

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007-2008

課題番号：19790160

研究課題名（和文） 情動による疼痛伝達制御における扁桃体の役割に関する研究

研究課題名（英文） Role of central nucleus of amygdala in stress-induced hyperalgesia

研究代表者 東 朋子 (HIGASHI TOMOKO)

財団法人大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物学部門・研究員

研究者番号：90400134

研究成果の概要：痛覚情報は、ストレスや不安、うつといった情動的な要因により影響されることがある。しかし、どのようなメカニズムで情動的な要因により痛覚情報が影響されるのか解明されていない。本申請では、ストレスにより疼痛反応が過敏になることや、その反応に BDNF と TrkB 受容体が関与していることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

|         | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2007 年度 | 900,000   | 0       | 900,000   |
| 2008 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 総計      | 1,900,000 | 300,000 | 2,200,000 |

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：

## 1. 研究開始当初の背景

痛みは、人間誰しもが感じる感覚であり、生体警告系として生理的に有意義な面を持つ一方、患者のQOLを低下させる最も大きな要因になりうる。癌性疼痛や神経損傷に伴う慢性的な痛みはそれ自体が治療の対象となるが、モルヒネや抗炎症薬に抵抗性であり有効な治療法が確立されていない。また痛みが持続することにより「不安」や「気分低下」「意欲低下」といった精神症状を伴うようになり、それらが互いを増強させて痛みに対する感受性が高まり、痛みの感じ方がいっそう強くなるということは臨床でよく報告されている。慢性疼痛の治療に抗うつ薬や抗不安薬が効果を示す場合もあり、不安やうつといった情動

は痛みの発生に影響する因子として重要であることが考えられる。

慢性疼痛発症メカニズムとして脊髄レベルでの可塑的变化が徐々に明らかとなっている。しかしながら、情動をはじめとする高次中枢からの疼痛制御の存在は臨床レベルでよく見られることであるが、高次中枢の可塑的变化による疼痛伝達異常についての詳細は明らかになっていない。

近年、痛覚伝達変化に関わる脳由来神経栄養因子 (BDNF) が、中枢神経シナプス可塑性にも重要な役割を果たしていることがわかってきた。しかもその中枢での可塑性変化は、従来の記憶・学習形成のみならず、精神・情動機能さらには、うつ病との関連も示唆さ

れている。以上の背景より、中枢における情動制御にかかわる扁桃体での可塑性と痛み伝達変化の関連が注目されてきている。本研究では、情動による痛み伝達の制御メカニズムにおける扁桃体の役割についてBDNFの機能解析を中心に検討する。

## 2. 研究の目的

本研究では情動による痛み伝達の制御メカニズムにおける扁桃体の役割についてBDNFの機能解析を中心に検討するために、疼痛反応と情動反応を解析・評価できるモデル動物の確立し、中枢における痛み伝達に関わる分子を探索する。また、疼痛反応と情動反応の相互関連におけるBDNFの機能について行動薬理的解析を行うことを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 疼痛反応と情動反応を評価できるモデル動物の作製と行動解析

①マウスに長期的なストレスを負荷することにより不安行動を誘発させ、高架十字迷路法により不安行動の評価を行った。

②不安行動を誘発させたマウスの後肢に侵害刺激物質（ホルマリン、炎症惹起物質）を投与し、引き起こされる疼痛関連行動の変化を観察した。

・ホルマリン投与では、投与部位に対する足舐め行動指標とし観察した。

・炎症惹起物質にはフロイドアジュバント（CFA）を用い、CFAによる痛み過敏応答を観察した。

③不安行動による疼痛行動が中枢での制御を受けているか否か検討した。

具体的には、不安を誘発させたマウスを用い、上位中枢レベルでの疼痛行動の評価ができるホットプレート法により熱に対する逃避行動を起こすまでの時間を測定した。

### (2) 情動による痛み伝達変化に関わる分子の探索

中枢での痛み伝達に関わる分子を検討した。候補としては、末梢での疼痛発症や精神疾患発症に関わっていることが報告されている脳由来神経栄養因子（BDNF）に着目し、BDNFが情動による痛み伝達異常に関わっているか検討した。

具体的には、疼痛のみを発症させたマウスと、疼痛と不安行動を発症させたマウスの扁桃体を採取し、trkB受容体mRNAの発現変化をリアルタイムRT-PCR法により解析した。

### (3) 情動による痛み伝達変化の解析

モデル動物を用いて細胞外記録法により、疼痛のみを発症させたマウスと、疼痛と不安行動を発症させたマウスの扁桃体中心核神経におけるmultiunit recording(活

動電位)を比較・検討した。

### (4) 情動反応と疼痛反応の機能関連におけるBDNF・trkB受容体の役割

BDNFやtrkB受容体阻害剤を直接マウスの扁桃体へ投与し、情動により引き起こされた疼痛行動異常が影響されるか否か検討した。

### (5) 慢性疼痛モデルへの応用

神経損傷モデルでは疼痛の発症に伴い不安行動が観察される。神経損傷による慢性疼痛モデルを作製し、疼痛行動や不安行動に与える影響を観察した。

## 4. 研究成果

### (1) 疼痛反応と情動反応を評価できるモデル動物の作製と行動解析

①対照となるマウスに攻撃性の強いマウスによる1日10分間の社会的攻撃を10日間受けさせ、その後の情動行動の変化を高架十字迷路法により評価した。その結果、ストレス負荷（SD）により、closed armに入る回数に変化は無かったが、open armに入る回数は有意に減少した（図1）。また、open armに滞在する時間も有意に減少していることが明らかとなり、不安様行動が観察された（図2）。

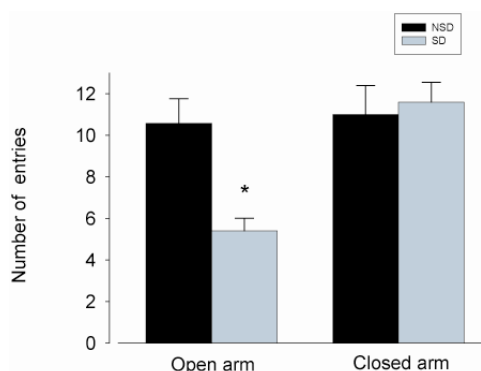


図1. ストレス負荷による Open arm に入る回数の変化

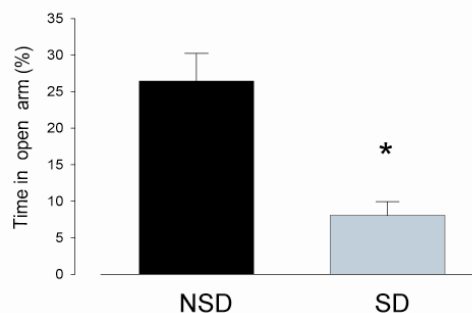


図2. Open arm に滞在する時間割合

②不安様行動が観察されたマウスの足底皮下にホルマリンを投与し、投与直後から観察される投与部位に対するlicking(足舐め)、biting(足噛み)行動を観察した。その結果、投与直後からの10分間に観察される第1相目の反応(急性疼痛)に変化は無かったが、第2相目(炎症性疼痛)の反応は、ストレス非負荷群(NSD)にくらべ、ストレス負荷群(SD)において有意に増加した(図3)。また、完全フロイントアジュバントを用いて炎症モデルを作製し、ストレス負荷による疼痛行動の変化を観察したところ、機械刺激に対する疼痛反応が増大した。以上のことから、ストレス負荷により誘発された不安により疼痛行動が変化することが明らかとなった(図4)。

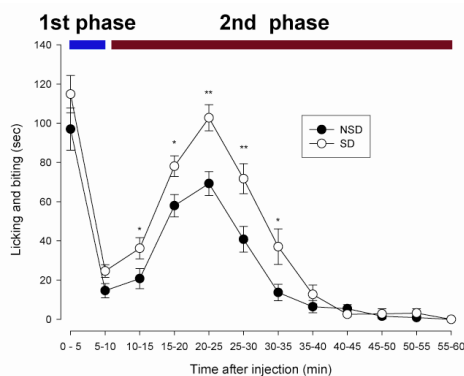


図3. ホルマリン誘発疼痛行動に対するスト

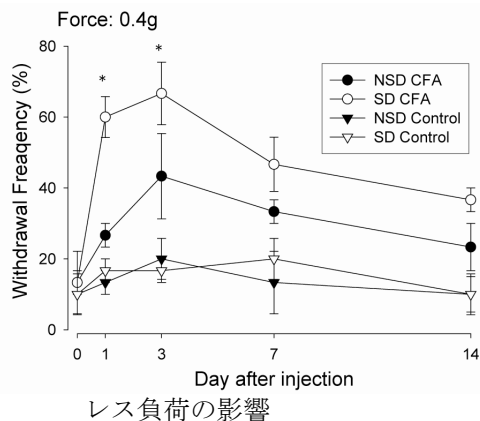


図4. カラゲニン誘発疼痛に対するストレス負荷の影響

③不安行動による疼痛行動が中枢での制御を受けているか否か検討した。具体的には、不安を誘発させたマウスを用い、上位中枢レベルでの疼痛行動の評価ができるホットプレート法により熱に対する逃避行動を起こすまでの時間を測定した。その結果、ストレス負荷により熱に対する逃避行動潜時の短縮が確認された(図5)。

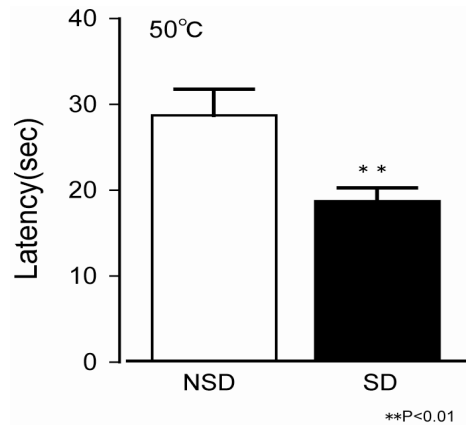


図5. ストレス負荷による逃避潜時の短縮

## (2) 情動による痛覚伝達変化に関わる分子の探索

中枢での痛覚伝達に関わる分子を検討した。末梢での疼痛発症や精神疾患発症に関わっていることが報告されている脳由来神経栄養因子(BDNF)に着目し、BDNFが情動による痛覚伝達異常に関わっているか検討するために、ホルマリン疼痛のみを発症させたマウスと、疼痛と不安行動を発症させたマウスの扁桃体を採取し、trkB受容体mRNAの発現変化をリアルタイムRT-PCR法により解析した。その結果、疼痛のみを発症したマウスに比べ、疼痛と不安行動を発症させたマウスの扁桃体ではtrkB受容体mRNAの発現量が $1.49 \pm 0.034$ 倍増加していることが明らかとなった。

## (3) 情動による痛覚伝達変化の解析

モデル動物の扁桃体中心核に細胞外記録用の電極を埋め込む手術を行い、10日間回復させた後、自由行動下で扁桃体中心核細胞の神経活動を記録した。ストレス非負荷のマウスへのホルマリン投与後のスパイク数と比較し、ストレス負荷動物では、ホルマリン投与後のスパイク数が増加していた。

## (4) 情動反応と疼痛反応の機能関連におけるBDNF・TrkB受容体の役割

マウスの扁桃体中心核に薬物を投与するためのカニューレを埋め込む手術を行い5日間回復させ、その後、10日間のストレス負荷を行った。この不安行動を起こしたマウスの扁桃体中心核内にTrkB受容体阻害剤であるK252aを投与し、ホルマリンによる疼痛行動を観察した。その結果、aCSF投与群では、ストレス負荷により増加していた疼痛反応に変化は見られなかったが、K252a投与群では、ストレス負荷により増加していた疼痛反応が有意に抑制された(図6)。

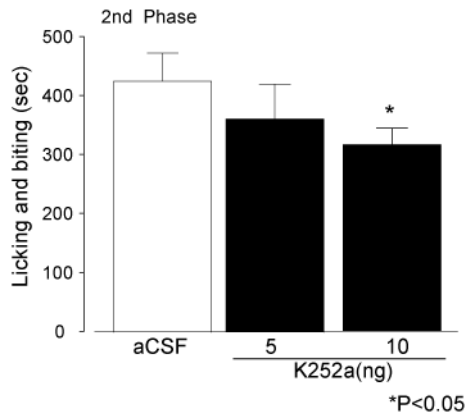


図6. ストレスによる疼痛反応増大に対する TrkB受容体遮断の効果

#### (5)慢性疼痛モデルへの応用

マウスの坐骨神経を結紮することにより神経因性疼痛モデルを作成した。このマウスの不安行動を観察するために、結紮1週間後から情動行動の変化を高架十字迷路法により評価した。その結果、結紮1週間後では変化が見られなかったが、4週間後では不安行動が増加することが明らかとなった。

#### 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 件)

〔学会発表〕 (計 件)

〔図書〕 (計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 件)

○取得状況 (計 件)

〔その他〕

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

東 朋子 (HIGASHI TOMOKO)

財団法人大阪バイオサイエンス研究所・研究員

研究者番号：90400134

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者