

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：37201

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17465

研究課題名（和文）不動化で生じる痛覚閾値低下の解明と情動系神経回路に対する治療アプローチの可能性

研究課題名（英文）Elucidation of immobilization-induced hypersensitivity and possible therapeutic approaches to the affective neuronal circuits

研究代表者

岸川 由紀 (Kishikawa, Yuki)

西九州大学・リハビリテーション学部・准教授

研究者番号：30783360

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）：後肢を不動化した慢性疼痛モデルマウスと中脳辺縁系ドパミン作動性神経路に焦点をあてて解析を実施した。4週間後肢を不動化したマウスでは痛覚閾値の低下がみられ、この低下はドパミンD2受容体のアップレギュレーションと関連していた。さらに、軽度のストレスを与えた後に後肢の不動化を行うと、より低い濃度のドパミンD2受容体拮抗薬で痛覚閾値低下が改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性疼痛は、複合的な要因で痛みが持続し、社会的および心理的要因などが影響している。本研究では、情動に關係する領域である中脳辺縁系ドパミン神経回路に焦点を当て、治療法について検討した。結果として、側坐核でのドパミンD2受容体が慢性的な痛覚閾値の低下に関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the mesolimbic dopaminergic pathways in model mice of chronic pain. Cast immobilization of the hind limb in mice decreased the paw withdrawal threshold, and this decrease was associated with the upregulation of D2 receptors in the nucleus accumbens. Furthermore, when cast immobilization was performed after mild stress was applied, improved the paw withdrawal threshold with a lower concentration of a dopamine D2 receptor antagonist.

研究分野：神経薬理学

キーワード：慢性疼痛 痛覚閾値低下 関節不動化 ドパミン 側坐核 D2受容体

1. 研究開始当初の背景

痛みは、通常、適応的な役割を果たすが、その一方で、身体機能や社会的および心理的な健康に悪影響を及ぼす。痛みの継続は生活を脅かし生活の質を低下させる可能性が非常に高い。慢性疼痛の原因となる病態生理については、さまざまな脳部位での関与が報告されているが、根底にあるメカニズムは明らかになっていないことも多く、治療法は多様で確立されていない。本研究では、後肢を不動化した慢性疼痛モデルマウスと中脳辺縁系ドパミン作動性神経経路に焦点をあてて解析を実施した。

2. 研究の目的

痛みには、受傷時に感じる急性疼痛と長い時間経過した後でも残る慢性疼痛がある。慢性的な痛みは、ストレスや抑うつ状態などの心理的要因が大きく影響している。本研究の目的は、神経結紮モデル動物のような直接的な神経損傷で生じる痛みではなく、神経損傷を起こさない関節を不動化したモデル動物を用いて、皮膚や筋などの末梢の組織変化に起因する痛覚閾値の低下で生じる情動系の中枢神経調節機構の変化を明らかにすることである。

3. 研究の方法

4週間片側後肢を不動化したマウスの痛覚閾値を評価するため von Frey 試験を実施した。また、*in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて、中脳辺縁系ドパミン神経の側坐核に薬物を灌流し細胞外ドパミン放出量を測定した。さらに、軽度のストレスを負荷した後、4週間後肢を不動化したマウスに対しても、痛覚閾値の変化と側坐核のドパミン放出量を測定した。

4. 研究成果

(1) 後肢不動化による痛覚閾値の変化

後肢をギプスで4週間固定したマウス(不動化群)に対して von Frey 試験を実施したところ、不動化から1週間で痛覚閾値の低下がみられた。不動化から4週後は、0.04 g von Frey フィラメントの刺激でも足部の引っ込み反応(The paw withdrawal threshold; PWT)が出現した。足関節背屈可動域は、1週間で有意に減少し4週間継続的に減少した。

(2) 機械的刺激に対する側坐核のドパミン応答の変化

4週間後肢を不動化して痛覚閾値の低下が生じたマウスに対し、*in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて側坐核の細胞外ドパミン放出量を測定した。対照群では von Frey フィラメント 15 g で20分間足底を刺激しても側坐核のドパミン応答に変化はなかったが、不動化群では von Frey フィラメント 4.0 g で20分間足底を刺激すると、側坐核のドパミン放出量が低下した。また、不動化群の von Frey フィラメントに反応したドパミン放出量の低下におけるドパミン D2 受容体の役割を明らかにするため、ドパミン D2 受容体拮抗薬である raclopride を低用量(1 nM)側坐核に2時間灌流した後、von Frey フィラメント 4.0 g で20分間足底を刺激すると、刺激に反応して減少していたドパミン応答が増加へとシフトした(図1)。これらの結果は、機械的刺激に反応したドパミン放出量の減少が、不動化マウスの側坐核におけるドパミン D2 受容体のアップレギュレーションによって調節されていることを示唆している。

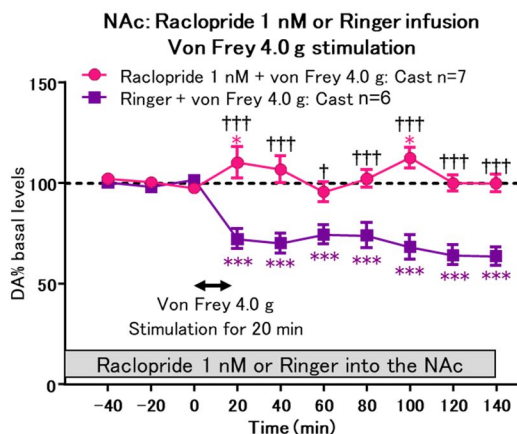


図1. 側坐核 (NAc) にドパミンD2受容体拮抗薬 (Raclopride) を灌流したときの von Frey 4.0 g の刺激による側坐核ドパミン放出量の変化: 不動化群 (Cast) は raclopride の作用により痛み刺激によるドパミン放出量の減少を抑制する。

*p<0.05, ***p<0.001, vs. basal values.

†, ††† Comparison between raclopride and Ringer infusion.

(3) 側坐核へのドパミン D2 受容体拮抗薬の局所灌流

4週間後肢を不動化した慢性疼痛モデルマウス

側坐核のドパミン D2 受容体のアップレギュレーションが、4週間後肢不動化マウスの PWT の応答性に参与しているかを調べた。高用量(100 μM) raclopride を側坐核に2時間灌流した後、不動化群に von Frey 試験を実施したところ、側坐核のドパミン放出量は増加し、痛覚閾値低下の改善を認めた。この際、側坐核に灌流する raclopride は、高用量でなければ疼痛閾値低下を改善することができなかった。

軽度のストレス負荷後に4週間後肢を不動化した慢性疼痛モデルマウス

不動化マウスは、後肢のギプス固定を4週間保持するため、ケージに4週間1匹で飼育している。そこで、慢性疼痛の特徴を考慮し、軽度のストレス負荷として一匹での飼育期間を延長し実施することにした。具体的には、1匹飼育で6週間過ごしたマウスに、後肢不動化を4週間行い、racloprideを側坐核に灌流してPWTを測定した。

1匹飼育後、4週間後肢を不動化したマウスの側坐核に、高用量の100分の1の濃度である1 μM racloprideを2時間灌流したところ、PWTの増加を認めた。1 μM racloprideは、軽度ストレスなしの不動化マウスにおいて痛覚閾値の低下が改善しなかった用量であった。これらの結果から、PWTの変化にはドパミン D2 受容体のアップレギュレーションが関与しているということだけでなく、1匹飼育期間の延長によってドパミン D2 受容体に変化が生じることが推察された。

(4) 側坐核へのドパミン D2 受容体作動薬の局所灌流

不動化マウスのドパミン D2 受容体のアップレギュレーション状態を明確にするため、ドパミン D2 受容体作動薬である quinpirole を側坐核に灌流した。4週間1匹で飼育したマウスの側坐核に100 μM quinpirole を2時間灌流した後、von Frey 試験を実施したところ PWT が減少した。また、10週間1匹で飼育したマウスの側坐核に1 μM quinpirole を2時間灌流した場合にも PWT が減少した。

以上の結果より、側坐核のドパミン D2 受容体のアップレギュレーションが痛覚の感度増強に重要な役割を示していることが推察された。さらに、1匹で飼育するという軽度のストレスを負荷することにより、ドパミン D2 受容体のより強いアップレギュレーションを引き起こす可能性を見出した。

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 Kishikawa Yuki, Kawahara Yukie, Ohnishi Yoshinori N., Sotogaku Naoki, Koeda Tomoko, Kawahara Hiroshi, Nishi Akinori	4. 巻 13
2. 論文標題 Dysregulation of dopamine neurotransmission in the nucleus accumbens in immobilization-induced hypersensitivity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2022.988178	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
---------	---------