

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：37111

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590731

研究課題名(和文)中枢性神経障害痛モデル動物の開発と疼痛発現機序の解明

研究課題名(英文)Studies of the mechanism and discovery of animal model in neuropathic pain

研究代表者

本多 健治 (HONDA, Kenji)

福岡大学・薬学部・助教

研究者番号：60140761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、神経障害疼痛に対する脊髄ケモカインの機能的役割と中枢性神経障害痛モデルの開発について検討しました。

(1) 神経障害痛モデル動物で、脊髄でケモカインCCL-1およびCCL-1受容体のCCR-8の発現が神経障害痛に関与することを見出しました。(2) ヒトの痛を考えるために、脳内の帯状回(ACC)に注目しました。その結果、帯状回のムスカリンM1受容体が神経障害痛に関与していることを証明しました。(3) 脳内GABA受容体遮断がアロディニア発現を引き起こすことを見出し、中枢性神経障害痛モデルとして可能性を証明しました。(4) アセチルコリン分解阻害剤が末梢神経障害痛を抑制することを見出しました。

研究成果の概要(英文)：Pain control is very important. The mechanism of pain is not fully understood. Therefore, we examined the mechanisms of neuropathic pain and the discovery to neuropathic pain in the central nervous system.

(1) We examined the functional role of chemokines, chemotactic cytokine ligand-1(CCL-1) in neuropathic pain. Pre-administrations of anti-CCL-1 antibody in the spinal cord inhibited the allodynia. This result supports that spinal CCL-1 contributes to the development of neuropathic pain. (2) We demonstrated how the muscarinic receptors in the brain involve in neuropathic pain. Activation of muscarinic M1 receptors in the thalamus attenuated the neuropathic pain and the analgesic effect was mediated by activation of GABAergic neuron. (3) Cholinesterase inhibitor donepezil and galantamine reduced hyperalgesia via central muscarinic receptors in the neuropathic pain model. Donepezil and galantamine may be useful in the therapeutic outcome in the management of neuropathic pain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・疼痛学

キーワード：神経障害性疼痛 ケモカイン ミクログリア細胞 GABA作動性神経 ムスカリン受容体 アセチルコリン 帯状回

1. 研究開始当初の背景

世界人口の三分の一以上の人々が、慢性痛に悩まされていることが報告されています。慢性的な痛みは、労働意欲の低下と生きる希望をも奪うことが考えられます。しかし、現在、難治性の痛みの治療に満足している人はわずか半数と考えられています。特に、慢性痛の中でも、神経損傷に起因する神経障害疼痛は、抗炎症剤やモルヒネに抵抗性を示す難治性の慢性疼痛疾患で有効な鎮痛薬はありません。そこで、神経障害疼痛発症の仕組みの解明と新たな鎮痛薬の開発が急がれています。

2. 研究の目的

本研究では、(1) 脊髄より上位の脳の中でのコリン作動性神経とその受容体のムスカリン受容体の疼痛伝達への役割は、いまだ明らかではありません。そこで、神経障害疼痛とその痛覚伝達系に対する脊髄と脳内ムスカリン受容体の関与を詳細に研究しました。(2) 脊髄グリア細胞とケモカインに焦点を合わせ、神経障害疼痛発症の関連を調べました。(3) 中枢性神経障害疼痛モデルの開発

3. 研究の方法

(1) 神経障害性疼痛モデル動物の作製:

マウスおよびラットを用い坐骨神経部分結紮、糖尿病誘発および抗がん剤誘発による末梢神経損傷モデルを作製しました。

(2) 末梢神経障害と疼痛:

作製された神経障害モデル動物を用いて、神経障害疼痛発症の仕組みを調べました。神経障害疼痛は、機械的刺激あるいは熱刺激に対する疼痛反応から、異痛症(衣服が触れただけでも痛みを感じる:アロディニア)、痛覚過敏や知覚鈍麻を評価しました。特に、神経障害疼痛の主症状機械刺激性アロディニアが問題になることから、von Frey フィラメントによる触圧刺激試験を行った。熱刺激に対しては、プランター法で、痛覚過敏と鎮痛効果はRandall Selitto 試験法で評価した。

薬物は、必要に応じ脊髄クモ膜下内および脳室内にも投与した。

蛋白の発現は、免疫組織化学的法和ウエスタンブロット法を用いて行った。

(3) 実験動物の Animal Care:

実験動物の飼育および動物実験は、福岡大学の the Guidelines of the Committee for Animal Care and Use of Fukuoka University に基づいて行なわれた。

4. 研究成果

(1) 神経障害痛におけるグリア細胞やサイトカインとの関連性

神経障害痛モデル動物を用い、グリア細胞やサイトカインとの関連性について研究を進展させました。とりわけ、ケモカインの1つである chemokine ligand 1 (CCL-1)の役割について注目し、神経障害性疼痛発現への神経およびグリア細胞との関連について検討をしました。

その結果、神経障害痛モデルマウスで、アロディニアの発現に伴って、脊髄で CCL-1 および CCL-1 の受容体である CCR-8 の発現が変化していることを明らかにしました。さらに、CCL-1 中和抗体やグリア阻害剤ミノサイクリンを髄腔内にあらかじめ投与すると、この神経障害痛が抑制されることを見出しました (Cell & Death Disease. 論文発表 2013, 第 91 回日本生理学会大会, 2014.)。

この研究は、ケモカインやグリア阻害剤が新たな神経障害疼痛の治療薬となる可能性を示唆すると思います。

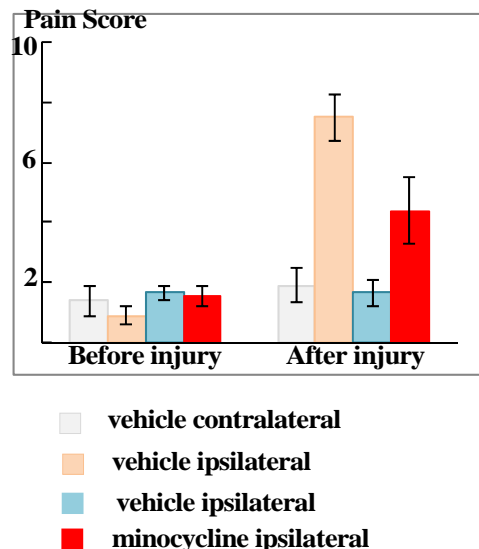


図1 神経結紮(神経損傷)後の機械的アロディニアに対するミノサイクリン投与の効果

(2) 帯状回ムスカリン受容体と神経障害痛

ヒトの痛みにより近いものとするために、「脳での痛みの経路」特に帯状回(ACC)に注目しました。帯状回は痛みを伝える中継点で、その役割が注目されています。

神経障害痛モデル動物を用い、その動物の帯状回(図2)にムスカリン M1 受容体アゴニストの McN-A-343 を局所投与すると、神経障害痛が抑制されました。さらに、受容体抗体を用いた免疫組織化学的研究から、帯状回のムスカリン M1 受容体が存在し、GABA ニューロンと連携していることが証明されました (IBRO, 2011 年; 第 87 回日本薬理学会総会、2013 年発表、現在 Brain Research 投稿中)。

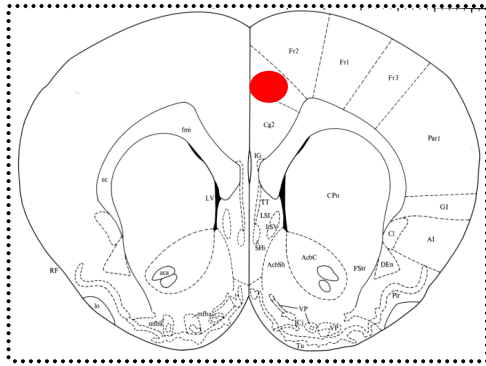


図2 帯状回皮質と薬物投与部位(赤丸)

これらの結果は、**帯状回に投射するコリン作動性神経がムスカリン受容体を介し疼痛抑制に働くことを示す新しい結果であります。また、この結果は脳での痛みの経路とその調節機構を明らかにする上で有益な情報を提供すると思われる。**

(3) 脳内 GABA_B 受容体遮断によるアロディニア誘発：中枢性神経障害疼痛モデルの可能性

GABA_B 受容体遮断薬 CGP35348 のマウス脳室内投与は、濃度に依って機械刺激性アロディニアを引き起こした。このアロディニアはグルタミン酸 NMDA 型受容体遮断薬 MK-801 によって阻害された(図3)。アロディニアの発現に脳内グルタミン酸作動性神経が関与することはよく知られている。

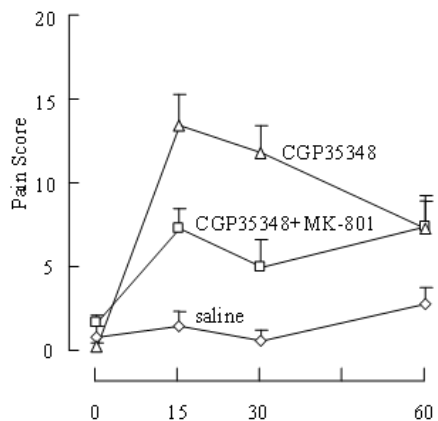


図3 CGP35348 誘発アロディニア

従って、**GABA_B 受容体遮断薬 CGP35348 脳室内投与によるアロディニア発現モデルは、中枢性神経障害疼痛モデルとしての可能性を示唆する(Brain Research 投稿中)。**

(4) 神経障害痛に対するアセチルコリン阻害薬ドネペジルとガランタミンの効果

糖尿病と抗がん剤パクリタキセル誘発の末梢神経障害モデルを作製し、両モデルで観察された痛覚過敏についてコリエ

ステラーゼ阻害薬(ドネペジル、ガランタミン)の鎮痛効果を検討した。これらの薬物は、両モデルで誘導される痛覚過敏を有意に抑制した。この鎮痛効果は、ムスカリン受容体遮断薬により抑制された(86 回日本薬理学会年会発表,2013 年、Pain Research 誌に投稿準備中)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

Nozomi Akimoto, Kenji Honda, Daisuke Uta, Kaoru Beppu, Yuichi Ushijima, Yu Matsuzaki, Shigeto Nakashima, Mizuho A. Kido, Keiji Imoto, Yukio Takano, Mami Noda., CCL-1 in the spinal cord contributes to neuropathic pain induced by nerve injury. Cell & Death Disease 査読有, Vol. 4, e679; doi:10.1038/cddis.198 (2013)

Akiko Chishaki, Yasutoshi Hirabara, Kyoko Takeyoshi, Shiori Nasu, Sayo Tsumura, Sayaka Morimoto, Kohji Tominaga, Hideki Shuto, Yasufumi Kataoka, Kenji Honda, Ryo Saito, Yukio Takano., Estrogen deficiency impairs sensitivity of the baroreceptor reflex and vasomotor functions in the aorta. Pharmaceutical Bulletin of Fukuoka Univ., 査読有 Vol. 12, 1-7 (2012)

[学会発表](計 17 件)

輿水崇鏡, 本多健治, 高野行夫. Functional interaction between V1b vasopressin and MOR1 opioid receptors delays development of morphine tolerance and adenylylase sensitization. 第 87 回 日本薬理学会年会シンポジウム-オピオイド研究の新潮流 仙台 2014 年 3 月 19-21 日

本多健治, 松崎 雄, 齋藤 亮, 高野行夫. Activation of muscarinic M1 receptors in the anterior cingulate cortex causes the antinociception via GABA-nergic system. 第 87 回 日本薬理学会年会 仙台 2014 年 3 月 19-21 日

秋元 望, 歌 大介, 本多健治, 高野行夫, 井本 敬二, 野田百美, 古江秀昌. 脊髄後角シナプス伝達に対する CCL-1 の影響. 第 91 回日本生理学会大会 鹿児島 2014 年 3 月 16-18 日

N Akimoto, D Uta, K Honda, Y Takano, K Imoto, M Noda, H Furue. Effect of Chemokine (C-C motif) Ligand 1 on Synaptic Transmission in the Spinal Dorsal Horn. The 5th Asian Pain Symposium Okazaki, 2013 年 12 月 17-18 日

松崎翔平, 中溝 卓, 姫野翔子, 平井祐介, 山之上 真央, 瀬川 勝, 本多健治, 齋藤 亮, 高野行夫. パクリタキセルによるアロディニアとミトコンドリア障害. 第 86

回 日本薬理学会西南部会福岡 2013年 11月 16日

本間 暢, 浅田 歩, 東 翔子, 松田 ゆり, 本多健治, 齋藤 亮, 高野行夫. 糖尿病マウスにおける神経障害疼痛 下行性抑制系の減弱. 第 66 回 日本薬理学会西南部会福岡 2013年 11月 16日

N Akimoto, K Honda, D Uta, H Furue, M Kido, K Imoto, Y Takano, M Noda. CCL-1 in the spinal cord contributes to neuropathic pain induced by nerve injury. XI European Meeting on Glial Cells in Health and Disease. Berlin, Germany, 2013年 7月 3-4日

N Akimoto, K Honda, D Uta, H Furue, Mizuho Kido, K Imoto, Y Takano, M Noda. CCL-1 IN THE SPINAL CORD CONTRIBUTES TO NEUROPATHIC PAIN INDUCED BY NERVE INJURY. Interaction of nervous and immune systems in health and disease. Saint Petersburg, Russian Federation 2013年 6月 20-21日

K Honda, N Akimoto, Y Ushijima, R Saito, M Noda, Y Takano. Studies of spinal chemotactic cytokine ligand-1 (CCL-1) in neuropathic pain in mice. 4th International Congress on Neuropathic Pain. Toronto, Canada 2013年 5月 22-26日

K Honda, Y Matsuda, Yamanoue, S Nakamizo, N Honma, R Saito, Y Takano. Cholinesterase inhibitors donepezil and galantamine reduces hypersensitivity in neuropathic pain by the central muscarinic receptors. 第86回 日本薬理学会年会, 福岡 2013年 3月 21-23日

奥水崇鏡, 本多健治, 高野行夫. オピオイド鎮痛におけるバゾプレシンの役割について 第 23 回バゾプレシン研究会 東京 2013年 1月 12日

N Akimoto, K Honda, D Uta, H Furue, K Imoto, Y Takano, M. Noda., The relationship between CCL-1 and neuron/glia in the neuropathic pain model. Neuroscience 42nd Annual Meeting, New Orleans, USA, 2012年 11月 13-17日.

本多健治, 姫野翔子, 山之上真央, 松田ゆり, 森 結子, 齋藤 亮, 高野行夫. パクリタキセル誘導異痛症モデル動物におけるミノサイクリンの効果. 第 85 回日本薬理学会年会 京都 2012年 3月 14-16日.

本多健治, 高野行夫. 末梢神経障害性疼痛モデル動物に対するミノサイクリンの効果 第 39 回 薬物活性シンポジウム 福岡 2011年 11月 21-22日

N Akimoto, K Honda, Y Takano, M Noda. The relationship between chemotactic cytokine ligand-1 and neuron/glia in the neuropathic pain model. 10th European Meeting on Glial Cell Function in Health and Disease, Praha, Czech Republic, 2011年 9月 16日

N Akimoto, K Honda, K Beppu, M Ifuku, Y Takano, M Noda. The relationship between CCL-1 and neurons/glia-cells in the neuropathic pain model. 23rd Biennial Meeting of the International and the European Society for Neurochemistry, Athens, Greece, 2011年 8月 29日

Y. Takano, K. Honda, Y. Matsuzaki, R. Saito. Roles M1 receptors in the anterior cingulate cortex (ACC) in neuropathic pain. 8th IBRO World Congress Neuroscience, Florence, Italy. 2011年 7月 14-18日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本多 健治 (HONDA, Kenji)
福岡大学・薬学部・助教
研究者番号: 60140761

(2) 研究分担者

齋藤 亮 (SAITO, Ryo)
福岡大学・薬学部・講師
研究者番号: 80122696

高野 行夫 (TAKANO, Yukio)
福岡大学・薬学部・教授
研究者番号: 50113246

(3) 連携研究者

右田 啓介 (MIGITA, Keisuke)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 10352262