

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：12401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15345

研究課題名（和文）痛みの性差をもたらす痛覚の神経回路メカニズムの解明

研究課題名（英文）Neural circuit mechanisms underlying sex differences in pain perception

研究代表者

金谷 萌子（Kanaya, Moeko）

埼玉大学・研究機構・助教

研究者番号：00759805

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、雌雄での免疫細胞の機能的性差と性ステロイドの影響を明らかにすることである。実験方法として、雌雄マウスに性ステロイドを投与した後に、慢性疼痛を誘起した。本来は痛みと認識しない刺激を痛みとして感じてしまう、アロディニアを評価し、同時に不安状態も調べた。結果として、雌雄マウスともに、それぞれエストロゲンとテストステロンが慢性疼痛の制御に関与することが示唆された。しかし、雌雄マウスともに、当該モデルの慢性疼痛においては、不安状態の上昇がその原因の一つである可能性は低い。現在、脳領域における免疫細胞関連遺伝子の解析を行っており、慢性疼痛と性差の関係をさらに詳しく調査中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みの除去や減弱はいつの時代も人類の課題である。痛みの性差の研究においては、従来より雌雄特異的な性ステロイドの影響が調べられていたが、その効果には相反するものも多い。今後の研究の展開として、痛みの伝導路を構成する神経核限定的な性ステロイドの影響を調べる必要がある。現状では、ターゲットとすべき脳領域は確定していないが、本研究で用いた性ステロイドの影響を受ける慢性疼痛モデルを使用しその点を明らかにしていくことが可能であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：It is known that there are sex differences in the regulation of pain. The pathway for pain transmission include the lateral and medial pain systems, with the latter responsible for the emotional component of pain. The purpose of this study is to elucidate the functional sex differences in immune cells and the effects of sex steroids in male and female mice. The experimental method involved inducing chronic pain in mice after administering sex steroids. Allodynia, which is the perception of non-painful stimuli as pain, was evaluated, and anxiety states were also assessed. As the results, it suggested that both estrogen in female mice and testosterone in male mice are involved in the control of chronic pain. However, it is unlikely that the increase in anxiety states is a primary cause of chronic pain in this model for either sex. Currently, we are analyzing immune related gene expression in brain regions to further investigate the relationship between chronic pain and sex differences.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：性差 免疫 ミクログリア マウス 脊髄

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

痛みを解決することは、いつの時代も人類の課題であるが、痛みの受容にはヒトを含めた動物で、雄より雌の方が痛みを感じやすいという性差があることが知られている。痛みの経路は一般的に、末梢の受容器が痛覚刺激に興奮し、脊髄内でシナプスを替え、対側の脊髄視床路を上行して視床に到達する。脊髄視床路には外側系と内側系があり、外側系は視床から大脳皮質感覚野に投射し、痛みの局在や識別など痛みの「感覚」成分を担っている。一方、内側系は、視床から前帯状回や島に投射し、痛みの「情動」成分を構成する。当初は、所属研究室にて痛みの感覚成分を担う視床後核を中心とした、「不確帯 視床後核 一次体性感覚野」経路の性差を検証することを試みていたが、所属研究室の異動に伴い、痛みの伝導路における免疫細胞と性ステロイドの影響について検討した。近年、マウスを用いた基礎研究において、雄ではミクログリアが痛みを誘起する一方、雌ではT細胞が痛みを引き起こす、という脊髄レベルでは雌雄で異なるメカニズムが存在する [Sorge et al., Nat Neurosci, 2015; Mapplebeck et al., Pain, 2016] ことも報告されている。また従来より、痛みの性差の要因として、性ステロイド(エストロゲンやアンドロゲン)が知られているが、その作用の効果としては痛みに対して促進的であるまたは抑制的であるかについて相反する先行研究も多い。その原因の一つとして、痛みがさまざまな脳領域によって制御される複雑な機能であるため、経路特異的な性ステロイドの効果が検証されていないことがあげられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、痛みの伝導路であり、情動成分を構成する脳領域において、雌雄で免疫細胞の機能的性差が存在するか、また性ステロイドの影響を受けているかを明らかにすることを目的として実験を行った。

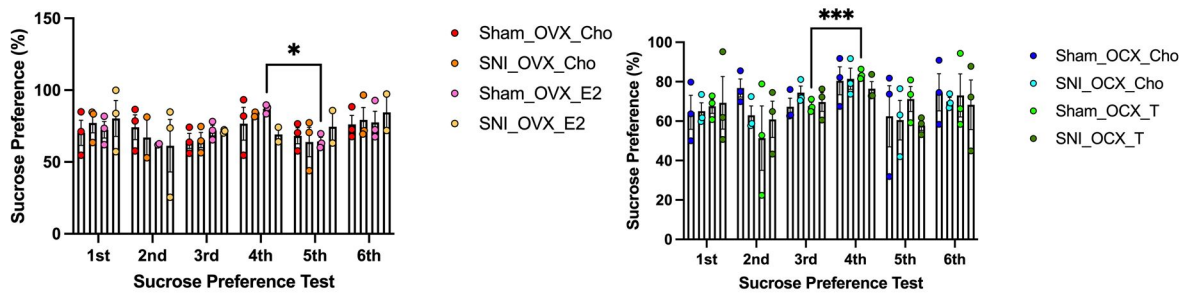
### 3. 研究の方法

雌マウスにおいて、エストラジオールが慢性疼痛に及ぼす影響を調べた。卵巣除去と同時にエストラジオール含有チューブを皮下に留置した後に末梢神経部分結紮手術を行った群(OVX-E2-SNI群, n=2)、卵巣除去したあとにコレステロール含有チューブを皮下に留置した後にSNIを行った群(OVX-Cho-SNI群, n=3)とそれぞれの性ステロイド状態に対する偽手術群を作製した(OVX-E2-Sham群, n=3, OVX-Cho-Sham群, n=3)。雄マウスにおいては、テストステロンが慢性疼痛に及ぼす影響を調べた。精巣除去と同時にテストステロン含有チューブを皮下に留置した後に末梢神経部分結紮手術を行った群(OCX-T-SNI群, n=3)、卵巣除去したあとにコレステロール含有チューブを皮下に留置した後にSNIを行った群(OCX-Cho-SNI群, n=3)とそれぞれの性ステロイド状態に対する偽手術群を作製した(OCX-T-Sham群, n=3, OCX-Cho-Sham群, n=3)。雌雄マウスに対して、SNI当日、SNI後3日、7日、14日、21日、28日において、疼痛閾値を調べるためにVonFreyTestを行った。また、慢性疼痛と不安状態は密接な関係があるため、上記のマウスに対して、SNI前1日、SNI後2日、6日、13日、20日、27日において、アンヘドニアを評価するSucrosePreferenceTestを行った。行動観察後、雌雄マウスの脳と脊髄を摘出し、脳においては前帯状皮質、側坐核、分界条床核、後外側腹側核、中脳中心灰白質をパンチアウトにより回収した。

### 4. 研究成果

雌マウスのVonFreyTestの結果、OVX-E2-SNI群のn数が不足しているため、統計をかけることは現状は難しいが、OVX-Cho-SNI群と比較して、SNI後3日よりPWT値は高い傾向にあった。また、OVX-E2-SNI群とOVX-Cho-SNI群よりも、OVX-E2-Sham群とOVX-Cho-Sham群ではいずれのVonFreyTestの日数においてもPWT値は高かった。雄マウスのVonFreyTestの結果、OCX-T-SNI群とOCX-Cho-SNI群は、共にSNI後3日よりPWT値が減少し、アロディニアを発症していることがわかった。また、OCX-T-Sham群のPWT値は、baselineであるSNI当日とほぼ変動がなかったが、OCX-T-Sham群のPWT値はOCX-T-Sham群と比較して低い傾向にあった。

SucrosePreferenceTestの結果、雌雄ともに、群間に差は認められなかった。本研究では、1%Sucrose濃度を用いており、雌マウスに留置したエストラジオールによって、発情前期のエストラジオール濃度を模倣していることがわかっている。先行研究において、アロディニアを発症したマウスがアンヘドニアを示すことが認められている場合もあるが、嗜好性を示すSucrose濃度に対して体内エストロゲン濃度が影響している可能性もあり、雌マウスにおいては更なる検討が必要である。



現在は、採取した脳領域において、免疫細胞関連遺伝子の発現量を qPCR で解析中である。先行研究において、慢性疼痛を引き起こした雄ラットの前帯状皮質においては、サイトカインである TNF の増加が認められている。本研究では、慢性疼痛雌マウスの分界条床核において、細胞補遊走を制御するケモカインの一種である CCL5 mRNA の上昇傾向が認められた。中脳中心灰白質から分界条床核への神経回路は、痛みの制御に機能的雌雄差が存在することが既に報告されているため、引き続き雌雄差と性ステロイドによる変動を定量する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Moeko Kanaya, Mariko Miyata
2. 発表標題 Neonatal sex steroids induce a sex difference in pain behavior in mice
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Moeko Kanaya, Mariko Miyata
2. 発表標題 The effects of neonatal manipulation of sex steroids on the sex difference in pain behavior in mice
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
---------	---------