する脊髄からの投射は、多くの経路を経て大脳皮質に至るが、大きく分けて外側と内側の2つの系に大別される。外側系は、脊髄後角から脊髄の前外側索を上行し、視床の腹側基底核群を経由して大脳皮質体性感覚野に至り、痛みの部位や強度の認知に関与する。これに対し、内側系は脊髄後角から脊髄の前外側索の内側を上行し、脳幹の諸核を経由して視床髄板内核を介し、帯状回、海馬や扁桃体を含む大脳辺縁系に至り、痛み記憶や情動さらには睡眠・摂食といった生理機能発現に関与する。一方、臨床において慢性疼痛患者では、睡眠障害ならびに食欲低下、不安、抑うつなどの症状を呈することが知られている。このように慢性疼痛は脳高次機能に大きな歪みを与えることから、慢性疼痛下では上位中枢である脳の可塑的变化が引き起こされている可能性が考えられる。事実、申請者らはこれまでに、慢性疼痛動物モデルでは疼痛発現に伴った不安感受性の亢進が認められることや麻薬性鎮痛薬である morphine の精神依存が形成されないことを世界で初めて明らかにしている。しかしながら、持続する末梢からの疼痛刺激が報酬系である中脳辺縁ドパミン神経をはじめとした脳高次機能にどのような影響を与えるのか、さらにはそれらの変動がどのようにして opioid 精神依存不形成を引き起こすのかについては不明である。そこで本研究では、慢性疼痛モデル動物を作製し、各脳部位における fMRI を用いた BOLD シグナルの増強を指標として網羅的な解析を行うことにより、慢性疼痛時において活性化される脳神経系の違いや疼痛発現に伴う脳内神経系の活性化のメカニズムについて検討を行った。さらには、疼痛刺激により活性化された神経系と内因性 opioid 神経系との相互関係についても明確にし、慢性疼痛下における opioid 精神依存不形成の分子機構について解明することを試みた。

## 3. 研究の方法

本研究を遂行するにあたり、星薬科大学動物実験指針に則り、動物に対する倫理面を十分に考慮して、さらに使用動物を最小限にして動物実験計画を立案し、星薬科大学動物実験委員会の許可を得てからすべての実験を行った。炎症性疼痛モデルは、isoflurane 麻酔下、マウスの右側後肢足蹠皮下に CFA を 20  $\mu$ L 投与することにより作製した。神経障害性疼痛モデルは、動物を isoflurane にて麻酔し、右側後肢大腿部の坐骨神経を半周だけ強度に結紮することにより作製した。また、脊髄内 PKC の活性化に起因する慢性疼痛モデルは、isoflurane 麻酔下、マウスの髄腔内に PDBu を投与することにより作製した。脳部位の活性化は、1% isoflurane 麻酔下でマウスを固定し、Varian 9.4 T 動物用 MRI 装置を用いて BOLD 法に従い検討した。報酬効果の測定は条件づけ場所嗜好性試験 (CPP 法) に従い検討を行った。さらに、脳神経回路の解析では isoflurane (3%, 吸入) 麻酔下において神経軸索輸送物質を脳部位に投与した。また、薬物投与後の脳内における各種機能蛋白質の分子生物学的ならびに形態学的変化を Western blot 法ならびに免疫組織化学的染色法を駆使して検討し、行動学的変化との相関性を詳細に検討した。

## 4. 研究成果

近年、脊髄 protein kinase C (PKC) の活性化が神経障害性疼痛発現および維持に重要な役割を果たしていることが報告されており、当教室でも、神経障害性疼痛モデルでは PKC の免疫活性著しく増大することを明らかにしている。また PKC の isoform の中でも PKC $\gamma$  が神経障害性疼痛の形成に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。そこで、まず、PKC の活性化薬である PDBu を単回髄腔内投与したところ、著明かつ有意な熱痛覚過敏反応が認められた。この反応は、PKC $\gamma$  knockout mouse では、全く認められなかった。次に、このような脊髄 PKC $\gamma$  の活性化が直接上位中枢の活性化を引き起こすか否かを検討する目的で、脳機能変化を可視化する fMRI を用いて BOLD 法に従い検討した。その結果、wild-type マウスでは、痛覚伝導路の中継核である視床外側および内側領域、さらには痛覚伝導路の最終終着点である体性感覚野領域において PDBu 投与直後より BOLD シグナルの著明な増加が認められた。さらに情動行動を司る帯状回領域、さらには報酬系である側坐核および腹側被蓋野領域においては遅延性の BOLD シグナルの増加が認められた。一方、PKC $\gamma$  knockout マウスで同様の検討を行ったところ、これらの反応は全く認められなかった。また、起炎物質である complete Freund's adjuvant (CFA) を足蹠皮下投与することにより炎症性疼痛モ

デルを作製し、fMRI を用い、上記と同様の検討を行ったところ、CFA 投与後から、大脳皮質、視床および報酬系の各領域において BOLD シグナルの増加が認められた。これらの結果より、疼痛刺激は痛みの上行性経路に関与する領域のみならず、情動に深く関与する帯状回さらには、腹側被蓋野領域や側坐核領域などの報酬効果発現に関与する領域においてシグナル活性化を引き起こすことが示唆された。そこで次に、morphine により誘発される報酬効果に対する脊髄 PKC 活性化の影響と  $\beta$ -endorphin の役割について、 $\beta$ -endorphin knockout マウスを用いて検討を行った。その結果、wild-type マウスに PDBu を髄腔内投与したところ、morphine 誘発報酬効果の抑制が認められた。一方、 $\beta$ -endorphin knockout マウスにおいても同様の検討を行ったところ、 $\beta$ -endorphin knockout マウスでは PDBu の髄腔内投与による morphine 誘発報酬効果の抑制は認められなかった。これらのことから、 $\beta$ -endorphin は脊髄 PKC の活性化による morphine 精神依存不形成機構において、重要な役割を担っていることが明らかとなった。次に、神経障害性疼痛下における morphine の精神依存形成に重要な役割を担っている中脳辺縁ドパミン神経の変化について解剖学的な検討を行った。その結果、坐骨神経を結紮することにより、腹側被蓋野においてドパミン神経の活性化の指標となるリン酸化 tyrosine hydroxylase 免疫活性の著明な減弱が認められた。さらにこの現象は、側坐核に投射している神経細胞上で認められたことから、神経障害性疼痛により腹側被蓋野から側坐核に投射しているドパミン神経の活性低下が引き起こされていることが明らかとなった。以上、本研究において、申請者らは脊髄 PKC $\gamma$  の活性化による神経障害性疼痛様刺激および炎症性疼痛刺激による脳機能変化を可視化することに成功した。また、本研究により疼痛刺激は痛みの上行性経路に関与する領域のみならず、情動に深く関与する帯状回さらには、腹側被蓋野領域や側坐核領域などの報酬効果発現に関与する領域においてシグナル活性化を引き起こすことが示唆された。さらに、申請者は、持続的な痛み刺激により、腹側被蓋野において  $\beta$ -endorphin が持続的に遊離した結果、 $\mu$ -opioid 受容体の機能低下、さらにはそれに続く dopamine 神経の活性低下が引き起こされていることを明らかにした。こうした変化が、神経障害性疼痛による opioid 精神依存不形成機構の一因である可能性が示唆された。

##### 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 11 件)

- 1) Narita M, Hashimoto K, Amano T, Narita M, Niikura K, Nakamura A, Suzuki T, Post-synaptic action of morphine on glutamatergic neuronal transmission related to the descending antinociceptive pathway in the rat thalamus, *J Neurochem*, 104, 469-478, 2008、査読有り
- 2) Niikura K, Kobayashi Y, Okutsu D, Furuya M, Kawano K, Maitani Y, Suzuki T, Narita M, Implication of spinal protein kinase C gamma isoform in activation of the mouse brain by intrathecal injection of the protein kinase C activator phorbol 12,13-dibutyrate using functional magnetic resonance imaging analysis, *Neurosci Lett*, 433, 6-10, 2008、査読有り
- 3) Niikura K, Narita M, Okutsu D, Tsurukawa Y, Nanjo K, Kurahashi K, Kobayashi Y, Suzuki T, Implication of endogenous beta-endorphin in the inhibition of the morphine-induced rewarding effect by the direct activation of spinal protein kinase C in mice, *Neurosci Lett*, 433, 54-58, 2008、査読有り
- 4) Niikura K, Narita M, Narita M, Nakamura A, Okutsu D, Ozeki A, Kurahashi K, Kobayashi Y, Suzuki M, Suzuki T, Direct evidence for the involvement of endogenous beta-endorphin in the suppression of the morphine-induced rewarding effect under a neuropathic pain-like state, *Neurosci Lett*, 435, 257-262, 2008、査読有り
- 5) Narita M, Nakamura A, Ozaki M, Imai S, Miyoshi K, Suzuki M, Suzuki T, Comparative Pharmacological Profiles of Morphine and Oxycodone under a Neuropathic Pain-Like State in Mice: Evidence for Less Sensitivity to Morphine, *Neuropsychopharmacology*, 33, 1097-1112, 2008、査読有り
- 6) Matsuzawa-Yanagida K, Narita M, Nakajima M, Kuzumaki N, Niikura K, Nozaki H, Takagi T, Tamai E, Hareyama N, Terada M, Yamazaki M, Suzuki T, Usefulness of antidepressants for improving the neuropathic pain-like state and pain-induced anxiety through actions at different brain sites, *Neuropsychopharmacology*, 33, 1952-1965, 2008、

査読有り

- 7) Kato A, Minami K, Ito H, Tomii T, Matsumoto M, Orita S, Kihara T, Narita M、Suzuki T、Comparison of analgesic tolerance to and psychological dependence on oxycodone, morphine and fentanyl in a neuropathic pain-like state in mice、*Oncology*, 74 suppl 1、55-60、2008、査読有り
- 8) Suzuki T、Nakamura A、Suzuki M、Narita M、Comparison of analgesic tolerance to and psychological dependence on oxycodone, morphine and fentanyl in a neuropathic pain-like state in mice、*Oncology*, 74 suppl 1、91-112、2008、査読有り
- 9) Nakamura A、Narita M、Miyoshi K、Shindo K、Okutsu D、Suzuki M、Higashiyama K、Suzuki T、Changes in the rewarding effects induced by tramadol and its active metabolite M1 after sciatic nerve injury in mice、*Psychopharmacology*, 200、307-316、2008、査読有り
- 10) Narita M、Takei D、Shiokawa M、Tsurukawa Y、Matsushima Y、Nakamura A、Tagaki S、Asato M、Ikegami D、Narita M、Amano T、Niikura K、Hashimoto K、Kuzumaki N、Suzuki T、Suppression of dopamine-related side effects of morphine by aripiprazole, a dopamine system stabilizer、*Eur J Pharmacol*, 600、105-109、2008、査読有り
- 11) Narita M、Suzuki M、Kuzumaki N、Miyatake M、Suzuki T、Implication of activated astrocytes in the development of drug dependence: differences between methamphetamine and morphine、*Ann N Y Acad Sci*, 96-104、1141、2008、査読有り

[学会発表] (計 15 件)

- 1) 鈴木 勉、慢性疼痛治療薬としてのオピオイド鎮痛薬の有用性、第 38 回日本慢性疼痛学会、2009 年 2 月 22 - 23 日、神戸
- 2) 鈴木 勉、がん疼痛治療に用いられる医療用麻薬の薬理学的知見、第 12 回播磨癌疼痛緩和研究会、2008 年 10 月 24 日、姫路
- 3) 鈴木 勉、医療用麻薬の up-to-date 第 4 回東総薬物緩和医療研究会、2008 年 10 月 10 日、山武
- 4) 鈴木 勉、緩和医療における薬剤師への期待、第 52 日本薬学会関東支部大会、2008 年 10 月 4 日、東京理科大学
- 5) 鈴木 勉、心とからだの健康科学：患者の心身の痛みを癒す緩和ケア、痛みを癒すくすり、日本健康科学学会第 24 回学術大会、2008 年 9 月 27 日、坂戸
- 6) 鈴木 勉、葛巻直子、成田 年、報酬系ネットワークを修飾するグリア細胞活性を調節する薬剤の薬物依存治療薬としての可能性、平成 20 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会、2008 年 9 月 15-19 日、横浜
- 7) Tsutomu Suzuki、Keiichi Niikura、Naoko Kuzumaki and Minoru Narita、Modification of rewarding effect of opioids under a chronic pain-like state、第 11 回神経細胞死・変性による疾患ならびにその治療薬に関するワークショップ、2008 年 9 月 12-14 日、仙台
- 8) 鈴木 勉、疼痛下におけるモルヒネ精神依存不形成機構の解析、緩和医療と基礎研究の連携、第 29 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム、2008 年 8 月 29 日 - 8 月 30 日、富山
- 9) 鈴木 勉、医療用麻薬に関する最近の知見、第 7 回広島がん疼痛治療研究会、2008 年 7 月 30 日、広島
- 10) 鈴木 勉、医療用麻薬の薬理学的特徴と最近の知見、第 23 回臨床薬理セミナー、2008 年 7 月 6 日、熊本
- 11) Suzuki, T<sup>1</sup>、Takei, D<sup>1</sup>、Shiokawa, M<sup>1, 2</sup>、Tsurukawa, Y<sup>1</sup>、Nakamura, A<sup>1</sup>、Hashimoto, K<sup>1</sup>、Kuzumaki, N<sup>1</sup>、Suzuki, M<sup>1</sup>、Inoue, T<sup>2</sup> and Narita, M<sup>1</sup>、Usefulness of aripiprazole for reducing morphine-induced nausea and rewarding effect、The College on Problems of Drug Dependence (CPDD) 70<sup>th</sup> Annual Scientific meeting、2008 年 6 月 14-19 日、Puerto Rico
- 12) 鈴木 勉、基礎研究から見たがん疼痛治療、2008 Pain Care Advanced Seminar in Shizuoka、2008 年 3 月 29 日、静岡
- 13) 鈴木 勉、がん疼痛緩和と医療用麻薬、第 1 回佐賀在宅緩和ケア薬研究会、2008 年 3 月 1 日、佐賀
- 14) 鈴木 勉、薬物依存の性差、性差医学・医療学会第 1 回学術集会、2008 年 2 月 10 日、鹿児島
- 15) Suzuki, T、Nakamura, A、Suzuki, M and Narita, M、Comparison of analgesic tolerance to and psychological dependence on oxycodone, morphine and fentanyl under a neuropathic pain-like state in mice、FOURTH ASIA PACIFIC SYMPOSIUM ON PAIN CONTROL、2007 年 11 月、Kuala Lumpur, Malaysia

〔図書〕（計6件）

- 1) 成田 年、葛巻直子、新倉慶一、鈴木 勉、慢性疼痛と情動 - 慢性疼痛と脳高次機能の歪み、真興貿易（株）医書出版部、ペインクリニック、29、189-195、2008
- 2) 橋本敬輔、成田 年、鈴木 勉、鎮痛補助薬の現状と今後の展望 - 新しいオピオイドの鎮痛補助効果、先端医学社、緩和医療学、10、51-58、2008
- 3) 成田 年、宮竹真由美、鈴木雅美、新倉慶一、葛巻直子、鈴木 勉、オピオイド依存・耐性に関する研究と知見 3. オピオイド適正の有用性と安全性の科学的根拠：医療用麻薬に対する誤解と覚せい剤との根本的相違点、真興貿易（株）医書出版部、ペインクリニック、29、S371-S379、2008
- 4) 成田 年、三好 敏、鈴木雅美、鈴木 勉、オピオイドについての新しい話題 2007、真興貿易（株）医書出版部、ペインクリニック、28、367-378、2007
- 5) 葛巻直子、成田 年、鈴木 勉、おさらい「オピオイドの薬理学・薬剤学」④ なぜ、がん疼痛治療時においてモルヒネの依存性はあまり問題にならないのでしょうか？、南山堂、薬局、58、25-28、2007
- 6) 葛巻直子、成田 年、鈴木 勉、痛みシグナルによる情動障害と帯状回領域の変化、医歯薬出版株式会社、医学のあゆみ、223、713-716、2007

〔その他〕

ホームページ等

<http://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/dokusei/home/研究内容.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 勉 (SUZUKI TSUTOMU)  
星薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：90130757

### (2) 研究分担者

成田 年 (NARITA MINORU)  
星薬科大学・薬学部・准教授  
研究者番号：40318613