

令和 4 年 5 月 11 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17811

研究課題名（和文）疼痛の慢性化に関する視床-高次脳領域の神経回路基盤の病態解明

研究課題名（英文）Neural circuit of the thalamus-higher brain regions involved in the chronic pain.

研究代表者

岡田 卓也（OKADA, TAKUYA）

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70792935

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）：疼痛の慢性化に関する神経回路基盤の解明のために、まず化学遺伝学的手法により伝達経路と考えられる視床後核から大脳皮質体性感覚野（S1）の経路の活性を特異的に変化させることで疼痛閾値に影響を及ぼすことがわかった。また、任意の細胞を選択して光刺激が出来る2光子ホログラフィック顕微鏡を使用し、各神経細胞間の機能的結合を評価した結果、疼痛急性期では作製前に比較して周囲の応答する神経細胞数が上昇し、疼痛の改善に伴って応答する神経細胞数が低下することがわかった。本研究により、疼痛の病態形成に視床後核からS1の経路が重要であること、また疼痛急性期にS1神経細胞間の機能的結合が強化されることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みの形成に視床から感覚野（S1）の経路が重要であることが、化学遺伝学的手法という特殊な手法によって視床から感覚野の経路を活性化させたり抑制させることで痛みの閾値が変化することからわかった。また、任意の神経細胞を選択して刺激が出来る2光子ホログラフィック顕微鏡を使用して、痛みの強い時期に感覚野の神経細胞間の結合が強くなることがわかった。本研究により、痛みが慢性することに重要と考えられる局所の神経回路や神経細胞間の特徴が判明した。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the neural circuit of chronic pain, we first used chemogenetics to change the activity of a pathway in the posterior thalamic nucleus to cortical somatosensory cortex (S1), which is thought to be a transmission pain pathway, and found that it affects pain threshold. In addition, using two-photon holographic microscopy, which can selectively stimulate each neuron, we evaluated the functional connections between each neuron and found that the number of responding neurons in the surrounding area increased during the acute phase of pain compared to baseline, and the number of responding neurons decreased as the pain threshold improved. This study demonstrates the importance of the posterior thalamic nucleus to S1 pathway in the formation of pain and the enhancement of functional connections between S1 neurons during the acute phase of pain.

研究分野：神経科学

キーワード：生体イメージング 急性疼痛 神経回路

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

痛みに関する基礎的研究は、近年増加傾向にあるが、痛みの発生や維持に関するメカニズムの詳細な解明には至っておらず、臨床的には今もなお神経障害性痛や手術後に生じる遷延性術後痛などのいわゆる慢性疼痛に多数の患者が苦しんでいるのが現状である。

神経障害性疼痛を有する患者では、自発痛や侵害性刺激に対する痛覚過敏反応だけでなく、触覚などの非侵害性刺激に対しても強い痛み(アロディニア)が生じる。これまで、脊髄後角における神経細胞の興奮性増大(Ru-Rong Ji et al. 2016)やミクログリアやアストロサイトなどグリア細胞の活性化がその発症に関わることに着目した重要な研究が進められてきた(Peng J et al. 2016, Tsuda M et al. 2003)。さらに近年、痛みの識別に関与する大脳皮質第一次体性感覚野(S1)における抑制性神経細胞(Cichon J et al. 2017)やシナプス可塑性変化(Kim SK et al. 2012)およびアストロサイトの関与(Kim SK et al. 2016)、また痛みの情動的側面に関与する前帯状皮質(ACC)における神経活動(Ushida T et al. 2005)およびアストロサイトの関与(Kazumaki N et al. 2007)を示した研究も行われている。また、これまで我々は急性および慢性疼痛モデルにおける生体イメージングによって、S1 興奮性神経細胞の疼痛急性期の自発活動性増加や各細胞間の活動相関性が増加することを示してきた。その中で、視床活動の変化が起こることに着目するに至った。そこで、疼痛伝達路の中継点である視床から投射される神経回路を特異的に操作することで、疼痛の発生や維持に関与するか検討すべく、2光子顕微鏡を用いた生体イメージングによってそのメカニズムを明らかにしようと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、疼痛の慢性化に関与する責任回路を特定し、2光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング法と組み合わせ、慢性疼痛発生および維持期に関与する視床-高次脳領域の神経回路基盤を明らかにすることである。また、局所神経回路の機能結合を評価するために新規光刺激技術であるホログラフィック顕微鏡を用いて光刺激によって1つの神経細胞を刺激した際の周囲の神経細胞の応答を可視化して疼痛形成における神経回路変化の病態を解明し、これまでにない神経回路を標的とした疼痛治療法の構築を目指した。

3. 研究の方法

【令和2年度】

大脳皮質体性感覚野後肢領域(S1HL)に逆行性トレーサーを注入し、視床のどの部位から大脳皮質第一次体性感覚野後肢領域に投射されるか検証した。次に、その部位にアデノ随伴ウイルスを用いてシナプシンプロモーター下にhM3D(Gq)受容体を発現させた後、Clozapine-N-Oxide(CNO)の腹腔内投与により神経細胞活動を慢性的に活性化させる。そして、その活性化がと行動評価を相関させることで、慢性疼痛の発生・維持に重要な特定の神経回路網を明らかにする。疼痛行動評価は、機械刺激による痛覚過敏をvonFrey filamentを用いてマウスの足底を刺激し、その逃避反応から50%逃避閾値を測定し、(Franz von Frey MR et al. 1895)また、ホットプレート試験により足底に50-54.5の熱刺激を加え、疼痛関連行動が生じるまでの潜時を測定し(Woolfe et al. 1944)、評価した。

【令和3年度】

アデノ随伴ウイルスを用いてS1後肢領域の神経細胞にCa感受性緑色蛍光蛋白質を発現させ、神経細胞活動を可視化した。さらに、局所神経回路の機能的結合の評価のために同領域に光活性化蛋白質を発現させ、新規光刺激技術であるホログラフィック顕微鏡(図1)を用いて1つの神経細胞刺激時の周囲細胞の応答を観察することで各細胞間の機能的結合を評価し、炎症性疼痛の疼痛急性期から回復期にかけて、どのように神経細胞間の機能的結合が変化するのか検証した。

4. 研究成果

【令和2年度】

大脳皮質第一次体性感覚野後肢領域(S1HL)に逆行性トレーサーを注入することで、視床後核からS1HLに投射があることが判明し、さらに化学遺伝学的手法により視床後核からS1HLの経路の活性を特異的に活性化させることで疼痛閾値が低下することがわかった。

【令和3年度】

炎症性モデルマウス作製後の疼痛急性期(作製後3日目)では作製前に比較してS1の1つの神経細胞を刺激した際の周囲の応答する神経細胞数が上昇し、疼痛の改善に伴って応答する神経細胞数が低下することがわかった(図2)。以上から、疼痛急性期においてはS1の各神経細胞の機能的結合が強化された結果、各神経細胞の活動相関性が増加し、疼痛の改善に伴ってそれらが弱くなったことが示唆された。

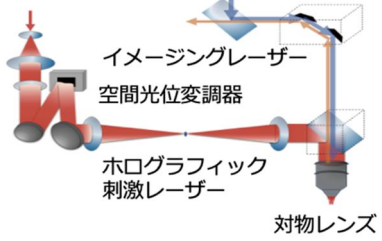
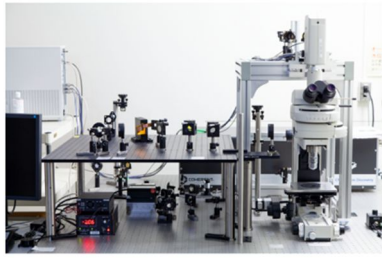
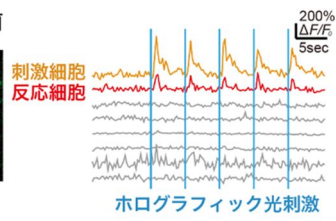
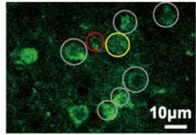
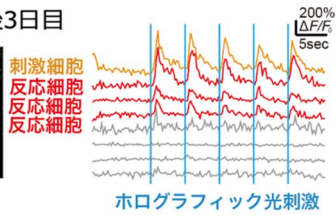
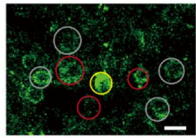


図 1

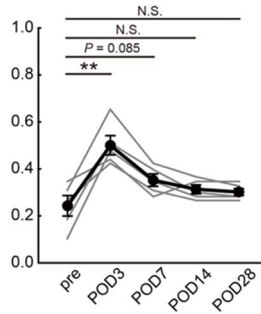
疼痛モデル作製前



疼痛モデル作製後3日目



刺激により機能的結合を認めた細胞の割合



** : p < 0.01

図 2

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 Takuya Okada, Daisuke Kato, Yuki Nomura, Norihiko Obata, Xiangyu Quan, Akihito Morinaga, Hajime Yano, Zhongtian Guo, Yuki Aoyama, Yoshihisa Tachibana, Andrew J. Moorhouse, Osamu Matoba, Tetsuya Takiguchi, Satoshi Mizobuchi, Hiroaki Wake	4. 巻 7
2. 論文標題 Pain induces stable, active microcircuits in the somatosensory cortex that provide a therapeutic target	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabd8261
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abd8261	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2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡田卓也, 野村有紀, 小幡典彦, 加藤大輔, 和氣弘明, 溝渕知司
2. 発表標題 大脳皮質体性感覚野における疼痛で誘発される局所神経回路の活動制御は急性疼痛に対する新たな治療標的になりうる
3. 学会等名 日本麻酔科学会第69回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡田卓也
2. 発表標題 痛みの ” 見える化 ”
3. 学会等名 日本麻酔科学会2022年度関西支部学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022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
---------	---------