

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17773

研究課題名（和文）上位中枢におけるオキシトシンの非侵害・侵害刺激に対する影響とその緩和因子の検討

研究課題名（英文）Examination of the effect of oxytocin on non-nociceptive and nociceptive stimuli in the upper central nervous system and the mitigation factor

研究代表者

齊藤 和智（Saito, Kazutomo）

東北大学・医学系研究科・講師

研究者番号：60770740

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）：野生型マウス、オキシトシンノックアウトマウス、受容体ノックアウトマウス、受容体ノックアウト部位に蛍光タンパクVenusをノックインしたマウスを用いて、行動実験を行い、情動反応、侵害刺激および非侵害刺激に対する反応へのオキシトシンの影響を観察した結果、Hargreaves試験とvon-Frey試験で有意差を認めた。有意差を認めた脳切片標本に対して、神経活性化マーカーであるc-fosに対する抗体を用いてオキシトシン受容体との共局在を検討し、オキシトシンが中脳水道灰白質を介して鎮痛作用を、扁桃体内側核および側坐核を介して情動に対する作用を及ぼすことを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

侵害刺激および痛み刺激に対するオキシトシンおよびオキシトシン受容体の局在ならびに役割、さらには、関連するイオンチャネルもしくは受容体を明らかにすることで、それぞれの反応に対する鎮痛作用もしくは抗ストレス作用を発揮する薬物候補を検索することが可能となる。加えて、脳内のオキシトシン受容体を介した疼痛制御のメカニズムを解明し、本結果を行動学的試験にフィードバックすることで、臨床応用の可能性を探る。

研究成果の概要（英文）：Behavioral experiments were conducted using wild-type mice (WT), oxytocin knockout mice (Oxt^{-/-}), receptor knockout mice (Oxtr^{-/-}) and mice Oxtr^{Venus/+} in which the fluorescent protein Venus was knocked in at the receptor knockout site. As a result of observing the effects of OXT on responses to nociceptive and non-nociceptive stimuli, a significant difference was observed between the Hargreaves test and the von-Frey test. Furthermore, we examined colocalization with oxytocin receptors using an antibody against (c-fos), a neural activation marker, on brain slices prepared after the Hargreaves test and the von-Frey test, in which a significant difference was found. We showed that oxytocin exerts analgesic effects via the aqueductal gray matter and effects on emotion via the medial amygdala nucleus and nucleus accumbens.

研究分野：麻酔科学

キーワード：オキシトシン 疼痛制御 術後痛

1. 研究開始当初の背景

オキシトシン (oxytocin; OXT) 関連の研究の中心は、自閉スペクトラム症発症との関わりや OXT の経鼻投与によるその治療への有用性である。一方で、疼痛制御には体性感覚への作用のみならず、社会情動系に対する作用も大きく関与しており、心理・社会的疼痛は臨床上、慢性および難治性疼痛を引き起こす危険因子でもある。本研究により、OXT が社会行動制御だけでなく、疼痛制御にも関与することが明らかとなれば、新たな鎮痛治療の開発に繋がるものと期待される。しかしながら、OXT の疼痛ストレスに対する研究は、いずれも脊髄での痛覚反射に対する検討であり、上位中枢における OXT と疼痛の関連を対象とした研究は極めて少ない。本研究では、中枢神経系のうち、脳内 OXT 受容体に焦点を当て、様々な侵害刺激や非侵害刺激に対する OXT が果たすメカニズムを解明する。

2. 研究の目的

脳内の OXT 受容体に依存する疼痛制御やその軽減機構が存在するか否か、また、存在するのであれば、どのようなメカニズムでその機構が作用するのかなど、OXT 受容体系が痛覚とストレスに与える影響を上位中枢レベルで解明する。さらに、脳内の OXT 受容体を介した新たな疼痛制御のメカニズムを解明することで、新規化合物等の検索とその臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

本研究では OXT リガンドノックアウトマウス(*oxtr*^{-/-})、OXT 受容体ノックアウトマウス(*oxtr*^{-/-})と野生型マウス (Wild Type: WT) を各々用いる。いずれも 6 週齢のマウスを使用し、雄および雌の両者で行い、性差との関連も検討する。

マウス交配にて、ノックアウトマウス(-/-)および野生型マウス(+/+)を作成したのちに、行動試験としては、Open field 試験、Light/Dark 試験、Hargreaves 試験、von-Frey 試験を行い、情動反応、侵害刺激および非侵害刺激に対する反応への OXT の影響を観察する。さらに脳切片標本を用いて、神経活性化因子である c-fos 活性の発現が最大とされる侵害刺激 90 分後に脳内 c-fos と OXT 受容体の発現頻度を抗 c-fos 抗体と抗 OXT 抗体による免疫染色にて観察する。

さらに、時間的猶予があれば、パッチクランプ法を用いた電気生理学的研究により、神経刺激に対する活動性の観察と関連するイオンチャネルおよび受容体の検索を行う。各種鎮痛薬および OXT 投与が神経機能にどのような影響を与えるかも観察する。

4. 研究成果

6 週齢の野生型マウス WT、オキシトシンノックアウトマウス *Oxt*^{-/-}、受容体ノックアウトマウス *Oxtr*^{-/-}、そして受容体ノックアウト部位に蛍光タンパク Venus をノックインしたマウス *OxtrVenus*^{+/+}を用いて、行動実験を行い、情動反応、侵害刺激および非侵害刺激に対

する反応への OXT の影響を観察した結果、Hargreaves 試験と von-Frey 試験で有意差を認めた。

さらに、有意差を認めた Hargreaves 試験と von-Frey 試験後の脳切片標本に対して、神経活性化マーカーである c-fos に対する抗体を用いてオキシトシン受容体との共局在を検討することで、オキシトシンが中脳水道灰白質を介して鎮痛作用を、扁桃体内側核および側坐核を介して情動に対する作用を及ぼすことを示した(Effects of oxytocin on responses to nociceptive and non-nociceptive stimulation in the upper central nervous system.)。

オキシトシンノックアウトマウス *Oxt*^{-/-}、オキシトシン受容体ノックアウトマウス *Oxtr*^{-/-}を繁殖させるとともに、さらに、免疫組織学的に有意差を認めた脳部位において、定量的評価を行ったが、科研費補助事業期間に終了するには至らず、今後も研究を継続して行く予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hidehisa Saito, Shizu Hidema, Ayano Otsuka, Jun Suzuki, Michio Kumagai, Akihiro Kanaya, Toru Murakami, Yusuke Takei, Kazutomo Saito, Shigekazu Sugino, Hiroaki Toyama, Ryuta Saito, Teiji Tominaga, Katsuhiko Nishimori, Masanori Yamauchi	4. 巻 574
2. 論文標題 Effects of oxytocin on responses to nociceptive and non-nociceptive stimulation in the upper central nervous system.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 8-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.08.042.	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 -

〔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
---------	---------