

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791624

研究課題名(和文) 神経因性疼痛発症における軸索輸送の位置づけと神経保護に関する基礎的研究

研究課題名(英文) The role of axonal transport on neuropathic pain

研究代表者

磯中 理沙 (Isonaka, Risa)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：50550547

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)：神経因性疼痛は中枢あるいは末梢神経の障害によって起こり、その痛みは患者のQOLを著しく低下させる。そのため、神経因性疼痛緩和薬が果たす役割は大きい。本研究では、整形外科、麻酔科(ペインクリニック)領域の治療に広く用いられているノイトロピンを用いて実験を遂行し、培養感覚神経細胞において軸索輸送を抑制することを明らかにした。本研究結果は、神経因性疼痛を緩和するメカニズムの解明に寄与したといえる。

研究成果の概要(英文)：Chronic pain is difficult to ameliorate and results in reduced quality of life for suffering individuals. Analgesics play an important role in the clinical management of chronic pain. I reported on the effects of the analgesic agent neurotropin on axonal transport in cultured mouse dorsal root ganglion neurons. Neurotropin, used extensively in Asia to treat various chronic pains, significantly inhibited axonal transport without affecting the diameter of neurites. To our knowledge, this is the first study that demonstrated the effect of neurotropin on sensory neurons, and our findings elucidated the analgesic mechanisms of neurotropin (Neurosci Lett 2013).

研究分野：生理学

キーワード：軸索輸送 神経因性疼痛

1. 研究開始当初の背景

(1) 神経の軸索輸送

神経細胞機能の一つである軸索輸送は、神経細胞の形態形成と適切な機能維持に必要不可欠な細胞内物質輸送システムである。軸索輸送は、微小管をレールとしてオルガネラ (ミトコンドリアやライソゾーム等)、細胞骨格、代謝産物などを運び、神経突起への物質の供給と情報のフィードバックの役割を担っている。これらのことから、軸索輸送の障害は軸索変性、さらには神経変性を引き起こすと考えられている。

(2) 神経因性疼痛と軸索輸送の関係

神経因性疼痛は中枢あるいは末梢神経の障害によって起こり、その痛みは患者の QOL を著しく低下させる。そのため、神経因性疼痛の緩和薬が果たす役割は大きい。代表例として整形外科、麻酔科 (ペインクリニック) 領域の治療に用いられているノイロトロピンがある。ノイロトロピンの鎮痛作用機序は下行性疼痛抑制系の活性化作用などが考えられているが、神経因性疼痛に対する抗侵害効果の機序の多くは未だ不明である。ノイロトロピンは、帯状疱疹後神経痛や線維筋痛症の緩和、あるいは SMON 後遺症状の異常知覚の改善に加え、近年では抗癌剤投与の副作用による末梢神経障害を改善したという報告がある (Kawashiri et al., *Eur J Cancer*. 2009; *Eur J Pain*. 2010)。このことから、ノイロトロピンをはじめとする神経因性疼痛緩和薬の神経保護効果が推察されるが、これまで詳細な検討はほとんどなされていなかった。

2. 研究の目的

本研究は、神経因性疼痛と軸索輸送の関係を中心に神経毒性の抑制メカニズムについて検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス感覚神経細胞の培養

成熟 (6-8 週齢) C57BL 雄性マウスにペントバルビタールで深い麻酔をかけ、脊髄後根神経節

を摘出した。続いて蛋白分解酵素トリプシンで処理後、ピペッティングにより神経細胞を単離した。polylysine でコーティングしたカバーグラス上に細胞を播種し、ウシ胎児血清含有培地 (Ham's F-12) で 37 °C、5% CO₂ 下で約 48 時間培養した。

(2) 軸索輸送の観察

ビデオ増感顕微鏡を用いて薬物投与前 (コントロール) およびノイロトロピン等の薬剤処置後の神経線維内の軸索輸送を連続的にリアルタイムで観察した。順行性 (軸索末端方向)、逆行性 (細胞体方向) に移動するオルガネラ数を経時的に計測した。また、薬物投与前後の軸索径を計測し、比較した。

(3) 神経細胞内の微細構造の観察

薬剤を処置した細胞のオルガネラは生体染色、細胞骨格 (アクチンフィラメント、微小管、ニューロフィラメント) は細胞を固定後、蛍光染色あるいは蛍光組織化学染色を行ない、共焦点レーザー顕微鏡を用いてそれぞれ観察した。

4. 研究成果

(1) 軸索輸送の変化

培養感覚神経細胞にノイロトロピンを 0.0001-1.0 NU (Neurotrophin Unit)/ml の濃度でそれぞれ 60 分間投与したところ、輸送粒子数は順行性、逆行性共に時間依存性に減少した。実験使用濃度のノイロトロピンは、同一条件の生理食塩液投与終了時と比較して、軸索輸送を有意に抑制することが示された (Isonaka et al., *Neurosci Lett* 2013)。

(2) 軸索径の変化

生理食塩液ならびに高濃度 (1.0 NU/ml) ノイロトロピン投与前 (0 分後) および投与 60 分後の軸索径を比較したところ、ノイロトロピン投与による有意な変化はみとめられなかった。また同様に、生理食塩液およびノイロトロピン投与前後のオルガネラ、細胞骨格をそれぞれ比較したが、これらの微細構造についても明らかな変化は見られなかった (Isonaka et al., *Neurosci Lett*

2013).

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Isonaka R, Takenami T, Katakura T, Kawakami T. Neurotropin inhibits axonal transport in cultured mouse dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience Lett* 2013; 543: 101-104. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.03.051. 査読有

[学会発表] (計 7 件)

Isonaka R, et al. Neurotropin suppresses lidocaine-induced inhibition of neurite growth in cultured rat spinal neurons. ワシントン DC (U.S.A.), *Neuroscience* 2014. 2014 年 11 月 8 日.

Isonaka R, et al. Neurotropin suppresses lidocaine-induced neurotoxicity in cultured dorsal root ganglion neurons. サンディエゴ (U.S.A.), *Neuroscience* 2013. 2013 年 11 月 10 日.

Takenami T, Nara Y, Isonaka R, et al. Neurotropin protects against posterior root damage caused by intrathecal lidocaine neurotoxicity in rats. サンディエゴ (U.S.A.), *Neuroscience* 2013. 2013 年 11 月 11 日.

Isonaka R, et al. Neurotropin prevents lidocaine-induced inhibition of axonal transport in cultured mouse dorsal root ganglion neurons. タワーホール船堀 (東京都江戸川区), 2013 年 3 月 28 日. 第 90 回生理学会大会

Takenami T, Isonaka R, et al. Effect of neurotropin on axonal damage induced by lidocaine in rats. タワーホール船堀 (東京都江戸川区), 2013 年 3 月 27 日. 第 90 回生理学会大会

Isonaka R, et al. Effects of analgesic agents, Neurotropin on neuronal cell. ニューオーリンズ (U.S.A.), *Neuroscience* 2012. 2012 年 10 月 17 日.

Isonaka R, et al. Influence of Neurotropin®

on axonal transport in cultured mouse dorsal root ganglion neurons. 長野県松本文化会館、松本市総合体育館、信州大学松本キャンパス (長野県松本市), 2012 年 3 月 30 日. 第 89 回生理学会大会

[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:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ

北里大学医学部生理学 (川上単位):

<http://web.med.kitasato-u.ac.jp/edures/seiri-kk.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

磯中 理沙 (Isonaka Risa)

北里大学・医学部・講師

研究者番号: 50550547

(2)研究分担者

なし

研究者番号:

(3)連携研究者

なし

研究者番号: