

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：37407

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19858

研究課題名（和文）神経因性疼痛における運動療法効果とそのメカニズムについて

研究課題名（英文）Effects and Mechanisms of Exercise Therapy in Neuropathic Pain

研究代表者

角園 恵（Sumizono, Megumi）

九州看護福祉大学・看護福祉学部・講師

研究者番号：20837752

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：神経因性を継続させるには脊髄後角において、アストロサイト上に発現するTRAF6の発現が重要である可能性がある本研究においてもその可能性が示唆された。そして、定期的な運動によりTRAF6を抑制し、疼痛緩和効果が得られることが示唆された。

神経因性疼痛は、記憶中枢である海馬において、神経因性疼痛より神経新生機能に異常をきたす。本研究において、神経新生細胞マーカーであるDCX及び神経新生に必要な中間前駆細胞のマーカーであるProx1の増加を確認することができた。これらのことより海馬歯状回において、定期的な運動は神経因性疼痛により異常をきたした神経新生機能を改善させることができることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経因性疼痛患者は痛みによって日常生活や社会生活により多くの支障をきたす。しかし、神経因性疼痛は効果的に治療することは非常に困難である。神経因性疼痛の薬理的治療は限られており、患者の40～60%が疼痛の部分的緩和を得られていないのが現状である。

神経因性疼痛のメカニズムの解明及び定期的な運動による効果を検証することは、より効果的な治療を実施することが可能となる。本研究はその一助となる可能性が高い研究成果となり得る。

研究成果の概要（英文）：The possibility that the expression of TRAF6 on astrocytes in the dorsal horn of the spinal cord may be important for the continuation of neuropathic effects was suggested in this study. The results suggest that regular exercise suppresses TRAF6 and provides pain relief.

Neuropathic pain causes more abnormal neurogenic function in the hippocampus, the memory center, than neuropathic pain. In this study, we confirmed an increase in DCX, a marker of neurogenic cells, and Prox1, a marker of intermediate progenitor cells necessary for neurogenesis. These findings suggest that regular exercise can improve neurogenic function in the hippocampal dentate gyrus, which is abnormal due to neuropathic pain.

研究分野：神経障害学、リハビリテーション

キーワード：神経因性疼痛 グリア細胞 CCR2 TRAF6 海馬歯状回 神経新生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国際疼痛学会(IASP)は、疼痛の定義を「実際の潜在的な組織損傷に関連する、または、そのような損傷に関連して説明された不快な感覚的及び感情的な経験である」と1979年に定義した。しかし、定義されて約40年経過した今、疼痛の定義を「実際のまたは潜在的な組織の損傷に関連する、または関連するものに似た不快な感覚及び感情的な経験」と2020年に再定義した¹。また、ICD-11における慢性神経因性疼痛の正確な分類は、公衆衛生上の必要性和慢性神経因性疼痛に関連する治療上の課題を文書化するために必要である²と述べる程に慢性的な神経因性疼痛は、世界的な疾患負担の大きな要因となっており、慢性疼痛が世界中で現在および将来の罹患率の障害の原因として最も重要であり、罹患患者数、障害損失数ともに大幅に増加しており、有病率も横ばいまたは上昇傾向にある³。そして、神経因性疼痛の人口有病率は6.9%から10%とされている⁴。

臨床症状としては、自発痛、灼熱痛などの病理学的疼痛状態および痛覚過敏を特徴とする。神経因性疼痛を有する患者は、末梢神経の損傷を受けた皮膚領域の異常な感覚または過敏症を頻繁に呈する。疼痛の定義を世界疼痛学会が再定義するほどに疼痛の有病率は高く、そして、さらに神経因性疼痛患者は痛みによって日常生活や社会生活により多くの支障をきたす。しかし、神経因性疼痛は効果的に治療することが非常に困難である。神経因性疼痛の薬理的治療は限られており、患者の40~60%が疼痛の部分的緩和を得られていないのが現状である⁵。治療に対するヒトや動物における治療効果、メカニズムについて様々な報告がされているが未だ不明瞭な点が多い。

2. 研究の目的

神経因性疼痛モデルラットにおける定期的な運動による疼痛緩和作用の効果をより詳細に検証し、メカニズムの解明を行い、加えて、海馬における神経因性疼痛による影響を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

神経損傷モデルとして4本の結紮系(4-0絹)を約1mmの間隔で右坐骨神経の周りにゆるく結んだ絞扼性神経損傷モデル(Chronic Constriction Injury:CCI)を使用してモデルを作成。CCIモデルを作成し、Ex群とNo-Ex群と正常なラット(Normal群)の3つのグループに無作為に分けて実施した。運動介入はトレッドミルを使用して、20m/minの速度で30分実施し、CCI後5週間行った。50%疼痛反応閾値を機械的刺激で評価した。免疫組織化学において脊髄後角におけるグリア細胞(ミクログリアとアストロサイト)の活性化、CC chemokine receptor 2(CCR2)及びTumor necrosis factor (TNF) receptor-associated factor 6(TRAF6)の活性化を検討した。さらに海馬歯状回ではdoublecortin (DCX)及びProspero homeobox protein 1 (Prox1)の発現を検討した。

4. 研究成果

神経因性疼痛の発症にCC chemokine ligand 2 (CCL2) / CCR2依存性のメカニズムが重要な役割を示し、CCL2-CCR2結合がN-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR)を介した中枢性感作に関与し、神経障害性疼痛の発症と維持に関与する⁶。ケモカインは、神経細胞とグリア細胞におけるリガンド受容体の分布の違いにより、グリア細胞活性化を誘発するかあるいは脊髄神経細胞の興奮性シナプス伝達を促進し中枢感作を誇張する⁷。さらに神経損傷は迅速なミクログリアの活性化と遅延し持続するアストロサイト活性化を引き起こす^{8,9}。我々の実験においても神経損傷によりCCI後3週の脊髄後角ではミクログリアがNormal群と比較してNo-Ex群が有意に増加を示し、CCI後5週においても有意に増加を示しミクログリア活性化が継続している。一方、アストロサイトはというとNormal群と比較してNo-Ex群CCI後3週で有意に増加を示したが、CCI後5週ではさらに高い有意差を示し、増加していた。あわせてケモカイン受容体であるCCR2をみるとNormal群と比較してNo-Ex群がCCI後3週、5週ともに有意に増加を示していた。さらにアストロサイトに発現するTRAF6はというと、TNF- α およびIL-1シグナル伝達を結合し、アストロサイトのJNK/CCL2経路を活性化することにより、神経因性疼痛を維持する¹⁰。本研究においては、CCI後3週、5週ともにNormal群とNo-Ex群を比較するとアストロサイトでは有意に増加を示していたが、有意差を示さなかった。結果より、神経因性疼痛の発症にはミクログリアの関与が高く、維持にはミクログリアの活性化ではなくアストロサイトの関与が高い可能性がある。そして、神経因性疼痛の維持にはアストロサイト上に発現するTRAF6の発現が重要である。なぜならTRAF6は活性化の継続は、アストロサイトのJNK/CCL2経路を活性化のすることにより1次終末やミクログリアにおいてCCL2の受容体であるCCR2の受容体及びミクログリア上のCCR2受容体の活性化の要因となる可能性があるかもしれないからである。さらに、TRAF6は、これらの受容体の活性化を下流シグナルにつなげることで、適応免疫、自然免疫、炎症、組織恒常性など、様々な生理的・病的プロセスにおいて重要な機能を発揮し、重要な治療のターゲットとなりうる可能性が高い¹¹。

神経因性疼痛における運動療法効果については、CCI 後 3 週の脊髄後角におけるミクログリア及びアストロサイトはというと No-Ex 群と Ex 群を比較して、Iba1 のみ有意に低下を示す結果となった。CCR2 はというと神経損傷後に Iba1 の発現増加に伴っての CCR2 も増加を示すがことを前述したが、No-Ex 群と Ex 群を比較すると有意に Ex 群で低下を示して、運動によりミクログリアの活性化抑制とケモカイン受容体の抑制の効果を示していた。アストロサイトはというと神経損傷により活性化するものの No-Ex 群と Ex 群を比較すると有意差は確認されなかった。しかし、TRAF6 は No-Ex 群と Ex 群を比較するとわずかではあるが有意差を示した。CCI 後 5 週の脊髄後角では、Iba1 は No-Ex 群と Ex 群を比較すると Ex 群は有意に低下を示し、運動によりミクログリアの活性化が抑制された。CCR2 においても同様に No-Ex 群と Ex 群を比較すると Ex 群が有意に低下を示していた。一方、CCI 後 5 週の GFAP はといと No-Ex 群と Ex 群を比較すると 3 週にと比較しても高い有意差を示し、運動によって抑制されていることが確認された。併せて、アストロサイトに活性化に関与する TRAF6 も No-Ex 群と Ex 群を比較すると Ex 群が有意に低下を示し、Ex 群で発現が抑制されていた。

神経因性疼痛が海馬歯状回に与える影響については、最近の研究において、神経因性疼痛発症により海馬歯状回に病的炎症の徴候が現れ、記憶破壊を伴う神経新生の低下つまり DCX の低下につながると報告されている¹²。さらに成体の神経発生における中間前駆細胞の維持に必要な Prox1 の欠如は DCX 細胞のアポトーシス増加と成人の神経新生の欠如につながると報告されている¹³。本研究において、神経新生細胞マーカーである DCX と神経発生において中間前駆細胞の維持に必要な Prox1 の検証を行い、加えて運動療法効果についても検証を行った。まず、CCI 後 3 週においては Normal 群と No-Ex 群を比較すると有意差は確認されていない。一方、No-Ex 群と Ex 群を比較すると有意に増加を示し、神経新生は活性化傾向にあった。Prox1 はというと、Normal 群と No-Ex 群及び Normal 群と Ex 群を比較すると高い有意差を示し、No-Ex 群と Ex 群が Normal 群と比較して低下している。成体の歯状回では、生涯を通じて新しい神経細胞が生成され、哺乳類の脳は、成体海馬ニューロン新生と呼ばれる過程を経ている。海馬を介した行動、シナプス可塑性及び神経新生は、治療アプローチが特に困難である神経因性疼痛において異常を示す¹⁴。この結果は、CCI 後 3 週において神経因性疼痛により中間前駆細胞が維持できない状態に陥っている可能性を示しているかもしれない。さらに CCI 後 5 週では、Normal 群と No-Ex 群を比較すると有意に No-Ex 群が低下を示した。Prox1 においては継続して Normal 群と No-Ex 群及び Normal 群と Ex 群を比較すると高い有意差を示し低下しているが、No-Ex 群と Ex 群を比較すると Ex 群が有意に高く増加を示していた。

CCI 後 5 週はというと DCX では、Normal 群と No-Ex 群を比較すると有意に No-Ex 群が低下を示し、神経新生が低下していた。No-Ex 群と Ex 群を比較すると Ex 群が有意に増加を示し、神経新生が運動介入により活性化されていた。Prox1 は、CCI 後 5 週で Normal 群と No-Ex 群を比較すると No-Ex 群が有意に低下を示しており、神経因性疼痛の慢性化は神経中間前駆細胞の維持が困難な状態に陥っている可能性があるかもしれない。No-Ex 群と Ex 群を比較すると Ex 群が有意に高く増加を示している。しかし、Normal 群と Ex 群を比較すると Ex 群が有意に低下を示している。これは、神経因性疼痛により中間前駆細胞の維持に影響はあるものの運動により回復傾向にあるのではないかと考えられる。神経因性疼痛により神経新生に必要な中間前駆細胞の維持が困難な状況が CCI 後 3 週で観察され、CCI 後 5 週では、神経因性疼痛による中間前駆細胞の維持がやや困難な状況ではあるが運動により維持されることで神経新生が促進される結果となった可能性がある。慢性疼痛が海馬に依存した記憶形成、特に空間記憶を損なうことを示唆する文献がヒトとげっ歯類の両モデルで実証されており、急性疼痛ではなく、慢性疼痛のみが空間記憶形成を阻害することが報告されている¹⁵。臨床的観察によると、慢性的な痛みを抱える患者の多くは不安や抑うつが増加しており、感情的な痛みの要素が重要となってくる¹⁶。神経因性疼痛の発症によって引き起こされる認知及び情動行動障害は、海馬神経新生障害を伴う¹⁷。そして、神経因性疼痛は、新生細胞の生存率低下と並行して海馬歯状回領域における成熟神経細胞への分化を阻害することも報告されている¹⁸。運動の効果については、運動は疼痛の発症を防ぎ損傷後の痛みを解消する働きをし、運動誘発性鎮痛のトピックスについて発表された 58/64 (90%) の記事はわずか 1 回での活動で運動のプラスの効果を示していることが報告されている。我々の研究においても CCI 後 3 週において神経因性疼痛による神経新細胞の発現低下が確認されている。しかし、運動により最も影響が出ると考えられる CCI 5 週においては神経新生細胞マーカーである DCX 及び神経新生に必要な中間前駆細胞のマーカーである Prox1 の増加を確認することができた。これらのことより定期的な運動は神経因性疼痛を緩和し、海馬歯状回に神経因性疼痛により異常をきたした神経新生機能を改善させることを示唆した。

<参考文献>

1. Raja, S. N. *et al.* The Revised IASP definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain* **161**, 1976 (2020).
2. Scholz, J. *et al.* The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain. *Pain* vol. 160 53-59 (2019).
3. Rice, A. S. C., Smith, B. H. & Blyth, F. M. Pain and the global burden of disease. *Pain* **157**, 791-796 (2016).

4. van Hecke, O., Austin, S. K., Khan, R. A., Smith, B. H. & Torrance, N. Neuropathic pain in the general population: A systematic review of epidemiological studies. *Pain* vol. 155 654-662 (2014).
5. Dworkin, R. H. *et al.* Pharmacologic management of neuropathic pain: Evidence-based recommendations. *Pain* vol. 132 237-251 (2007).
6. Piotrowska, A. *et al.* Direct and indirect pharmacological modulation of CCL2/CCR2 pathway results in attenuation of neuropathic pain - In vivo and in vitro evidence. *Journal of Neuroimmunology* **297**, 9-19 (2016).
7. Zhang, Z. J., Jiang, B. C. & Gao, Y. J. Chemokines in neuron-glia cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain. *Cellular and Molecular Life Sciences* vol. 74 3275-3291 (2017).
8. Kubičková, L., Klusáková, I. & Dubový, P. Bilateral activation of glial cells and cellular distribution of the chemokine CCL2 and its receptor CCR2 in the trigeminal subnucleus caudalis of trigeminal neuropathic pain model. *Histochemistry and Cell Biology* **153**, 239-255 (2020).
9. Xu, J. *et al.* Astrocyte-derived CCL2 participates in surgery-induced cognitive dysfunction and neuroinflammation via evoking microglia activation. *Behavioural Brain Research* **332**, 145-153 (2017).
10. Lu, Y. *et al.* TRAF6 upregulation in spinal astrocytes maintains neuropathic pain by integrating TNF- and IL-1 signaling. *Pain* **155**, 2618-2629 (2014).
11. Wu, H. & Arron, J. R. TRAF6, a molecular bridge spanning adaptive immunity, innate immunity and osteoimmunology. *BioEssays* vol. 25 1096-1105 (2003).
12. Egorova, E., Starinets, A., Tyrtysnaia, A., Ponomarenko, A. & Manzhulo, I. Hippocampal Neurogenesis in Conditions of Chronic Stress Induced by Sciatic Nerve Injury in the Rat. *Cells Tissues Organs* **207**, 58-68 (2019).
13. Lavado, A., Lagutin, O. v., Chow, L. M. L., Baker, S. J. & Oliver, G. Prox1 Is required for granule cell maturation and intermediate progenitor maintenance during brain neurogenesis. *PLoS Biology* **8**, 43-44 (2010).
14. Grilli, M. Chronic pain and adult hippocampal neurogenesis: Translational implications from preclinical studies. *Journal of Pain Research* **10**, 2281-2286 (2017).
15. Xia, S. H. *et al.* Chronic Pain Impairs Memory Formation via Disruption of Neurogenesis Mediated by Mesohippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling. *Biological Psychiatry* **88**, 597-610 (2020).
16. Manzhulo, I. *et al.* Modulation of hippocampal astroglial activity by synaptamide in rats with neuropathic pain. *Brain Sciences* **11**, (2021).
17. Somelar, K. *et al.* Development of depression-like behavior and altered hippocampal neurogenesis in a mouse model of chronic neuropathic pain. *Brain Research* **1758**, (2021).
18. Lesnak, J. B. & Sluka, K. A. Mechanism of exercise-induced analgesia: what we can learn from physically active animals. *Pain Reports* vol. 5 E850 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------