

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09333

研究課題名(和文)末梢マクロファージに着目した神経障害性疼痛の病態理解と治療戦略

研究課題名(英文) Mechanisms-based therapeutic strategies for neuropathic pain through peripheral macrophages

研究代表者

岸岡 史郎 (Kishioka, Shirō)

和歌山県立医科大学・薬学部・学長特命教員(特別顧問)

研究者番号：60137255

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)：本研究では、神経障害性疼痛に共通する責任細胞としての炎症性マクロファージの役割に着目した。末梢神経傷害、糖尿病性、抗がん薬誘発性の神経障害性疼痛モデルマウスを作製し、それぞれの病態において炎症性マクロファージが重要な役割を果たすことを、免疫組織化学析、遺伝子発現解析、行動解析などの手法を用いて明らかにした。また健常マウスの末梢神経において炎症性マクロファージが増加すると痛覚閾値が低下し、アロディニアが惹起されることも示した。マクロファージ抑制薬は、病態の進行度に関わらずアロディニアを抑制したことから、神経障害性疼痛の治療において有望であ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

神経障害性疼痛の病態形成・維持に重要な役割を果たす因子は多数知られているが、各々の病態生理学的意義についての解釈は複雑である。本研究において、傷害末梢神経に集積する炎症性マクロファージを薬理的に抑制すると、成因の異なる様々な神経障害性疼痛が改善することを明らかにした。この結果は、神経障害性疼痛の分子基盤に迫ると共に、新たな臨床応用の可能性を提唱するものであり、本研究の学術的意義と社会的波及効果は高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the roles of inflammatory macrophages in neuropathic pain. We used several neuropathic pain model mice caused by peripheral nerve injury, diabetes, and anticancer drugs, and demonstrated that inflammatory macrophages play an important role in their pathogenesis using immunohistochemistry, gene expression, and behavioral analyses. We also showed that increment of inflammatory macrophages in the peripheral nerves induced mechanical allodynia. Macrophage inhibitors suppressed mechanical allodynia regardless of the severity of the disease, suggesting that it might be a promising pharmacotherapy for neuropathic pain.

研究分野：薬理学

キーワード：マクロファージ 神経障害性疼痛 DREADD 末梢神経 神経炎症 サイトカイン アロディニア 坐骨神経

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国における慢性疼痛の罹患率は20%を超え、その中でも神経障害性疼痛の疑いがある患者は約7%に及ぶと推定されている。神経系の物理的傷害や機能異常に起因する神経障害性疼痛は痛覚過敏やアロディニアを呈し、従来の鎮痛薬に抵抗性であることから治療に難渋するケースが多い。我々はこれまでに、傷害を受けた一次感覚神経に集積する炎症性マクロファージが慢性的な神経炎症を惹起し、痛みの増悪を引き起こすことを明らかにしてきた。神経障害性疼痛の病態は多岐に渡り、その形成・維持機構に関与する因子は多数知られているが、各々の病態生理学的意義についての解釈は現在において統一的ではない。炎症性マクロファージを標的としたアプローチは神経障害性疼痛の治療戦略として有望である可能性が示唆されるものの、その詳細な分子基盤や普遍的な重要性を示すには至っておらず、病態解明ならびに臨床応用を視野に入れた発展的研究が必須である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、成因の異なる神経障害性疼痛における炎症性マクロファージの普遍的役割を明らかにすることである。まずは、末梢神経傷害性、糖尿病性、抗がん薬誘発性の神経障害性疼痛モデルマウスを作製し、マクロファージの活性化プロファイルを免疫組織化学解析や遺伝子発現解析から明らかにする。そして Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) によるマクロファージ調節法や、薬理的阻害薬等を用い、その活性化状態を操作した際の痛みに及ぼす影響を解析する。

3. 研究の方法

(1) 神経障害性疼痛モデルマウス

マウスの坐骨神経を縫合糸で部分結紮 (PSL) することによって末梢神経傷害性モデルを、高脂肪食 (HFD) の給餌によって2型糖尿病性 (T2DM) モデルを、または抗がん薬パクリタキセルを全身反復投与することによって抗がん薬誘発性の神経障害性疼痛モデルマウスをそれぞれ作製した。金網上で馴化させたマウスの後肢足底に屈曲圧の異なるフィラメントを一定の法則に従って押し当て、マウスが逃避反応を示すパターンをもとに機械的刺激に対する痛覚閾値を算出した。

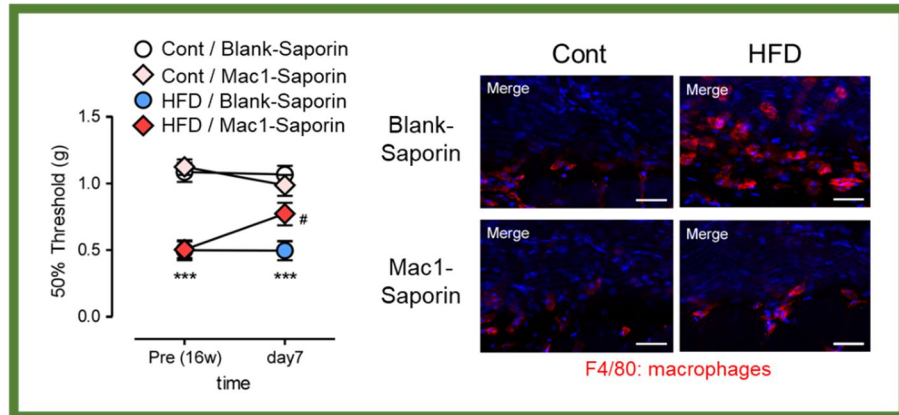
(2) DREADD 発現マウス

マクロファージに発現する Cx3cr1 プロモーター制御下において、Cre 依存的に変異型ヒトムスカリン受容体 3 (hM3Dq) を発現する Gq-DREADD マウス (Cx3cr1-hM3Dq) または変異型ヒトムスカリン受容体 4 (hM4Di) を発現する Gi-DREADD マウス (Cx3cr1-hM4Di) を作製した。これらのマウスに選択的リガンドである Clozapine-N-Oxide (CNO) を全身または局所投与し、マクロファージを領域特異的に抑制または興奮させた際の影響を、行動解析、免疫組織化学解析、遺伝子発現解析等によって評価した。

4. 研究成果

(1) 糖尿病性神経障害性疼痛とマクロファージ

T2DM モデルマウスにおけるマクロファージの役割を評価した。マウスに HFD を与えると、対照と比較して体重ならびに血糖値が経時的に増加するとともに、

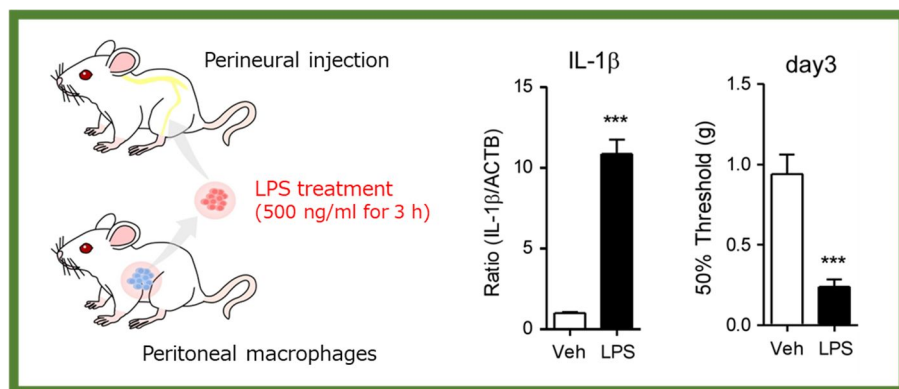


足底へのフィラメント刺激に対する逃避閾値が低下し、機械的アロディニアが惹起された。T2DM モデルマウスの坐骨神経に集積した炎症性マクロファージを特異的毒素によって除去すると、各種炎症性サイトカインの発現が減少し、機械的アロディニアが抑制された。これらの現象は PSL による末梢神経傷害性モデルとも共通点が多く、成因の異なる神経障害性疼痛に共通した炎症性マクロファージの役割が示唆された。

(2) マクロファージの活性化とアロディニア

マクロファージの活性化が痛覚閾値に及ぼす影響を評価した。Cx3cr1-hM3Dq マウスの坐骨神経周囲に CNO を局所投与し、マクロファージにおいて Gq-DREADD を誘導すると、投与 1 日後において機械的アロディニアが惹起された。またその影響は CNO の用量に依存的であり、CNO の全身投与でも同様の効果が認められた。さらにマウスの腹腔より採取したマクロファージをリポ多糖で活性化させて

坐骨神経周囲に移植した場合においても、同様に機械的アロディニアが惹起され、マクロファージの活性化は異常な痛み誘発と密接に関わることが明らかになった。



(3) マクロファージの抑制によるアロディニア改善効果

マクロファージの抑制がアロディニアに及ぼす影響を評価した。Cx3cr1-hM4Di マウスを用いて末梢神経傷害性モデルおよび抗がん薬誘発性モデルを作製し、CNO を投与して Gi-DREADD を誘導すると、それぞれのモデルにおけるアロディニアがいずれも抑制された。また我々がマクロファージ抑制薬としての特徴付けを行ってきた TC-2559 などの 4 2 ニコチン性アセチルコリン受容体アゴニストを坐骨神経周囲や全身に反復投与すると、各種の神経障害性疼痛モデルマウスにおけるアロディニアが抑制された。その効果は病態の進行度に関わらず、さらに雌雄ともに同様の有効性が認められたことから、炎症性マクロファージを標的としたアプローチが神経障害性疼痛の治療において有望であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 9件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ding H, Kiguchi N, Mabry KM, Kishioka S, Ko MC.	4. 巻 223
2. 論文標題 Functional consequences of short-term exposure to opioids versus cannabinoids in nonhuman primates.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 109328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2022.109328.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kiguchi N, Ko MC.	4. 巻 93
2. 論文標題 Potential therapeutic targets for the treatment of opioid abuse and pain.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Adv Pharmacol	6. 最初と最後の頁 335-371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.apha.2021.09.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kiguchi N, Ding H, Park SH, Mabry KM, Kishioka S, Shiozawa Y, Alfonso Romero-Sandoval E, Peters CM, Ko MC.	4. 巻 198
2. 論文標題 Functional roles of neuromedin B and gastrin-releasing peptide in regulating itch and pain in the spinal cord of non-human primates.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Pharmacol	6. 最初と最後の頁 114972
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bcp.2022.114972.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ding H, Trapella C, Kiguchi N, Hsu FC, Calo G, Ko MC.	4. 巻 135
2. 論文標題 Functional Profile of Systemic and Intrathecal Cebranopadol in Nonhuman Primates.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anesthesiology	6. 最初と最後の頁 482-493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ALN.0000000000003848	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kiguchi N, Fukazawa Y, Saika A, Uta D, Saika F, Nakamura TY, Ko MC, Kishioka S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Chemogenetic activation of central gastrin releasing peptide expressing neurons elicits itch related scratching behavior in male and female mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmacol Res Perspect	6. 最初と最後の頁 e00790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prp2.790	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 該当する

1. 著者名 Saika F, Matsuzaki S, Kishioka S, Kiguchi N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Chemogenetic Activation of CX3CR1-Expressing Spinal Microglia Using Gq-DREADD Elicits Mechanical Allodynia in Male Mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 874-874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10040874	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 該当する

1. 著者名 Kiguchi N, Ding H, Kishioka S, Ko MC.	4. 巻 20
2. 論文標題 Nociceptin/Orphanin FQ Peptide Receptor-Related Ligands as Novel Analgesics.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Curr Top Med Chem	6. 最初と最後の頁 2878
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1568026620666200508082615.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Saika F, Matsuzaki S, Kobayashi D, Ideguchi Y, Nakamura TY, Kishioka S, Kiguchi N.	4. 巻 11
2. 論文標題 Chemogenetic Regulation of CX3CR1-Expressing Microglia Using Gi-DREADD Exerts Sex-Dependent Anti-Allodynic Effects in Mouse Models of Neuropathic Pain.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Pharmacol	6. 最初と最後の頁 925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2020.00925.	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 -

1. 著者名 Kiguchi N, Ding H, Cami-Kobeci G, Sukhtankar DD, Czoty PW, DeLoid HB, Hsu FC, Toll L, Husbands SM, Ko MC.	4. 巻 122
2. 論文標題 BU10038 as a safe opioid analgesic with fewer side-effects after systemic and intrathecal administration in primates.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Br J Anaesth	6. 最初と最後の頁 e146-e156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bja.2018.10.065.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayashi D, Kiguchi N, Saika F, Kishioka S, Matsuzaki S.	4. 巻 Epub
2. 論文標題 Insufficient efferocytosis by M2-like macrophages as a possible mechanism of neuropathic pain induced by nerve injury.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.02.032.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kiguchi N, Uta D, Ding H, Uchida H, Saika F, Matsuzaki S, Fukazawa Y, Abe M, Sakimura K, Ko MC, Kishioka S.	4. 巻 170
2. 論文標題 GRP receptor and AMPA receptor cooperatively regulate itch-responsive neurons in the spinal dorsal horn.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 108025
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2020.108025.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 5件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木口倫一, 雑賀史浩, 波多野裕, 日野信次朗, 鈴木堅太郎
2. 発表標題 脊髄ミクログリアの性差はアンドロゲンによって決定される
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会・第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木口倫一
2. 発表標題 GRPIによる霊長類のかゆみ調節機構
3. 学会等名 環境医学研究所・順天堂かゆみ研究センター第8回学術シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木口倫一
2. 発表標題 ミクログリアの性差と神経障害性疼痛
3. 学会等名 痛みの研究会2021（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木口倫一， 雑賀史浩
2. 発表標題 脊髄ミクログリアによる性依存的なアロディニア誘発作用
3. 学会等名 第43回日本疼痛学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木口倫一
2. 発表標題 ノシセプチン受容体を標的とする新規オピオイド化合物の薬効評価
3. 学会等名 第138回日本薬理学会近畿部会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木口倫一, 鈴木堅太郎
2. 発表標題 神経障害性疼痛モデルマウスに及ぼすミクログリア阻害薬PLX3397の性依存的な抑制効果
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木口倫一, Mei-Chuan Ko
2. 発表標題 脊髄における痒み応答ニューロンの役割.
3. 学会等名 第13回日本緩和医療薬学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸岡史郎, 木口倫一, 雑賀史浩
2. 発表標題 末梢性神経障害性疼痛治療薬としてのニコチン受容体作動薬の可能性.
3. 学会等名 令和元年度東北医科薬科大学創薬研究センターシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 雑賀史浩, 木口倫一, 小林大地, 松崎伸介
2. 発表標題 神経障害性疼痛モデルマウスにおけるDREADDシステムを用いたマクロファージ/ミクログリア活性操作.
3. 学会等名 第41回日本疼痛学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 雑賀史浩, 木口倫一, 小林大地, 出口雄也, 松崎伸介, 岸岡史郎
2. 発表標題 DREADDシステムを用いたマクロファージ/ミクログリア機能制御が神経障害性疼痛モデルに及ぼす疼痛抑制効果.
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

〔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
研究分担者	木口 倫一 (Kiguchi Norikazu) (90433341)	和歌山県立医科大学・薬学部・准教授 (24701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	ウェイクフォレスト大学		