

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2023
課題番号：20K16511
研究課題名（和文）線維筋痛症モデルにおけるミクログリアを介したリゾホスファチジン酸分子機構の解明

研究課題名（英文）Lysophosphatidic acid molecular mechanisms mediated by microglia in a fibromyalgia model

研究代表者
根山 広行（Neyama, Hiroyuki）

京都大学・医学研究科・特定研究員

研究者番号：70846609
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）：本研究では、 $[18F]FDG$ 、 $[18F]DPA-714$ を用いたPositron Emission Tomography (PET)を行った。線維筋痛症(FM)モデルにおいてMedial Thalamus(MT)といった慢性疼痛に密接に関連している脳領域で有意なFDGの集積が見られた。これらの集積はLPA1受容体ノックアウトマウスで消失した。続いて、ミクログリア活性化による痛みの責任領域について検証した。 $[18F]DPA-714$ は、FM様モデルにおいてMTで有意な集積が見られたため、MTにおけるミクログリア、LPAを介した神経活動異常が痛みを引き起こす原因である可能性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線維筋痛症は原因不明の難治性疼痛疾患である。病態特異的な身体的変化を伴わないため診断も難しい疾患である。そのため、適切なバイオマーカーや病態メカニズムに沿った治療薬の開発が望まれている。本研究の成果は、LPA1受容体およびミクログリアが痛みの情動に関わる内側系関連領域で同時にもしくは相互に作用し、疼痛病態を形成していることを示唆しており、線維筋痛症の病態メカニズムの解明および線維筋痛症におけるバイオマーカー・治療薬ターゲットの創出につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, Positron emission tomography (PET) with $[18F]FDG$, $[18F]DPA-714$ was performed. In a Fibromyalgia (FM) model, significant FDG accumulation was found in brain regions closely involved in pain modulation, such as the medial thalamus (MT). These accumulations were abolished in LPA1 receptor knockout mice. We then examined the regions responsible for pain by microglia activation. Significant accumulation of $[18F]DPA-714$ was found in MT in an FM-like model, suggesting that abnormal neural activity mediated by microglia and LPA in MT is responsible for pain.

研究分野：神経科学

キーワード：線維筋痛症 リゾホスファチジン酸 ミクログリア

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

線維筋痛症(FM)は、原因不明の難治性疼痛疾患である。FMの特徴として、長期間の疼痛が続き、女性に多い疾患であること、抗うつ薬が効果を示すこと、オピオイドの有効性が低いことが臨床所見ではみられるが、詳細な病態メカニズムについてはいまだ明らかになっていない。治療薬としてプレガバリン、デュロキセチンが承認されており、大きく治療に貢献している。しかしながら、眠気、ふらつきなどの副作用から治療満足度は低く、効果に対するエビデンスも低い。そのため、病態メカニズムの解明および線維筋痛症に特化した治療薬の創出が望まれている。これまでに申請者は、寒冷ストレスおよび心理的ストレス誘発性の線維筋痛症様病態モデルを確立し、FMの病態解明に努め、様々な創薬候補を見出してきた。これらの病態モデルは、様々な刺激(熱、機械、筋肉、電気)に対する長期間の疼痛が生じ、雌性優位な疼痛、鎮痛薬であるモルヒネが無効であるといった、FMの臨床症状に大きく類似したモデルである。特に重要な所見として、病態メカニズムに関して、これらの病態モデル動物における慢性疼痛がLPA1受容体を介して引き起こされることがわかっている。しかしながら、LPAがどの脳領域でどのように作用しているか、詳細な病態メカニズムは不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、脳におけるLPAがどの領域でどのように痛みを引き起こすか検証することである。近年、FMにおいて、ミクログリアによる脳内炎症の関与が注目されている。これまでにLPAがミクログリアを活性化することがわかっているが、どの領域でミクログリアを活性化し、どのように作用しているか不明である。本研究では、LPAが関与する脳領域およびミクログリアに着目した病態メカニズムについて Positron Emission Tomography (PET)を用いた検証を行った。

3. 研究の方法

FM様病態モデル動物において、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 及び $[^{18}\text{F}]\text{DPA-714}$ による Positron Emission Tomography (PET) 撮像および解析を行った。

動物モデル

(1) 断続的繰り返し寒冷ストレス曝露モデル(ICSモデル)

マウスを夜間(16:30-10:00)は低温環境下(4°C)で飼育し、昼間(10:00-16:30)は、30分おきに室温環境(24°C)と低温環境(4°C)の異なる環境を行き来するストレスを与え、このストレスを2日間繰り返した。対照群は、夜間および昼間の間、連続して室温環境下(24°C)で飼育したマウスを用いた。

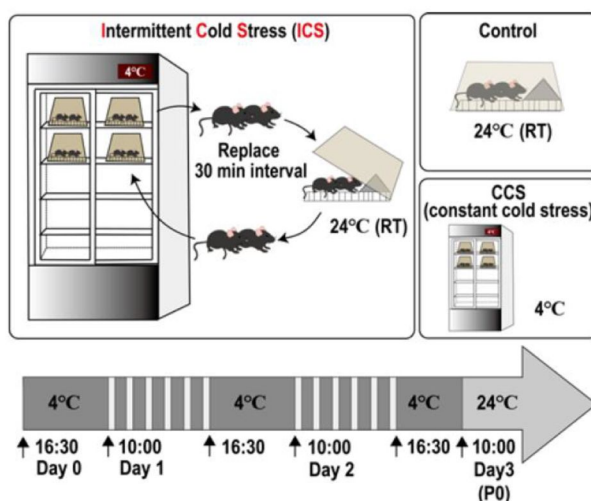


図1: ICSモデル作成法

(2) Poly I:C投与誘発性脳内炎症モデル

Poly I:Cは、人工の2本鎖RNAで炎症を惹起し、疑似感染を引き起こす。このモデルは、線維筋痛症と非常に類似した症例である慢性疲労症候群モデルとして考えられており、脳内炎症を引き起こし、活動量の低下及びアロディニアを示す。

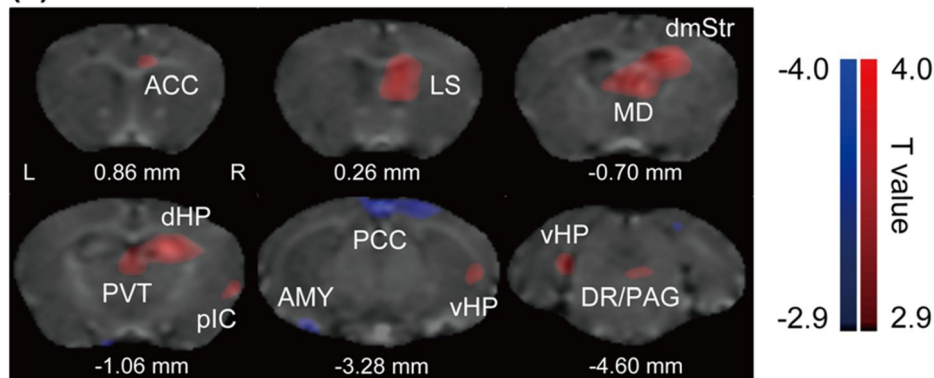
4. 研究成果

本研究で得られた成果は以下の通りである。

(1) FM モデルにおける LPA を介した病態責任脳領域の同定

FM モデルにおいて、LPA がどの脳領域で作用しているか検証するために、神経活動依存的に集積することが知られている $^{[18F]}$ FDG を使用して、PET 撮像を行った。Control と FM モデルにそれぞれ Formalin による侵害刺激を与え、痛み伝達回路のどの領域が、活性化しているかについて評価した。PET 撮像し、PET 画像を SPM 解析したところ、anterior Cingulate Cortex (ACC), Insula Cortex (IC), medial thalamus など痛みに密接に関わっている脳領域で有意な FDG の集積を示した(図 2-a)。さらに、これらの有意な集積は LPA1 受容体ノックアウトマウス (LPA1-KO) によって、消失した(図 2-b)。この結果は、LPA1 受容体を介して、疼痛関連領域、特に痛みの情動に密接に関与する内側系関連領域の神経活動上昇が引き起こされていることを示している。

(a) WT: ICS + Formalin vs. Formalin Alone



(b) LPA1-KO: ICS + Formalin vs. Formalin Alone

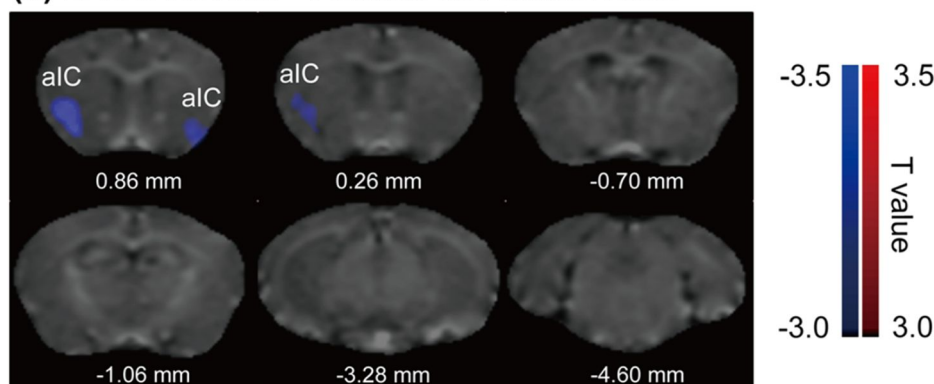


図 2: ICS モデルにおける $^{[18F]}$ FDG 集積の増加と LPA1 受容体ノックアウトマウスにおける集積増加の消失

(2) Poly I:C 誘発性脳内炎症モデルにおけるミクログリアを介した痛みの脳内責任部位の同定
脳内ミクログリアと痛みの関係について調べるために、 $^{[18F]}$ DPA-714 を用いた PET 撮像を行い、その集積部位について SPM 解析を行った。動物モデルは、線維筋痛症に類似した病態を示す慢性疲労症候群のモデルである Poly I:C 疑似感染モデルを使用した。Poly I:C は、2 本鎖 RNA ウィルスであり、Poly I:C(10mg/kg)を腹腔内投与することで脳内ミクログリアを活性化し、脳内炎症を引き起こす。また、Poly I:C 投与後に痛みを惹起するかどうか調べたところ、投与後 1 日目に有意なアロディニアが観察された。Poly I:C(10 mg/kg)を腹腔内投与して 1 日後に $^{[18F]}$ DPA-714 による PET 撮像し、SPM 解析を行ったところ、Saline 群と比べて Poly I:C 群では多くの領域でミクログリアの集積が見られた。この中で非常に強い集積を示した領域のうち Red Nucleus, Dorsal raphe などは活動量の低下と相関を示し、疲労との関連が示唆された。その一方で、痛みに大き

く関連する Ventrolateral thalamus など内側系関連領域や Parabrachial Nucleus, Dorsolateral periaqueductal gray など中脳領域でもミクログリアの集積が見られたが、活動量の低下とは相関しなかったため、その他の症状への関与が示唆され、これらの領域と痛みとの関与が示唆された。

以上の結果から、LPA1 受容体を介した神経活動亢進が内側系関連領域で見られたと同時に、内側系関連領域におけるミクログリア活性化の痛みへの関与が明らかになったことから、内側系の LPA1 受容体を介したミクログリアの活性化が線維筋痛症様の疼痛症状を引き起こしている可能性が明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Cui Y, Neyama H, Hu D, Huang T, Hayashinaka E, Wada Y, Watanabe Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 FDG PET Imaging of the Pain Matrix in Neuropathic Pain Model Rats.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 63-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines11010063	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 Ueda H, Neyama H	4. 巻 12
2. 論文標題 Fibromyalgia Animal Models Using Intermittent Cold and Psychological Stress	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 56-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines12010056	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 Li D, Hu D, Ochi Y, Arakaki W, Mawatari A, Shigeta M, Wu Y, Hayashinaka E, Neyama H, Tahara T, Wada Y, Li F, Doi H, Watanabe Y, Cui Y.	4. 巻 14
2. 論文標題 Regional neuroinflammation induced by peripheral infection contributes to fatigue-like symptoms: a [18F]DPA-714 positron emission tomography study in rats.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1261256-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2023.1261256	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 Neyama Hiroyuki, Nishiyori Michiko, Cui Yilong, Watanabe Yasuyoshi, Ueda Hiroshi	4. 巻 56
2. 論文標題 Lysophosphatidic acid receptor type 1 mediates brain activation in micro positron emission tomography analysis in a fibromyalgia like mouse model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4224 ~ 4233
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ejn.15729	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 根山広行、武玉萍、清水朋子、加藤成樹、井上美智子、渡辺恭良、小林和人、崔翼龍
2. 発表標題 条件付け誘発性のプラセボ鎮痛はmedial prefrontal cortex-ventrolateral periaqueductal gray回路の活性化を介する
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 根山広行、武玉萍、清水朋子、加藤成樹、渡辺恭良、小林和人、崔翼龍
2. 発表標題 急性及び慢性疼痛におけるmPFC-vIPAG回路を介した下行性疼痛調節機構
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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