

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861374

研究課題名(和文) 神経因性疼痛における脊髄後角細胞のGABA<sub>A</sub>受容体介在性tonic電流の役割

研究課題名(英文) The role of GABAergic tonic inhibition in substantia gelatinosa neuron of sciatic nerve chronic constriction injury model mice

研究代表者

高橋 亜矢子 (Takahashi, Ayako)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70444544

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：機械刺激および熱刺激への過敏性を示す神経障害性疼痛モデル坐骨神経カフ絞扼マウスの脊髄後角において、神経の興奮性を決定するのに重要な役割を果たしているGABA<sub>A</sub>受容体介在性抑制性tonic電流が減少していることを本研究で明らかにした。さらに、減少したtonic電流はGABA<sub>A</sub>受容体のうちサブユニットを介した電流であることも明らかになった。

この抑制性の電流の減少により神経の興奮性が高まることで、坐骨神経カフ絞扼マウスの痛みを引き起こしている可能性が示唆され、神経障害性疼痛の治療薬の開発に役立つ可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study demonstrated that sciatic nerve constriction (CCI) induced the decrease of GABAergic tonic current and GABA<sub>A</sub> subunit expression in spinal dorsal horn. Improved understanding of GABA<sub>A</sub> subunit may facilitate development of more effective treatment strategies for neuropathic pain.

研究分野：麻酔

キーワード：神経障害性疼痛 GABA<sub>A</sub>受容体 tonic電流 脊髄

### 1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛の詳細な発症機序は未だ解明されていないが、脊髄後角における GABAA 受容体を介した抑制性電流の減少が関連しているところまでの研究で報告されている。<sup>1)、2)、3)</sup> GABAA 受容体を介する電流には phasic 電流と tonic 電流の 2 種類が存在することが明らかにされた。Tonic 電流は GABA に非常に感受性の高いシナプス外に存在する GABAA 受容体による抑制性電流で、脳においては、癲癇や統合失調症などの疾患に大きく寄与することが明らかにされてきた。<sup>4)、5)</sup> また、麻酔学分野においては、アルコールの感受性や麻酔薬の作用メカニズムにも関与することが明らかになるなど注目を浴びている。<sup>6)7)</sup> 近年、脊髄後角ニューロンにおいても tonic 電流の存在が明らかにされたが、その生理学的意義については詳しく解明されていない。

### 2. 研究の目的

脊髄後角における GABAA 受容体介在性 tonic 電流の減少が、神経障害性疼痛発症、悪化のメカニズムに関与するのではないかという仮説を立て、神経障害性疼痛モデルマウスを作成し、脊髄後角膠様質(substantia gelatinosa: SG)細胞における GABAA 受容体介在性抑制性電流の変化について、電気生理学実験および分子生物学実験により検証し、神経障害性疼痛発症および増悪のメカニズムを解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

雄性 4 週齢 ddy マウスをセボフルラン麻酔下に右坐骨神経を露出させ、2mm 長の PE20 チューブカフをかぶせることで坐骨神経を絞扼し損傷した(chronic constriction injuryCCI)を作成した。von Frey 及び Hargreaves テストにて機械刺激及び熱刺激

に対する下肢足底の疼痛閾値を測定した。神経絞扼手術 2 週間後、L4-5 の脊髄スライスを作成しホールセルパッチクランプ法にて、患側である右側の脊髄後角 SG 細胞における phasic 及び tonic 電流を測定した。GABAA 受容体介在性 tonic 電流に寄与するサブユニットのうち、 $\alpha 5$  サブユニット、 $\alpha 6$  サブユニット、 $\alpha 7$  サブユニットが SG 細胞に存在する可能性がこれまでに報告されている。そこで、PCR 及びウェスタンブロットティング法にて、右側脊髄後角膠様質における tonic 電流に関与する GABAA 受容体のうち、 $\alpha 5$  及び  $\alpha 6$  サブユニットの mRNA と蛋白の発現量の変化を検討した。

### 4. 研究成果

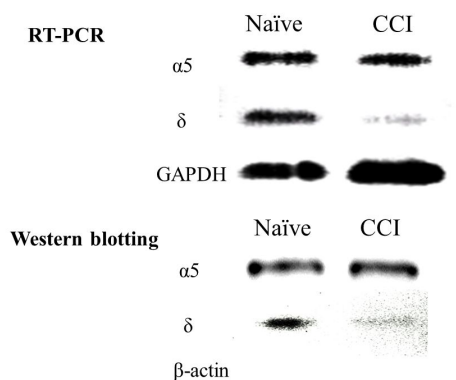
CCI マウスは正常マウスと比較して機械刺激・熱刺激に対する疼痛閾値がともに低下しており、神経障害性疼痛を示した。

CCI マウスでは GABAA 受容体介在性 tonic 電流を有する SG 細胞の比率が正常マウスに比べて有意に低下しており、脊髄後角における GABAA 受容体介在性抑制性電流が低下していることが明らかになった。一方、tonic 電流の amplitude は CCI マウスと正常マウスで変化はなかった。

GABAA 受容体介在性 tonic 電流に寄与するサブユニットのうち、 $\alpha 5$  サブユニットの mRNA およびタンパク質の発現量は CCI マウスと正常マウスで有意な変化は認めなかったが、サブユニットの mRNA と蛋白質の発現量がともに CCI マウスの患側脊髄後角膠様質で有意に低下していた。

これらの結果から、 $\alpha 5$  サブユニットを介する GABAA 受容体介在性 tonic 電流が神経障害性疼痛モデル(CCI)マウスの痛みの発症ないし増悪に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。 $\alpha 5$  サブユニットをターゲットとした薬剤の開発は、神経障害性疼痛のメカニズムベースな新しい治療法の

確立に役立つ可能性が示唆された。



(参考文献)

- 1) Hwang JH, Yaksh TL: The effect of spinal GABA receptor agonists on tactile allodynia in a surgically-induced neuropathic pain model in the rat. *Pain* 70, 15-22, 1997
- 2) Castro-Lopes JM, Tavares I, Coimbra A: GABA decreases in the spinal cord dorsal horn after peripheral neurectomy. *Brain Res* 620, 287-91, 1993
- 3) Moore KA, Kohno T, Karchewski LA, Scholz J, Baba H, Woolf CJ: Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *J Neurosci* 22, 6724-6731, 2002
- 4) Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orbán G, Errington AC, Lorincz ML, Gould TM, Carter DA, Crunelli V: Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat Med* 15, 1392-8, 2009
- 5) Maldonado-Avilés JG, Curley AA, Hashimoto T, Morrow AL, Ramsey AJ, O'Donnell P, Volk DW, Lewis DA: Altered markers of tonic inhibition in

the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 166, 450-9, 2009

- 6) Wei W, Faria LC, Mody I: Low ethanol concentrations selectively augment the tonic inhibition mediated by delta subunit-containing GABAA receptors in hippocampal neurons. *J Neurosci* 24, 8379-82, 2004
- 7) Maeda A, Katafuchi T, Oba Y, Shiokawa H, Yoshimura M: Enhancement of GABAergic tonic currents by midazolam and noradrenaline in rat substantia gelatinosa neurons in vitro. *Anesthesiology* 113, 429-37, 2010

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)

現在論文を作成中である。

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 2 件)

予定

博多 紗綾、高橋 亜矢子、井浦 晃、藤野 裕士、神経障害性疼痛マウス脊髄における GABAA 受容体サブユニットの変化と疼痛閾値に与える THIP の効果; 日本神経麻酔集中治療学会 岐阜県, 2015 年 4 月 10 日 ~ 11 日。

井浦 晃、高橋 亜矢子、博多 紗綾、藤野 裕士。マウス神経因性疼痛モデルにおける脊髄後角の GABAA 受容体サブユニット介在性 tonic 電流の減

少; 日本麻醉科学会, 優秀演題、兵庫県,  
2015年5月28日~30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:

出願年月日:

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

高橋亜矢子 (TAKAHASHI Ayako)

大阪大学大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 70444544