

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：32651

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23010

研究課題名（和文）慢性腰痛の増悪と維持に関わる脳内ネットワークの同定と治療介入法の開発

研究課題名（英文）Identification of brain networks involved in exacerbation and persistence of chronic low back pain

研究代表者

徳永 亮太（Tokunaga, Ryota）

東京慈恵会医科大学・医学部・ポスドクトラルフェロー

研究者番号：80883959

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：近年の研究により、腰痛の慢性化は脳内の神経可塑的变化によって引き起こされている可能性が示されているが、その神経機構の詳細は未解明である。本研究では、ラットにおいて慢性の腰背部炎症により引き起こされる広範性の痛覚過敏を確認した。腰背部慢性炎症モデルにおいて、下肢支配神経に対する電気刺激による扁桃体中心核の神経活動反応に有意な変化がみられた。このことより扁桃体の神経可塑的变化が広汎性痛覚過敏に関与していることが示唆された。また、腰背部炎症モデルの扁桃体中心核に人工受容体を発現させ選択的に抑制した結果、痛覚過敏が軽減したことから、扁桃体中心核の活動が全身的な痛覚過敏に関与していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腰痛はその罹患率の高さや、休業や失業による経済的損失など社会に対する影響が多岐にわたる。特に慢性腰痛では器質的に原因が特定できないことが多く、有効な治療法が確立されていない。また広汎な痛覚過敏をともなうことが多く、中枢神経系の関与が疑われてきた。本研究より、慢性腰痛のような原因のはっきりとしない慢性の痛みには扁桃体が関与している可能性が示されたと考えられる。扁桃体中心核の活動抑制により広汎性の痛覚過敏が軽減したことから、今後は未梢に器質的な異常がみられない慢性腰痛症などに伴う広汎な痛覚過敏に対する治療法への応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：Recent studies have shown that chronicity of low back pain may be caused by neuronal plastic changes in the brain. Previous studies have shown that the amygdala is involved in pain regulation and chronic pain, that neuronal activity in the amygdala is altered in models of persistent pain, and that the central nucleus of the right amygdala plays an active role in widespread hypersensitivity to noxious stimuli. In summary, the present results show that chronic back muscle inflammation induces widespread hypersensitivity to noxious stimuli and altered neuronal activity in the CeA. Moreover, mechanical hypersensitivity was attenuated by inhibition of CeA GABAergic neurons. Considering the role of the amygdala in patients with chronic pain, the present results may be relevant to human studies.

研究分野：神経科学

キーワード：慢性疼痛 腰部痛 扁桃体 シナプス可塑性

## 1. 研究開始当初の背景

腰痛は国民有訴者率の第1位を示す症候群であり、生涯有病率は8割以上といわれている。そのため医療費の負担も多大であり、欠勤や休業による経済的損失も大きく、社会に与える影響は甚大である。特に慢性腰痛では器質的な異常を認めない場合も多く、治療抵抗性であり有効な治療手段が確立されていない。慢性腰痛は、単なる急性腰痛が長引いたものとしてではなく、神経可塑的な変化が原因となつて難治性の慢性疼痛に移行している可能性が提唱されてきた。また慢性腰痛は広汎性の痛覚過敏を伴うことも多く、中枢神経系の異常が関与していることが疑われているが、そのメカニズムの詳細は未解明である。

近年の研究により、神経障害性疼痛や遷延性の炎症性疼痛モデルにおいて腕傍核-扁桃体中心核経路のシナプス伝達増強や可塑的变化が起こることが報告されてきた(Ikeda et al., 2007; Sugimura et al., 2016)。一方、腰背部痛患者をフォローした研究では、治癒する患者と比較して慢性化する患者においては扁桃体の活動が亢進していることが知られている(Hashmi et al., 2013)。しかしながら、慢性腰背部痛の成立における扁桃体の詳細な役割については未解明である部分が多かった。

## 2. 研究の目的

今まで神経障害モデルや炎症モデルにおいて、腕傍核-扁桃体中心核経路のシナプスレベルでの可塑的变化が報告されてきたが、個体レベルでの慢性期の活動変化については解明されてこなかった。そこで、腰背部痛の慢性期における神経回路の可塑的变化を扁桃体中心核において検討することを目的とした。また、慢性腰背部痛患者をはじめとする慢性痛患者において、障害部位とは離れた部位や広範囲に疼痛や痛覚過敏を訴える症状である広汎性痛覚過敏が認められる。これは脳内機構の変化を原因とした疼痛制御系の可塑的变化による可能性が考えられる。そこで次に慢性腰背部痛モデルにおける広汎性痛覚過敏症状の検討と、その成立における扁桃体中心核の関与とその介入効果を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

すべての動物実験は、東京慈恵会医科大学動物実験委員会、遺伝子組み換え動物安全対策委員会、病原体等安全委員会、Université du Québec à Trois-Rivières animal care committeeで審議、承認され、動物実験適正実施ガイドライン、国際疼痛学会ガイドラインに準じて実施された。動物はWisterラットおよびVGAT-Creラット[W-Tg(Slc32a1-cre)<sup>3.5Fusa</sup>]を用いた。腰背部炎症モデルは傍脊柱筋部にComplete Freund Adjuvant (CFA)を注入し、対照群には同量の生理的食塩水を注入した後、両後肢の逃避反応閾値をvon Freyテストによって経時的に測定した。また、ラットの全身炎症状態を検討するため、炎症性マーカーである血漿中の炎症性サイトカインを測定した。次に扁桃体中心核の広汎性痛覚過敏への関与を検討するために、VGAT-Creラットを用いて、扁桃体中心核の大部分を占めるGABA作動性神経にウイルスベクター(AAV5-hSyn-DIO-hM4D(Gi)-mCherry or AAV5\_hSyn-DIO-mCherry)を用いて人工受容体であるhM4Diまたは蛍光タンパクのみを発現させた。人工受容体のリガンドであるクロザピン-N-オキシド(CNO)を腹腔内投与し、扁桃体中心核を選択的に抑制し、両後肢回避反応閾値に対する影響を検証した。

## 4. 研究成果

### 1) CFAラットにおける腰背部筋慢性炎症

傍脊柱筋パラフィン包埋切片により、すべてのラットの炎症の有無を確認した。CFA注入後2週、2か月後において、注入部位に限局した炎症像を確認した。一方でコントロール群においては、炎症像はすべての動物において認められなかった。

### 2) CFAラット群における広汎性痛覚過敏

腰背部にCFAを注入したところ、両後肢の回避反応閾値はCFA投与後5日目よりCFA投与前と比較して有意に低下した。この有意な回避反応低下は56日後まで持続した。

### 3) 腰背部痛モデルにおける全身性炎症

広汎性痛覚過敏に全身性の炎症が関与しているかを検討する目的で、血漿中の炎症性サイトカインをCFA投与後1、2か月後に測定したところ、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ においてコントロール群とCFA群において有意な差は認められなかった。このことから両後肢に認められた回避反応の閾値低下は全身性の炎症により引き起こされているものではないと考えられた。

#### 4) 慢性腰背部炎症モデルラットの広汎性痛覚過敏における扁桃体中心核の神経活動変化

傍脊柱筋部に限局した炎症像と全身性の炎症が認められないことから、両下肢の回避反応閾値低下には、中枢の疼痛制御システムが関与している可能性が考えられた。そこで、右扁桃体中心核にシリコンプローブを挿入し、細胞外電位記録によりシングルユニット記録を行ったところ、左坐骨神経電気刺激に対し 3 タイプの増加反応と 1 タイプの減少反応がみられた。これらの反応に CFA 群とコントロール群において有意な差がみられた。このことより扁桃体中心核内で神経可塑的な変化が起きていることが考えられた。

#### 5) 慢性腰背部炎症モデルラットの広汎性痛覚過敏における扁桃体中心核活動抑制の影響

傍脊柱筋への CFA 投与 2 週後に、扁桃体中心核 GABA 作動性神経にあらかじめ発現させた人工受容体 hM4Di の活性化により選択的に抑制し、後肢回避反応閾値に対する影響を評価した。その結果、hM4Di 群においては CNO 投与 60 分後に両後肢の回避反応閾値が有意に上昇した。一方、コントロール群においては有意な変化が見られなかった。このことより扁桃体中心核 GABA 作動性神経の選択的抑制により広汎性痛覚過敏が軽減することが明らかとなった。

#### 引用論文

Ryota Tokunaga, Yukari Takahashi, Sara Touj, Harumi Hotta, Hugues Leblond, Fusao Kato, Mathieu Piche. (2022). "Attenuation of widespread hypersensitivity to noxious mechanical stimuli by inhibition of GABAergic neurons of the right amygdala in a rat model of chronic back pain." *Eur J Pain* **26**(4): 911-928.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tokunaga Ryota, Takahashi Yukari, Touj Sara, Hotta Harumi, Leblond Hugues, Kato Fusao, Pich? Mathieu	4. 巻 26
2. 論文標題 Attenuation of widespread hypersensitivity to noxious mechanical stimuli by inhibition of GABAergic neurons of the right amygdala in a rat model of chronic back pain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Pain	6. 最初と最後の頁 911 ~ 928
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ejp.1921	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 Tokunaga Ryota, Paquette Thierry, Tsurugizawa Tomokazu, Leblond Hugues, Pich? Mathieu	4. 巻 54
2. 論文標題 Fasting prevents medetomidine induced hyperglycaemia and alterations of neurovascular coupling in the somatosensory cortex of the rat during noxious stimulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 4906 ~ 4919
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ejn.15350	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 Sugimoto Mariko, Takahashi Yukari, Sugimura Yae K., Tokunaga Ryota, Yajima Manami, Kato Fusao	4. 巻 162
2. 論文標題 Active role of the central amygdala in widespread mechanical sensitization in rats with facial inflammatory pain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pain	6. 最初と最後の頁 2273-2286
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/j.pain.0000000000002224	査読の有無 無
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4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Ryota Tokunaga, Shimoju Rie, Mieko Kurosawa
2. 発表標題 Effects of cutaneous stimulation on serotonin release in the central nucleus of the amygdala
3. 学会等名 The 98th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryota Tokunaga, Thierry Paquette, Tomokazu Tsurugizawa, Hugues Leblond, Mathieu Piche;
2. 発表標題 Effect of different anaesthetics on neurovascular coupling during nociceptive processing in the primary somatosensory cortex
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society/ The 1st CJK International Meeting
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sugimura Yae , Takahashi Yukari , Okuda Takao , Tokunaga Ryota , Kato Fusao
2. 発表標題 The role of the central nucleus of the amygdala in inflammation-induced pain-network plasticity
3. 学会等名 The 98th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥田崇雄, 徳永亮太, 杉村弥恵, 高橋由香里, 加藤総夫
2. 発表標題 侵害受容情報特異的な腕傍核 扁桃体投射の functional synaptomics
3. 学会等名 第 250 回生理学東京談話会
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
研究協力者	ピシェ マチウ  (Piche Mathieu)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	高橋 由香里  (Takahashi Yukari)		
研究協力者	加藤 総夫  (Kato Fusao)		
研究協力者	杉村 弥恵  (Sugimura Yae)		

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		
カナダ	Universite du Quebec a Trois-Rivieres		