

平成 23 年度生理学研究所研究会

痛みの病態生理と神経・分子機構

開催期間：平成 23 年 12 月 21 日（水）12 時 30 分～22 日（木）16 時 30 分

場所：岡崎カンファレンスセンター（自然科学研究機構内）

提案代表者：岩田幸一（日本大学歯学部生理学教室）

所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

12月21日（水）

12:00～ 受付

12:30 開会の挨拶 岩田幸一（日本大学歯学部生理学教室）

12:35～13:15 教育講演 1

The Itching Line- The Cellular Basis of Itch Detection and Transmission

講師：Alexander Binshtok 先生（The Hebrew University Medical School）

司会：富永真琴 先生（岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

セッション 1 進行係： 村瀬一之 先生（福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻）

13:15～13:35

演題 1「線維筋痛症モデルにおける皮膚侵害受容器活動の解析」

田口徹¹、水村和枝²（¹名古屋大学環境医学研究所神経系分野II、²中部大学生命健康科学部理学療法学科）

13:35～13:55

演題 2「ラット下腿筋膜の侵害受容組織としての特性」

安井正佐也¹、田口徹²、水村和枝³、木山博資¹（¹名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野、²名古屋大学環境医学研究所神経系分野II、³中部大学生命健康科学部理学療法学科）

13:55～14:15

演題 3「神経成長因子はヒトの持続性筋痛とトリガーポイント形成に関与する」

林功栄^{1, 2}、水村和枝³、Thomas Graven-Nielsen⁴、尾崎紀之¹（¹金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野、²名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野、³中部大学生命健康科学部理学療法学科、⁴Center for Sensory-Motor Interaction, Aalborg University）

14:15～14:30 コーヒーブレイク

セッション 2 進行係： 池田弘 先生（福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻）

14:30～14:50

演題 4「歯髄炎により発症する異所性疼痛異常の末梢機構」

松浦慎吾¹、清水康平^{1, 3}、篠田雅路^{2, 4}、小木會文内^{1, 3}、岩田幸一^{2, 4}（¹日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座、²生理学教室、³総合歯学研究所高度先端医療研究部門、⁴総合歯学研究所機能形態部門）

14:50～15:10

演題 5「延髄侵害受容性ニューロン応答特性の変調へのアストログリアの関与」

坪井美行（日本大学歯学部生理学教室）

15:10～15:30

演題 6「咀嚼が顔面皮膚の体性感覚に及ぼす影響」

岡安一郎、大井久美子（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科臨床病態生理学分野）

15:30 ~ 15:45 コーヒーブレイク

セッション 3 進行係： 田辺光男 先生（北里大学薬学部薬理学教室）

15:45 ~ 16:05

演題 7「帯状疱疹関連疼痛マウスモデルの動的アロディニア発生における脊髄後角への T リンパ球浸潤の関与」

佐々木淳、篠田篤、倉石泰（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室）

16:05 ~ 16:25

演題 8「**Bortezomib** 誘発性疼痛の動物モデルの作製とその特徴」

北村亮、安東嗣修、溝口静香、倉石泰（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学教室）

16:25 ~ 16:50

演題 9「**Intrathecal Administration of Botulinum Neurotoxin Type A Attenuates Formalin-Induced Nociceptive Responses in Mice**」

Hyun Jeong Kim, MD, MPH, PhD（Department of Dental Anesthesiology and Dental Research Institute, School of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea）

16:50 ~ 17:05 コーヒーブレイク

セッション 4 進行係： 田口徹 先生（名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II）

17:05 ~ 17:25

演題 10「神経障害性疼痛におけるモルヒネ先制鎮痛-下行性抑制系を介するリゾホスファチジン酸合成の抑制」

永井潤、植田弘師（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学分野）

17:25 ~ 17:45

演題 12「***In vivo*** パッチクランプ法により明らかとなった下行性疼痛抑制系を介した **dexmedetomidine** の新規鎮痛作用」

舟井優介^{1,2}、西川精宣²、森隆²、井本敬二^{1,3}、古江秀昌^{1,3}（¹生理学研究所神経シグナル研究部門、²大阪市立大学大学院医学研究科麻酔科学、³総合研究大学院大学生理科学）

17:45 ~ 18:05

演題 13「神経障害性疼痛下における内因性 GABA 伝達効率低下に起因した睡眠障害」

山下哲¹、堀内浩¹、柳瀬諒¹、鈴木勉²、成田年¹（¹星薬科大学薬理学教室、²星薬科大学薬品毒性学教室）

18:05 ~ 懇親会

12月22日(木)

9:00 ~ 9:45 教育講演 2

口腔顔面領域の不明痛の最近の知識

講師：今村佳樹 先生（日本大学歯学部口腔診断学講座）

司会：岩田幸一 先生（日本大学歯学部生理学教室）

セッション 5 進行係： 南雅文 先生（北海道大学薬学研究院薬理学研究室）

9:45 ~ 10:05

演題 14「脊髄後角における非侵害受容性神経終末 - II 層興奮性介在細胞コンタクトの解析」

八坂敏一¹、Sheena YX Tiong²、Erika Polgár²、藤田亜美¹、熊本栄一¹、Andrew J Todd²（¹佐賀大学医学部生体構造機能学講座、²グラスゴウ大学IBLS脊髄グループ）

10:05 ~ 10:25

演題 15「成熟ラットの脊髄後角における痛み伝達制御におけるオキシトシンの役割」

熊本栄一、蔣昌宇、藤田亜美、柳涛、徐年香、水田恒太郎、井上将成、川崎弘貴、八坂敏一、上村聡子、松下晋大（佐賀大学医学部生体構造機能学講座（神経生理学分野））

10:25 ~ 10:45

演題 16「脊髄後角での神経可塑性の神経活動イメージングによる解析」

池田弘、村瀬一之（福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻）

10:45 ~ 11:00 コーヒーブレイク

セッション 6 進行係： 尾崎紀之 先生（金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野）

11:00 ~ 11:20

演題 17「僧帽筋炎に伴った顎顔面部の異所性異常疼痛発症における Fractalkine の関与」

清本聖文¹、篠田雅路²、今村佳樹¹、岩田幸一²（¹日本大学歯学部口腔診断学講座、²日本大学歯学部生理学教室）

11:20 ~ 11:40

演題 18「慢性椎間板性腰痛機序の検討」

宮城正行、石川哲大、大鳥精司、井上玄、鴨田博人、新井玄、鈴木都、佐久間詳浩、及川泰宏、高橋和久、川上守（千葉大学大学院医学研究院整形外科学）

11:40 ~ 12:00

演題 19「腰椎椎間板ヘルニアの病態と治療 -ラット髄核留置モデルを用いての検討-」

関口美穂、菊地臣一、紺野慎一（福島県立医科大学医学部整形外科学講座）

12:00 ~ 12:50 昼食

セッション7 進行係： 眞下 節 先生（大阪大学大学院医学系研究科生体統御医学講座）

12:50～13:10

演題 20「神経障害性疼痛における転写因子 IRF5 の役割」

吉永遼平¹、津田誠¹、増田隆博¹、西本奈央¹、齋藤秀俊¹、田村智彦²、井上和秀¹（¹九州大学大学院薬学研究院薬理学分野、²横浜市立大学大学院医学研究科免疫学教室）

13:10～13:30

演題 21「末梢神経障害後早期に脊髄後角ミクログリアに特異的に発現する新規転写因子の役割」

増田潤哉、齋藤秀俊、米田聡介、津田誠、井上和秀（九州大学大学院薬学研究院薬理学分野）

13:30～13:50

演題 22「舌神経圧迫モデルラットに発症する機械的および熱痛覚過敏に対する Satellite glial cell における P2Y12 receptor の関与」

片桐綾乃^{1,2}、篠田雅路²、豊福明¹、岩田幸一²（¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯科心身医学分野、²日本大学歯学部生理学教室）

13:50～14:00 コーヒーブレイク

セッション8 進行係： 中川貴之 先生（京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野）

14:00～14:30

演題 23「痛みによる不快情動生成における分界条床核の役割」

南雅文（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室）

14:30～14:50

演題 24「仔マウスが親に運ばれる時に示す輸送反応：制御機構および侵害受容応答変化の検討」

吉田さちね¹、Gianluca Esposito¹、恒岡洋右¹、大西竜子¹、菊水健史²、加藤忠史³、黒田公美¹（¹理化学研究所脳科学総合研究センター黒田研究ユニット、²麻布大学獣医学部伴侶動物学研究室、³理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム）

14:50～15:10

演題 25「ラット培養後根神経節細胞の機械感受性電流の低 pH による感作機構について」

久保亜抄子^{1,2}、水村和枝²（¹名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II、²中部大学生命健康科学部理学療法学科）

15:10～15:30

演題 26「光学異性体の痛覚伝達に対する選択的抑制効果」

歌大介¹、井本敬二^{1,2}、古江秀昌^{1,2}（¹生理学研究所神経シグナル研究部門、²総合研究大学院大学 生理科学）

セッション9 進行係： 古江秀昌 先生（自然科学研究機構生理学研究所神経シグナル研究部門）

15:30～15:50

演題 27「辛い味トウガラシの成分、カプシエイトによる TRPA1 活性化」

内田邦敏、新宅健司、Zhou Yiming、鈴木喜郎、富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門）

15:50 ~ 16:10

演題 28 「TRPM2 を介した炎症性および神経障害性疼痛発症のメカニズム」

勇昂一¹、原口佳代¹、河本 愛¹、朝倉佳代子¹、白川久志¹、森 泰生²、中川貴之¹、金子周司¹（¹京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野、²工学研究科合成・生物化学専攻分子生物化学分野）

16:10 ~ 16:30

演題 29 「カプサイシンを生後 2 日、15 日目投与マウスの炎症誘発後の侵害刺激に対する応答の変化」

樋浦明夫¹、中川弘²、江口寛³（¹徳島大学歯学部口腔組織学教室、²徳島大学病院障害者歯科、³徳島大学病院歯科麻酔）

16:30 閉会の挨拶

富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

The Itching Line: The Cellular Basis of Itch Detection and Transmission

講師 : Alexander Binshtok 先生
The Hebrew University Medical School

Itch is a complex cutaneous sensation evoked by variety of factors. Pharmacologically, inhibition of histamine H1 receptors by antihistamine administration is an effective treatment for many types of itch. However, antihistamines cannot effectively reduce histamine-independent itch including itch caused by liver disease, kidney failure, diabetes, cancer, or itch induced by the malaria drug chloroquine. In primary afferent neurons, distinct signal transduction pathways have been identified for various pruritogens including histamine, the MrgprA3 agonist chloroquine (CQ), and the MrgprC11 agonist bovine adrenal medulla 8-22 (*BAM8-22*) peptide. While the molecular pathways for histamine-evoked itch and histamine independent itch are clearly distinct, the transduction pathways for histamine-dependent itch and histamine-independent itch may still share a common cellular identity. Indeed, the MrgprA3 receptor was found to be expressed among neurons that co-expressed histamine receptors, while MrgprC11 was observed in a subset of neurons that expressed receptors for both MrgprA3 and histamine. *Is it possible, instead, that the distinct itch-modalities responsive to unique pruritogens represent cellularly discrete labeled lines for histamine itch and histamine-independent itch?*

Another puzzling findings demonstrated that itch is modulated by an array of noxious stimuli. *Does this mean that pain and itch share common detection and transmission mechanisms?*

To settle these dilemmas the method that will temporarily but reversibly block specific itch or pain transmitting fibers form is needed. Here we adapt the method we previously reported for achieving pain-selective peripheral nerve block by targeting the charged, membrane-impermeable lidocaine derivative *N*-ethyl-lidocaine (QX-314) through capsaicin-activated transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels to electrically silence functional subsets of itch-sensing neurons. By blockade of signal transmission of select populations of peripheral itch fibers we reveal that distinct populations of itch-specific primary afferent fibers mediate histamine-dependent and histamine-independent itch independent of pain or tactile sensation.

演題 1

「線維筋痛症モデルにおける皮膚侵害受容器活動の解析」

田口徹¹、水村和枝² (1名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II、²中部大学生命健康科学部理学療法学科)

線維筋痛症 (fibromyalgia, FM)、または線維性筋痛症候群 (fibromyalgia syndrome, FMS)は全身性の痛みを主症状とし、種々の自律神経症状や精神症状を随伴する慢性難治性疾患である。近年、FM の動物モデルがいくつか開発され、有効薬物の探索を目的とした行動薬理実験が行われているが、FM の神経機構、特に、末梢神経機構は未解明である。本研究では、生体アミンの枯渇剤である reserpine 投与による FM モデル [Nagakura et al. *Pain* 146: 26-33, 2009] を用い、皮膚細径線維 (Aδ-、および C 線維)の侵害刺激受容特性、および軸索伝導特性を体系的に調べた。FM モデルにおけるもっとも顕著な変化は、機械感受性 C 線維侵害受容器の割合の低下、およびこれに伴う機械感受性のない C 線維受容器の割合の増加であった。一方、残存したと思われる機械感受性 C 線維侵害受容器の一般的特性 (受容器タイプの割合、伝導速度、自発放電、受容野の分布)、および侵害刺激 (機械・化学・温度刺激) に対する反応特性に有意な変化はなかった。また、FM モデルの神経軸索では、繰り返し電気刺激(5 Hz, 10 sec)による活動依存的伝導速度変化(Activity-dependent change of conduction velocity, ADCCV)が有意に小さかった。これらの結果より、reserpine 投与による FM モデルでは、機械感受性皮膚 C 線維侵害受容器の多くが機械感受性を失うが、一方で、軸索の伝導特性は温存されと考えられた。今後、上述の変化がどのように本モデルにおける痛覚過敏行動を惹起するか検討する必要がある。

演題 2

「ラット下腿筋膜の侵害受容組織としての特性」

安井正佐也¹、田口徹²、水村和枝³、木山博資¹（¹名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野、²名古屋大学環境医学研究所神経系分野Ⅱ、³中部大学生命健康科学部理学療法学科）

近年、筋・筋膜性疼痛の病態メカニズムが解明されつつあるが、その主たる研究対象は筋組織である。一方、筋膜は支持組織としての認識が強く、侵害受容に関する報告は少ない。我々は筋膜に起因する侵害受容の末梢神経機構を解明する目的で、1) ラット下腿筋膜の正常構造、2) 侵害受容線維の分布、3) 細径線維受容器の電気生理学的反応特性、について体系的に調べた。下腿筋膜は近位部と中間・遠位部において、線維芽細胞層に挟まれた1層、もしくは2層のコラーゲン層を有し、部位による正常構造の違いが観察された。また、神経線維マーカーである PGP9.5 陽性線維は下腿筋膜全体に分布していたが、侵害受容線維マーカーである CGRP 陽性線維は下腿筋膜の遠位 1/3 に密に分布していた。電気生理学的に下腿筋膜へのピンチ刺激に応じる細径線維受容器が存在したが、このうち A- δ 線維の受容野は下腿筋膜全体に分布し、主として機械刺激のみに応じた。一方、C 線維の受容野は下腿筋膜の遠位 1/2～1/3 に密に分布し、その多くはブラジキニンや侵害熱刺激に応じるポリモーダル受容器であった。下腿筋膜での CGRP 陽性線維の分布は、電気生理学実験で観察された C 線維の受容野とよく一致した。下腿筋膜は正常時の侵害受容を担うことが明らかになり、これまで骨格筋の他動的な支持組織としてしか捉えられていなかったが、侵害受容組織としても生体においてアクティブな役割を果たしていると考えられた。

演題 3

「神経成長因子はヒトの持続性筋痛とトリガーポイント形成に関与する」

林功栄^{1, 2}、水村和枝³、Thomas Graven-Nielsen⁴、尾崎紀之¹ (1 金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野、²名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野、³中部大学生命健康科学部理学療法学科、⁴Center for Sensory-Motor Interaction, Aalborg University)

【背景】筋・筋膜性疼痛症候群(MPS)は 1)持続性筋痛、2)筋硬結の触知、3)関連痛を誘発する痛覚過敏点(トリガーポイント)の存在が特徴的な筋痛病態で、有病率は約 3%と報告されており、慢性的な頸肩部痛や腰痛の原因となっているがその病態メカニズムの詳細は不明である。我々はこれまでに、ラットへの伸張性収縮運動の連日負荷により MPS の特徴である筋硬結を伴う持続性筋痛動物モデル(MPS 様モデル)を開発し、本モデルにおける筋の機械性痛覚過敏に神経成長因子(NGF)が関与することを明らかにした(Hayashi et al., 2011)。一方、ヒト実験において、NGF の単回筋内投与が一過性の筋の機械性痛覚過敏を引き起こすことが報告されている。そこで今回、ヒトの前脛骨筋に NGF を連日筋内投与することで MPS の特徴である持続性筋痛と関連痛を誘発するトリガーポイントが生じるかどうか調べた。

【方法】本実験は二重盲検ランダム化比較試験で行った。健康な成人被験者(平均年齢 30 歳、男性 7 名、女性 5 名)の前脛骨筋に NGF または生理食塩水(コントロール)を 3 日間連日注射(1 日 1 回 5 µg/0.2 ml)し、筋の圧痛閾値、Likert scale diary(筋痛スケール)、関連痛放散領域について調べた。

【結果】NGF の 3 日間連日筋内投与により、10 日間持続する有意な圧痛閾値の低下と、筋痛スケールを用いた評価において 16 日間持続する有意な筋痛が観察された。また、NGF 注射部位に、圧迫により広範な関連痛が誘発されるトリガーポイント様痛覚過敏点が形成された。

【結論】ヒトへの NGF の連日筋内投与により MPS の特徴である持続性筋痛と関連痛を誘発するトリガーポイントが形成された。NGF は MPS の発症に関与する重要な因子と思われる。

参考文献

Hayashi K, Ozaki N, Kawakita K, Itoh K, Mizumura K, Furukawa K, Yasui M, Hori K, Yi SQ, Yamaguchi T, Sugiura Y. Involvement of NGF in the rat model of persistent muscle pain associated with taut band. J Pain 2011;12:1059-1068.

演題 4

「歯髄炎により発症する異所性疼痛異常の末梢機構」

松浦慎吾¹、清水康平^{1,3}、篠田雅路^{2,4}、小木會文内^{1,3}、岩田幸一^{2,4}（¹日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座、²生理学教室、³総合歯学研究所高度先端医療研究部門、⁴総合歯学研究所機能形態部門）

【目的・方法】歯髄炎が引き起こされると、患歯だけでなく隣在歯や口腔顔面領域に異所性の疼痛異常が誘導されることがある。本研究では歯髄炎モデルラットを作製し、隣在歯の歯髄刺激により活性化される三叉神経節(TG)細胞をリン酸化 ERK(pERK)を指標に検索し、歯髄炎によって引き起こされる異所性疼痛異常の末梢神経機構の一端を解明することを目的とした。ラットを麻酔後、右側上顎第一臼歯歯髄(M1)を露髄し起炎物質 CFA を塗布し仮封した。3 日後に同ラットと同側上顎第二臼歯歯髄(M2)を露髄し、10mM カプサイシン(Cap)刺激し 5 分後に灌流固定して TG を摘出し、pERK 陽性細胞の発現様式を解析した。さらに、神経トレーサーである FG 及び DiI をそれぞれ M1 及び M2 に注入し、一つの TG 細胞が複数歯を支配する可能性を検証した。

【結果】M1 と M2 歯髄を支配する TG 細胞の内、5.8%が両歯髄を支配していた。M1 に炎症が起ると M2 への Cap 刺激により pERK 陽性細胞が増加し、M1 を支配している TG 細胞でも活性化が認められた。

【結論】 1) 複数歯を支配する TG 細胞が存在し、歯髄炎を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が隣在歯をも同時に支配しており、隣在歯における侵害情報伝達が亢進された可能性が考えられる。 2) 炎症を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が隣接した他の歯髄を支配する TG 細胞に作用し、興奮性を異常に亢進する可能が示された。

演題 5

「延髄侵害受容性ニューロン応答特性の変調へのアストログリアの関与」

坪井美行（日本大学歯学部生理学教室）

慢性歯髄炎モデル動物の三叉神経脊髄路核尾側亜核侵害受容ニューロンの反応性の変化へのアストログリアの関与を明らかにすることを目的にした。実験には SD 系雄性ラットを用い、7 週齢時に 2%ハロタン麻酔下でデンタルドリルを使用し、左側下顎第 1 大臼歯の咬合面を切削し歯髄を露出させ、歯髄炎を発症させた。術後 1、3、5、7、14、21、28 日目に von Frey Filaments を用いてオトガイ部皮膚を定量的に機械刺激し、逃避行動閾値を測定した。機械刺激に対する逃避閾値は、歯髄開放後 3 日目より有意に低下し、5 日目から 7 日目をピークに 28 日目続いた。三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) より、全身麻酔下 (urethane (1 g/kg) と α -chloralose (50 mg/kg) の混合液を i.p.) で、左側の下歯槽神経支配に受容野を持つ単一侵害受容ニューロン活動を記録した後、グルタミン合成酵素の抑制剤である methionine sulfoximine (MSO) を脳脊髄液に添加した後の誘発反応を調べた。さらに、ガス麻酔下で MSO を硬膜内注射し機械刺激に対する逃避行動の変化を調べた。歯牙を切削していない動物をコントロールとした。コントロール動物と比較して、露髄させた動物の Vc 侵害受容ニューロンの誘発反応の有意の増加と受容野の拡大が認められ、MSO の延髄への投与で刺激誘発反応の増加の抑制が認められた。コントロール群で記録された侵害受容ニューロンの誘発反応は、MSO の投与による有意な変化は記録できなかった。MSO を硬膜内注射した後、機械刺激に対する逃避行動閾値の有意の上昇が認められた。以上のことから、歯髄開放による慢性歯髄炎モデル動物における機械刺激に対する閾値の低下は、三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロンの感作により引き起こされている可能性が示唆された。

演題 6

「咀嚼が顔面皮膚の体性感覚に及ぼす影響」

岡安一郎、大井久美子（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科臨床病態生理学分野）

目的: ガム咀嚼が顔面皮膚の感覚閾値、痛覚閾値に及ぼす影響を調べることを目的とした。

方法: 被験者は健常ボランティア 14 名（男性 7 名、女性 7 名、年齢 27 歳～40 歳）とした。精神物理学的手法の一つである stair-case method を用いて、顔面皮膚（cheek skin: CS）ならびに手指の皮膚（thenar skin: TS）の感覚閾値（tactile detection threshold: TDT）、痛覚閾値（filament-prick pain detection threshold: FPT）を、5 分間のガム咀嚼前後（条件 1）と、コントロールとして、5 分間の下顎安静位前後（条件 2）で測定し、比較を行った。

結果: 実験条件の違いに関わらず、全ての測定部位において、5 分後に TDT の上昇が認められた。

FPT に関しては、実験条件間で 5 分後の反応に違いが認められた。すなわち、実験条件 1 では、5 分後、FPT が上昇あるいは変化しないのに対して、実験条件 2 では、FPT の減少が認められた。

さらに、左右の CS において、二つの実験条件間で、5 分後の FPT に有意差が認められた。

考察: 5 分後における TDT の上昇と FPT の減少は、それぞれ、非連合学習である「慣れ」と「感作」によるものであるが、ガム咀嚼後では「感作」は認められなかった。この咀嚼に伴う体性感覚の変調の仕組みを解明するために、今後、基礎と臨床の両面からさらに研究を進めていく必要がある。

演題 7

「带状疱疹関連疼痛マウスモデルの動のアロディニア発生における脊髄後角への T リンパ球浸潤の関与」

佐々木淳、篠田篤、倉石泰（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室）

ヒトヘルペスウイルス 1 の経皮接種により作製する带状疱疹関連疼痛のマウスモデルを用いて、動のアロディニア発生における脊髄後角への T リンパ球浸潤の関与を検証した。带状疱疹痛期の脊髄後角に T リンパ球（ヘルパーT 細胞およびキラーT 細胞）の著明な浸潤が認められ、T リンパ球の浸潤と対応して T リンパ球走化性ケモカイン CCL5 の mRNA 発現増加も認められた。T リンパ球の浸潤は带状疱疹期で最大となった後徐々に減少したが、带状疱疹後神経痛期でも浸潤が認められた。リンパ球遊走阻害薬 FTY720 を 0.3mg/kg の用量でウイルス接種の翌日から 1 日 1 回繰り返し経口投与すると動のアロディニアの発生が有意に抑制された。また、带状疱疹痛マウスの脾臓から分離したヘルパーT 細胞を 37℃のリン酸緩衝生理食塩水中で 1 時間インキュベーションし、その細胞懸濁液あるいは遠心後の上清を健常マウスに髄腔内投与すると動のアロディニアが生じ、キラーT 細胞の細胞懸濁液の髄腔内投与では動のアロディニアは生じなかった。带状疱疹痛初期の脊髄後角において、ヘルパーT 細胞の代表的なサイトカインであるインターフェロン γ の mRNA 発現が顕著に増加し、インターフェロン γ を健常マウスに髄腔内投与すると動のアロディニアが生じた。以上から、T リンパ球、特にヘルパーT 細胞の脊髄後角への浸潤が带状疱疹による動のアロディニアの発生に重要な役割を果たすこと、ヘルパーT リンパ球が産生するインターフェロン γ が動のアロディニア誘発分子の一つである可能性が示唆される。

演題 8

「Bortezomib 誘発性疼痛の動物モデルの作製とその特徴」

北村亮、安東嗣修、溝口静香、倉石泰（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学教室）

Bortezomib (Bzb) は多発性骨髄腫等に用いられている抗癌薬であり、末梢神経障害とそれに伴う疼痛が問題となっている。しかし、その予防・治療法は確立されていない。本研究では、Bzb 誘発疼痛のマウスモデルを作製し、その薬理学的特徴について検討した。実験には雄性 C57BL/6NCr 系マウスを用いた。Bzb (0.03~0.3 mg/kg) は、単回尾静脈内注射した。機械的アロディニアは von Frey 線維による凹み刺激、冷ディセスセジアは acetone による冷刺激誘発される疼痛様行動をスコア付けして行なった。また、熱的痛覚過敏は輻射熱照射による熱刺激に対する反応潜時を測定することで評価した。Bzb は投与後 12 日目をピークとした機械的アロディニアを生じたが、熱的痛覚過敏及び冷ディセスセジアは観察されなかった。Bzb 誘発機械的アロディニアは、morphine 及び gabapentin の単回投与で抑制されたが、diclofenac では抑制されなかった。また、Bzb 投与日より毎日 1 回 limaprost を繰り返し投与は、機械的アロディニアを抑制しなかった。上記の結果は、これまでの研究における oxaliplatin, paclitaxel 及び vincristine で誘発される機械的アロディニアに対する morphine と diclofenac の効果とは類似していた。しかし、gabapentin と limaprost が、oxaliplatin 及び paclitaxel による機械的アロディニアを抑制したが、vincristine 誘発の疼痛様行動を抑制しなかった知見を勘案すると、Bzb 誘発アロディニアの薬物反応性は、他の抗癌薬誘発で誘発されるアロディニアの薬物反応性とは異なっていた。これらのことから、Bzb 誘発アロディニアの発生の機序が少なくとも一部は他の抗癌薬とは異なることが示唆される。

演題 9

「Intrathecal Administration of Botulinum Neurotoxin Type A Attenuates Formalin-Induced Nociceptive Responses in Mice」

Hyun Jeong Kim, MD, MPH, PhD (Department of Dental Anesthesiology and Dental Research Institute, School of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea)

BACKGROUND: Botulinum neurotoxin type A (BoNT/A) has been used as an analgesic for controlling chronic pain. Although an antinociceptive effect of central or peripheral administration of BoNT/A is suggested, the effect at the spinal level is still unclear. In this study, we evaluated the antinociceptive effect of intrathecally administered BoNT/A on the ICR mice during the formalin test.

METHODS: BoNT/A (0.01 U/mouse) was injected intrathecally in ICR mice, and we observed formalin-induced inflammatory pain behaviors at days 1, 4, 7, 10, 14, 21, and 28 after the injection. We also examined the level of calcitonin gene-related peptide (CGRP), phosphorylated extracellular signal-regulated kinases (p-ERK), and phosphorylated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase type 2 (p-CaMK-II) using immunoblot or immunohistochemical analyses before and after BoNT/A intrathecal injection.

RESULTS: Even a single intrathecal injection of BoNT/A significantly decreased the nociceptive responses in the first phase (10 and 14 days later) and in the second phase of the formalin test at 1, 4, 7, 10, and 14 days later ($P < 0.05$) without any locomotor changes. Interestingly, intrathecal BoNT/A attenuated the expression level of CGRP, p-ERK, and p-CaMK-II in the 4th and 5th lumbar spinal dorsal horn at 10 days after injection in comparison with control.

CONCLUSIONS: We showed that intrathecally administered BoNT/A may have a central analgesic effect on inflammatory pain through the modulation of central sensitization. BoNT/A, with its long-lasting antinociceptive effect, may be a useful analgesic for controlling inflammatory pain. (Anesth Analg 2011;112:228–35)

演題 10

「神経障害性疼痛におけるモルヒネ先制鎮痛-下行性抑制系を介するリゾホスファチジン酸合成の抑制」

永井潤、植田弘師（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学分野）

我々は、末梢神経障害によって生じる神経障害性疼痛の初発原因分子として、脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸 (LPA) を同定している (Nature Medicine, 2004)。この分子は脊髄後角で産生され、LPA₁受容体を介して疼痛関連分子の発現増加や知覚神経の脱髄現象を誘発する。しかしながら、このLPA産生が神経障害時に生じる疼痛刺激によって産生されているかは不明のままであった。

一方、我々は神経障害の処置前にモルヒネの全身投与を行ったところ、その後に続く慢性疼痛の形成は抑制され、神経障害後にモルヒネ投与を行ったマウスにおいては、神経障害性疼痛は抑制されないことを見出している。実際、先制鎮痛という治療法において、術中などのあらかじめ予想される侵害刺激に対して予防的にモルヒネなどの鎮痛薬を処置し、神経障害発症初期のメカニズムを抑制することで術後痛などに効果をあげている。本研究では、このモルヒネによる先制鎮痛が神経障害時のLPA産生を抑制するかを坐骨神経障害モデルマウスにおいて検討した。脳脊髄液では、LPA合成酵素であるオートタキシン(ATX)が豊富に存在しており、前駆体であるリゾホスファチジルコリン(LPC)の合成がLPA産生の律速段階であると考えられているため、ここではLPCの定量を行った。LPCの定量については、マトリックスを用いないNALDI-TOF-MS法を用いて複数のLPC分子種の一斉解析を行ったところ、神経障害75分後の後根神経と脊髄において、16:0,18:0,18:1-LPCが増加していた。また、このLPC産生増加はモルヒネを脳室内に前投与することにより、ほぼ完全に抑制された。以上のことから、神経障害時に生じる強力な痛み刺激がLPAを合成し、神経障害性疼痛の形成に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

演題 11

「モルヒネ鎮痛耐性を制御するミクログリアを介したアンチオピオイド機構の解明」

西建也、植田弘師（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学分野）

これまでの国内外の研究からモルヒネ鎮痛耐性には様々な分子機構が報告されているが、我々はグルタミン酸-NMDA受容体を介するアンチオピオイド機構が重要な役割を担うことを証明してきた。具体的には、モルヒネ慢性投与は中脳水道周囲灰白質（PAG）におけるグルタミン酸-NMDA受容体機能の活性化、いわゆるアンチオピオイド機構の亢進による補償機構（Counterbalance）を介して鎮痛耐性を生じる、という考え方である。本研究ではこのアンチオピオイド機構を亢進するメカニズムの解明を目的とし、BDNFとミクログリアの関与について検討した。BDNF抗体を脳室内投与することでモルヒネ鎮痛耐性を抑制することを報告しており、鎮痛耐性における脳内BDNFの関与について明らかにしている（Neuroreport, 2009）。ここで、Cre-loxPシステムを用いた領域特異的BDNF欠損マウスを用いてより詳細な検討を行ったところ、PAG特異的BDNF欠損マウスにおいて鎮痛耐性の抑制が認められた。また、モルヒネ投与によりPAG領域においてミクログリアの活性化が見られたため、脳内ミクログリアの関与について検討した。ミクログリア活性抑制剤ミノサイクリンを脳室内投与したとき、モルヒネ鎮痛耐性が抑制され、またBDNF産生上昇が消失した。同様なモルヒネ鎮痛耐性抑制は活性化ミクログリア除去剤クロドロネートリポソームの脳室内投与によっても観察された。以上のことから、BDNFを介する神経-グリアネットワークがアンチオピオイド機構において重要な役割を果たす可能性が示唆された。

演題 12

「*In vivo*パッチクランプ法により明らかとなった下行性疼痛抑制系を介した dexmedetomidine の新規鎮痛作用」

舟井優介^{1, 2}、西川精宣²、森隆²、井本敬二^{1, 3}、古江秀昌^{1, 3} (1 生理学研究所神経シグナル研究部門、2 大阪市立大学大学院医学研究科麻酔科学、3 総合研究大学院大学生理科学)

Dexmedetomidine (DEX) は選択性の高い $\alpha 2$ アドレナリン受容体作動薬であり、鎮静薬として使用されるが鎮痛作用も併せ持つと考えられている。スライス標本を用いた電気生理学的研究から、痛みの伝達や調節に重要な役割を果たす脊髄後角第 II 層、膠様質において DEX は $\alpha 2$ 受容体を介して細胞を過分極することが報告されている。しかし、DEX が実際に *in vivo* でどのような鎮痛作用を有するか詳細は不明であるため、今回我々は *in vivo* パッチクランプ法を用い、静脈より投与した DEX の鎮痛作用をシナプスレベルで詳細に検討し、新たな鎮痛機序を見出した。

成熟雄性ラットをウレタン麻酔下に腰部脊髄を露出し、膠様質細胞からホールセルパッチクランプ記録を行った。DEX は静脈より投与し、その他の薬剤は Krebs 液に溶解し脊髄表面に灌流投与した。まず、von Frey test により鎮痛効果を示す用量を測定すると、1 $\mu\text{g/kg}$ から逃避行動の閾値が上昇した。しかし、*in vivo* パッチクランプ記録を行って膠様質細胞の過分極を測定すると、10 $\mu\text{g/kg}$ 以上の高用量が必要であった。一方、興味深いことに 0.01~10 $\mu\text{g/kg}$ の低用量で DEX は用量依存性に抑制性シナプス電流 (IPSC) の頻度と振幅を著明に増加させた。この DEX の IPSC 増加作用はノルアドレナリンの脊髄投与に対する応答と類似し、 $\alpha 1$ 受容体拮抗薬で抑制された。また、頸髄を半切したラットでは DEX の作用は見られなかった。以上の結果より、DEX の臨床量での全身投与はノルアドレナリン下行性疼痛抑制系の活性化を介し、脊髄膠様質で抑制性シナプス伝達を増加させて鎮痛作用を現すことが示唆された。

演題 13

「神経障害性疼痛下における内因性 GABA 伝達効率低下に起因した睡眠障害」

山下哲¹、堀内浩¹、柳瀬諒¹、鈴木勉²、成田年¹（¹星薬科大学薬理学教室、²星薬科大学薬品毒性学教室）

慢性疼痛患者は、その痛みのために睡眠障害に陥ることが多く、そのために不安やうつ症状の悪化、さらに QOL の低下を引き起こすことが臨床上問題となっている。そこで本研究では、疼痛による睡眠障害機構について神経機能解剖学的解析を行った。神経障害性疼痛モデルマウスにおける睡眠パターンを検討した結果、睡眠障害が認められた。次に、fMRI を用いて神経の活性変化の可視化を試みたところ、結紮群の帯状回領域において活性化が認められた。このような条件下、帯状回領域におけるグルタミン酸遊離量を測定した結果、増加が認められた。続いて、疼痛下におけるアストロサイトの形態変化と gaba transporter-3 (GAT-3) の局在を検討したところ、帯状回領域において、アストロサイトの突起伸展および伸展した突起上に GAT-3 の免疫活性が認められた。また、マウス大脳皮質由来初代培養グリア細胞にグルタミン酸を加えた後、アストロサイトに存在する GAT-3 の細胞内挙動を観察したところ、膜への移行が観察された。さらに、帯状回領域に GAT-3 inhibitor を微量注入した際の脳波を測定した結果、結紮群においてみられた睡眠障害の改善が認められた。以上、本研究の結果より、帯状回領域の活性化に伴うグルタミン酸遊離量の増加に起因した GABA 神経系機能変化が、睡眠障害を引き起こすものと考えられる。

口腔顔面領域の不明痛の最近の知識

講師：今村佳樹 先生

日本大学歯学部口腔診断学講座

口腔顔面領域は診断のつかない難治性疼痛が多いと言われます。これら不明痛を主訴に受診する患者において、診断可能なもので最も多いのは、筋筋膜痛に伴う関連痛です。筋筋膜痛が生じる原因は、患者それぞれの噛み合わせの習慣にあり、この悪習慣は本人が気づかないところで行っています。弱い噛み合わせを常時行うことで噛み合わせの筋を疲労させており、その悪習慣を気づかせ筋をストレッチさせることで疼痛の軽減が可能です。一方、口腔内の不明痛としては、筋筋膜痛の関連痛では説明のつかない不明痛が存在し、非定型歯痛、バーニングマウス症候群として診断されます。これらは、すべての器質的疾患が除外診断されたあとに診断をつけるもので、心因的な疼痛の一種として考えられてきました。しかし、近年これらの疼痛が一種の神経障害性疼痛ではないかと考えられるようになってきました。その根拠となっているものは、定量感覚検査における口腔領域の感覚異常の証明にあります。この発表においては、これら不明痛の最近の知識について取り上げてみたいと思います。

演題 14

「脊髄後角における非侵害受容性神経終末 - II 層興奮性介在細胞コンタクトの解析」

八坂敏一¹、Sheena YX Tiong²、Erika Polgár²、藤田亜美¹、熊本栄一¹、Andrew J Todd² (¹佐賀大学医学部生体構造機能学講座、²グラスゴウ大学 IBLS 脊髄グループ)

脊髄後角は末梢からの感覚情報を脳へと中継すると同時にその情報を修飾している。侵害受容性線維からの入力を受ける I 層の投射細胞や II 層の介在細胞には、GABA_A 受容体阻害薬存在下で観察されるポリシナプス性の入力があり、脱抑制による痛覚閾値低下との関連が示唆されている。II 層には多様な形態を持つ興奮性や抑制性の介在細胞が存在し、感覚情報の修飾に重要な役割を担っている。それらは形態学的に 4 つのグループに分類できるが、その中で、興奮性細胞の一種 **vertical cell** は、細胞体が膠様質浅層部に位置し、樹状突起を深層へ、軸索を I 層の投射細胞へと伸ばしている。一方、後角へ入力する侵害受容性 A δ 線維は I 層へ、非侵害受容性 A β 及び A δ 線維は II - III 層境界から深層へと投射している。また、前者の終末には小胞型グルタミン酸輸送体 2 (vGlut2)、後者の終末には vGlut1 が選択的に発現している。上述の **vertical cell** は A 線維の入力を受けるが、どの A 線維から入力を受けているのかは明らかでない。そこで、今回 **vertical cell** が vGlut1 とコンタクトしているかどうかを調べた。その結果、調べた複数の細胞で、そのスパインと vGlut1 終末がコンタクトしていることを観察することができた。このことは、**vertical cell** が、非侵害受容性線維からの入力をポリシナプス性に I 層投射細胞（侵害受容性線維からの入力を持つ）へ伝えている可能性があり、興味深い。痛覚異常のメカニズムにこの「非侵害受容性 A 線維 - **vertical cell** - I 層投射細胞」の神経回路が関わっている可能性が示唆される。

演題 15

「成熟ラットの脊髄後角における痛み伝達制御におけるオキシトシンの役割」

熊本栄一、蔣昌宇、藤田亜美、柳涛、徐年香、水田恒太郎、井上将成、川崎弘貴、八坂敏一、上村聡子松下晋大（佐賀大学医学部生体構造機能学講座（神経生理学分野））

オキシトシンは 9 残基のアミノ酸からなるペプチドであり、視床下部のニューロンで合成された後に下垂体後葉から神経分泌され、子宮筋収縮や射乳の作用を持つことはよく知られている。オキシトシンは男性にも存在しているが、その生理作用は不明であった。最近、オキシトシンが学習や記憶、社会認識、心血管系の調節、ストレス反応および痛みに関与していることが報告されるなど、上記以外の作用が注目されている。オキシトシン作動性神経は視床下部から脊髄後角へ投射しているが、このペプチドが痛み伝達に及ぼす作用の細胞レベル機序はまだ十分に調べられていない。今回、成熟雄性ラットの脊髄横断スライス標本にパッチクランプ法を適用して、痛み伝達の制御に重要な役割を果たす後角第 II 層（膠様質）ニューロンに及ぼすオキシトシンの作用を調べた。保持膜電位 -70 mV で灌流投与したオキシトシン ($0.5\text{ }\mu\text{M}$) は内向き膜電流を生じる一方、自発性興奮性シナプス伝達に影響を及ぼさなかった。この内向き膜電流は、灌流投与中から脱感作を示し、除去後に脱感作から回復するのに 1 時間以上を要した。このような応答は、 $0.01\sim 5\text{ }\mu\text{M}$ の範囲で濃度の増加と共に大きくなり、電位作動性 Na^+ チャネルやグルタミン酸受容体の阻害薬および無 Ca^{2+} 溶液による影響を受けなかった。また、オキシトシン応答は、オキシトシン受容体阻害薬の存在下で消失し、オキシトシン受容体作動薬はオキシトシンと同様な作用を示した。細胞内から $\text{GDP-}\beta\text{-S}$ を投与するとオキシトシン応答は消失した。以上より、オキシトシンは、その受容体を直接活性化して膜を脱分極させ、膜興奮性を増加させると考えられる。この作用は、多くの内因性鎮痛物質の作用と異なることから、疼痛に寄与することが示唆される。

演題 16

「脊髄後角での神経可塑性の神経活動イメージングによる解析」

池田弘、村瀬一之（福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻）

痛覚過敏は、脊髄後角ニューロンの可塑的变化によって興奮性が増強するために起きると考えられている。近年、グリア細胞が痛覚過敏および可塑性に関与していることが多く報告されている。本研究では、炎症性痛覚過敏と損傷性痛覚過敏のモデル動物を作成し、それらの脊髄後角神経興奮の増強へのグリア細胞の関与を、膜電位イメージングとカルシウムイメージングによって調べた。実験の結果、後根への単発刺激によって起きる脊髄後角での神経興奮は、コントロールに比べて炎症、損傷のどちらのラットでも増大していた。このような増強にグリア細胞が関与しているかをグリア細胞の抑制剤、p38MAPK, JNK の抑制剤、および、P2X₄ 受容体の拮抗薬を還流することによって調べた。実験の結果、神経損傷ラットの神経興奮増強には、ミクログリアが深く関与しており、炎症ラットの神経興奮増強にはアストロサイトが深く関与していることがわかった。また、神経損傷ラットでは、ATP の還流によってカルシウムシグナルを示す細胞の数がコントロールに比べて顕著に増大していた。また、このようなカルシウムシグナルは、ミクログリアの抑制および P2X₄ 受容体の拮抗によって抑制された。これらの結果は、神経損傷によって起きる増強には、主にミクログリアが関与しており、炎症によって起きる増強には、主にアストロサイトが関与していることを示唆する。

演題 17

「僧帽筋炎に伴った顎顔面部の異所性異常疼痛発症における Fractalkine の関与」

清本聖文¹、篠田雅路²、今村佳樹¹、岩田幸一²（¹日本大学歯学部口腔診断学講座、²日本大学歯学部生理学教室）

顎顔面に異常疼痛を訴える患者の多くは、僧帽筋痛を随伴していることから、僧帽筋痛と顎関節部の異常疼痛との間には、何らかの関与があると考えられるがその発症期所の詳細は不明である。そこで、microglia に発現する Fractalkine receptor に注目し、僧帽筋炎に伴う顎顔面皮膚の異所性疼痛に対するメカニズムを検証した。ラットの僧帽筋へ Complete Freund's Adjuvant (CFA) を注入し、筋炎モデルラットを作成した。von Frey filament を用いて顎顔面皮膚への機械刺激に対する頭部逃避閾値 (HWT) の経日的変化を観察した。投与後 3, 4, 5 及び 7 日目にて、HWT は有意に低下し、4 日目にて、延髄・上部頸髄の Iba1 陽性細胞発現が有意に増加した。蛍光染色の結果から、Fractalkine receptor は microglia に局在していることが確認された。また Western blot にて Fractalkine receptor の発現に変化は認められなかった。僧帽筋 CFA 投与し、Fractalkine receptor 中和抗体の髄腔内持続投与を行ったものでは HWT 及び Iba1 陽性細胞発現が有意に抑制された。さらに Fractalkine 単独髄腔内持続投与後 4 日目の HWT は有意に低下し、Iba1 陽性細胞発現が活性化した。以上の結果から、microglia に発現する Fractalkine receptor が神経-グリア間の相互関係に寄与していると考えられ、僧帽筋炎に伴った顎顔面皮膚の異常疼痛は、Fractalkine による延髄・上部頸髄の microglia の活性化が関与することが示唆された。

演題 18

「慢性椎間板性腰痛機序の検討」

宮城正行、石川哲大、大鳥精司、井上玄、鴨田博人、新井玄、鈴木都、佐久間詳浩、及川泰宏、高橋和久、川上守（千葉大学大学院医学研究院整形外科学）

椎間板性腰痛の基礎研究において、当教室の篠原が 1970 年にヒト椎間板性腰痛患者から摘出した椎間板に自由神経終末が内層に侵入すると報告したのが椎間板性腰痛の病理に関する最初の記載である。その後、変性椎間板内の炎症性サイトカインの上昇が報告され、これらのことが椎間板性腰痛の一因と考えられている。我々はまず、変性椎間板内の炎症性サイトカインの動向と支配感覚神経の特性変化の動向の関係についてラット腰椎椎間板傷害モデルを用いて検討した。結果、ラットの腰椎椎間板傷害により椎間板内の炎症性サイトカインの上昇は一過性であるのに対し、支配感覚神経での疼痛関連神経ペプチドの発現上昇は 8 週間持続することが分かった。しかし、この研究において 2 点問題点が存在した。一つは、腰椎椎間板傷害モデルがヒトの変性椎間板を再現する生理的なモデルではないこと、もう一つは腰痛の行動評価ができないことであった。これらの問題点は椎間板性腰痛の基礎研究の限界とされてきたが、これらを解決するため我々はまず、ヒト変性椎間板に起こる外傷とメカニカルストレスを再現するためにラット尾椎椎間板傷害、動的圧迫モデルを開発し、椎間板内で上昇する炎症性サイトカインの動向と、支配感覚神経における特性の変化の動向について検討した。さらに、動物モデルの新たな腰痛行動評価法を確立するため、我々は近年疼痛歩行の解析ツールとして注目される CatWalk システムを導入し、歩行解析を行った。これらの研究結果より、慢性椎間板性腰痛機序について理解を深めることができた。

演題 19

「腰椎椎間板ヘルニアの病態と治療 -ラット髄核留置モデルを用いての検討-」

関口美穂、菊地臣一、紺野慎一（福島県立医科大学医学部整形外科科学講座）

代表的な腰椎疾患の1つに、腰椎椎間板ヘルニアがある。腰椎椎間板ヘルニアの疼痛発生には、ヘルニア塊（機械的圧迫因子）が神経を圧迫することと、炎症性サイトカイン等（化学的因子）が関与している。両因子の作用の強さや関与時期は様々で、複雑である。臨床研究では、両因子の作用を明確に区分することは困難である。基礎研究においては、両因子をできる限り区別し、その単独の作用や両方の作用を観察できるモデルを用いることで、各因子の影響度を別々に検討することができる。我々が用いているラット髄核留置モデル作製手技と工夫を紹介する。また、本モデルでの、疼痛発現の病態と薬物投与効果について結果について紹介する。

全身麻酔下に、左第5腰部脊髄神経(L5)を展開する。尾椎の椎間板より髄核を採取し、展開したL5神経に髄核を留置する（髄核留置モデル）。手術時の工夫としては、つり上げ器を用いてラットを固定する。つり上げ器は、臨床で腰椎手術を実施するときに用いているフレームの利点を生かして作成した。つり上げ器を用いることで、術野の確保、腹圧を減少、および出血を少なくするという利点がある。

髄核が神経に接触すると神経内血流が低下し、後根神経節の内圧が上昇する。また、疼痛関連行動では、髄核や化学因子(TNF- α またはセロトニン)を神経に投与すると疼痛閾値は低下する。疼痛閾値の低下時には、DRGの神経細胞またはサテライト細胞で、虚血(HIF-1 α)、神経損傷(ATF3)あるいはアポトーシスが認められ、疼痛関連物質(TNF- α , PGE2, ephrin など)が発現する。リドカインを神経に投与すると、血流低下と内圧上昇が抑制され、疼痛閾値低下を抑制する。抗TNF抗体、セロトニン受容体拮抗薬、プロスタグランジン受容体拮抗薬を投与すると疼痛閾値低下は改善し、疼痛関連物質の発現も減少する。髄核留置モデルを用いることで、経時的に疼痛関連行動、組織学的検討、分子生物学的検討で、腰椎椎間板ヘルニアの病態や疼痛のメカニズムや治療標的について検討することができる。

演題 20

「神経障害性疼痛における転写因子 IRF5 の役割」

吉永遼平¹、津田誠¹、増田隆博¹、西本奈央¹、齋藤秀俊¹、田村智彦²、井上和秀¹（¹九州大学大学院薬学研究院薬理学分野、²横浜市立大学大学院医学研究科免疫学教室）

神経障害性疼痛は、糖尿病や末期癌などに伴う神経の損傷や機能障害に伴って引き起こされ、非侵害性の触刺激をも激しい痛みと感じるアロディニアを主徴とする。その発症過程において、過活動状態となった脊髄後角ミクログリアが重要な役割を果たすことが明らかになっているが、過活動状態への移行を司る遺伝子制御メカニズムは明らかになっていない。最近、我々は、神経損傷を起因として発現誘導される転写因子 Interferon regulatory factor-8 (IRF8) が、過活動状態への移行において重要な役割を果たすことを明らかにした。一方、神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄内では、IRF8 と同様、IRF5 の顕著な発現増加が観察された。しかしながら、IRF5 の中枢神経系における発現細胞およびその役割は、これまで全く明らかになっていない。そこで本研究では、IRF5 の神経障害性疼痛における役割を明らかにすることを目的として、詳細に検討を行った。末梢神経損傷後の脊髄内における時空間的な IRF5 の発現変化を検討したところ、損傷側脊髄内でミクログリア細胞特異的かつ持続的な発現増加が観察された。脊髄の IRF5 発現を siRNA 脊髄腔内投与により抑制したところ、アロディニアの有意な抑制が見られた。さらに、培養ミクログリア細胞において IRF5 の発現を抑制したところ、P2X4 受容体などの疼痛関連分子の発現抑制が観察された。以上の結果から、末梢神経損傷後に脊髄ミクログリア特異的に発現増加した IRF5 が、疼痛関連分子の発現制御を介し、神経障害性疼痛発症に重要な役割を果たしていると考えられる。

演題 21

「末梢神経障害後早期に脊髄後角ミクログリアに特異的に発現する新規転写因子の役割」

増田潤哉、齊藤秀俊、米田聡介、津田誠、井上和秀（九州大学大学院薬学研究院薬理学分野）

近年、神経障害性疼痛の発症メカニズムに脊髄ミクログリアの活性化が深く関与することが報告されている。末梢神経障害後早期に活性化する脊髄ミクログリアは様々な受容体の発現および活性レベルを亢進させ、細胞増殖や炎症性サイトカインの発現誘導といった応答を引き起こすことで、ニューロンの異常興奮ならびに疼痛症状に寄与すると考えられている。しかしながら、ミクログリアのそのような機能変化をもたらす引き金については不明な点が多い。そこで本研究では、ミクログリアの機能制御を担う新たな候補因子として転写因子 **MafB** に着目した。

第四腰髄神経を切断することにより作製した神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄内において、**MafB** 遺伝子発現量を定量解析したところ、神経非損傷側の脊髄に対して損傷側の脊髄で有意な発現増加が認められた。また免疫組織染色により、神経損傷側の脊髄後角内における **MafB** 陽性細胞数および **MafB** 発現強度が損傷後 1 日目から顕著に増加し、その陽性細胞はミクログリアであることが観察された。さらに、マウスの脊髄くも膜下腔内に **MafB** の siRNA を前投与したところ、末梢神経損傷によるアロディニア行動が有意に抑制され、脊髄内での疼痛関連遺伝子の発現量も減少することが確認された。

以上の結果から、神経障害性疼痛発症メカニズムにおける活性化ミクログリアは、神経損傷後早期に惹起される **MafB** タンパクの発現を介した疼痛関連遺伝子の発現制御により疼痛形成に関与することが示唆された。

演題 22

「舌神経圧迫モデルラットに発症する機械的および熱痛覚過敏に対する Satellite glial cell における P2Y₁₂ receptor の関与」

片桐綾乃^{1, 2}、篠田雅路²、豊福明¹、岩田幸一²（¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯科心身医学分野、²日本大学歯学部生理学教室）

【目的】 臨床において、舌神経損傷によりしばしば舌に神経因性疼痛が発症することが知られているがその病態は不明である。今回、我々は舌神経圧迫（Lingual nerve crush : LNC）モデルラットを作製し、舌の侵害刺激に対する逃避閾値の経時的変化を解析し、三叉神経節（TG）における Satellite glial cell (SCG)に発現する P2Y₁₂ receptor (P2Y₁₂R) の関与について検討した。

【結果】 ラットの舌神経を圧迫（30 g, 30 sec）後、浅麻酔下にて舌へ機械刺激および熱刺激を与えた。機械刺激に対しては舌神経圧迫 13 日後、熱刺激に対しては 17 日後まで逃避閾値が低下。三叉神経節第Ⅲ枝（V3）領域において、舌神経圧迫後 3・9・15 日目に Glial fibrillary acidic protein (GFAP) 陽性細胞（活性型 SGC）に囲まれる神経細胞の有意な増加が認められた。さらに、LNC ラットの TG への P2Y₁₂R antagonist (MRS2395) 連続投与により、舌の機械・熱刺激に対する逃避閾値の低下および V3 領域における GFAP 陽性細胞に囲まれる神経細胞の増加が抑制された。また、P2Y₁₂R agonist (2Me-SADP)を naïve ラットの TG へ連続投与すると、機械・熱刺激に対する痛覚過敏発症と V3 領域における GFAP 陽性細胞に囲まれる神経細胞の増加が認められた。

【結論】 舌神経圧迫によって舌に発症する機械および熱痛覚過敏は、三叉神経節における P2Y₁₂ receptor を介した SGC の活性化が関与する可能性が示された。

演題 23

「痛みによる不快情動生成における分界条床核の役割」

南雅文（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室）

「痛み」は痛いという感覚的成分と、不安、嫌悪、抑うつといった情動的成分よりなるが、情動的成分を担う神経基盤に関する研究は未だ緒についたばかりである。我々はこれまでに、腹側分界条床核（vBNST）における β アドレナリン受容体を介したノルアドレナリン神経情報伝達亢進が、痛みによる不快情動生成に重要であることを報告している（J. Neurosci., 28: 7728-7736 (2008)）。また、2008 年の本研究会では、背外側分界条床核（dlBNST）におけるコルチコトロピン放出因子（CRF）神経情報伝達が、痛みによる不快情動生成に関与していることを示した。本研究では、dlBNST における CRF 神経情報伝達亢進による不快情動生成を、神経ペプチドである Neuropeptide Y（NPY）が抑制することを示す研究結果を紹介する。さらに、vBNST におけるノルアドレナリン神経情報伝達および dlBNST における CRF 神経情報伝達の亢進が分界条床核神経活動に及ぼす影響を検討した電気生理学的研究の結果を示すとともに、分界条床核から腹側被蓋野に投射する神経路の組織学的解析の結果を紹介し、痛みによる不快情動生成に関与する神経回路を考察する。

演題 24

「仔マウスが親に運ばれる時に示す輸送反応：制御機構および侵害受容応答変化の検討」

吉田さちね¹、Gianluca Esposito¹、恒岡洋右¹、大西竜子¹、菊水健史²、加藤忠史³、黒田公美¹

(¹ 理化学研究所脳科学総合研究センター黒田研究ユニット、² 麻布大学獣医学部伴侶動物学研究室、³ 理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム)

四足歩行のほ乳類の仔の多くは母親に口でくわえられて運ばれる。輸送中、仔は四肢を縮めたコンパクトな姿勢でおとなしくしている。この仔の反応は輸送反応 (Transport Response, TR) と呼ばれ、TR には親による仔の輸送を助ける働きがあるとされるが、その制御機構については不明な点が多い。そこで本研究ではマウスを用いて TR の発達と制御機構を詳細に解析した。マウス TR は離乳期前に見られ、不動と姿勢制御という要素に大別できた。不動反応には背部の触覚および固有覚受容が必要であり、姿勢制御には小脳の関与が示唆された。また、本来ならまだ TR を示す日齢でも環境変化やハンドリング操作といったストレスを与えると TR が減弱した。さらに Tail pinch テストを行ったところ TR 中は非 TR 中に比べ、侵害受容応答を示す個体数が有意に減少し、この変化はナロキソンを投与したマウスの TR 中でも同様に観察された。これらの結果からマウス TR は脊髄反射や仔の発達に伴う運動能力の変化ではなく、複数の脳部位を介して起こる仔特有の応答であることが示唆された。

演題 25

「ラット培養後根神経節細胞の機械感受性電流の低 pH による感作機構について」

久保亜抄子^{1,2}、水村和枝² (1名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II、2中部大生命科学部理学療法学科)

運動・虚血・細胞壊死などにより引き起こされる組織内 pH の低下は、機械刺激に対する末梢求心性神経の感受性を高めることが報告されているが、その感作機構は明らかになっていない。そこで今回、本感作機構について細胞レベルでの解析を行なった。新生ラットから単離培養した後根神経節細胞の細胞体膜を先端径 3-5 μm のガラスピペットで直接機械刺激することで順応時間の異なる 3 種類の機械刺激応答電流が惹起された(速順応型: RA, 中間型: IA, 遅順応型: SA)が、これらの電流は、pH7.0, 6.6, 6.2 の低 pH 溶液投与により有意に増強された。機械刺激応答電流が増強された細胞の割合は pH 依存的であり、コンドロイチン硫酸糖蛋白質であるバーシカンが発現している細胞 (IB4 陽性細胞) で有意に高かった (IB4 陽性: 58% (n=73) vs. IB4 陰性: 16% (n=57), pH6.2, $p < 0.001$, χ^2 test)。RA の低 pH による増強は、カプサゼピン 1 μM 投与によって抑制されたがアミロライド 20 μM では抑制されなかった。IA および SA の増強はこれらの阻害剤では抑制されなかった。細胞外液への 0.1-0.3%コンドロイチン硫酸溶液添加によって IB4 陽性細胞での機械刺激応答電流増強は抑制されたが、IB4 陰性細胞での増強は抑制されなかった。さらに、コンドロイチナーゼ ABC によって前処理した IB4 陽性培養細胞では、低 pH によって機械刺激応答電流が増強された細胞の割合は有意に低下した。以上より低 pH による機械感作には、TRPV1 や細胞膜糖蛋白質であるバーシカンなど、複数の機構が関与していることが示唆された。

演題 26

「光学異性体の痛覚伝達に対する選択的抑制効果」

歌大介¹、井本敬二^{1,2}、古江秀昌^{1,2} (1 生理学研究所神経シグナル研究部門、2 総合研究大学院大学 生理科学)

今までの研究から、局所麻酔薬の光学異性体は中枢神経毒性や心毒性に対して異なる作用を持つことが示されている。例えば、bupivacaine のS(-)体はR(+)体に比べ、循環系および中枢神経系に対する毒性が低いことが知られている。また、行動薬理学的研究からS(-)体は、R(+)体より運動神経を抑制しにくく、感覚伝達を選択的に抑制すると考えられている。しかし、その抑制作用の詳細は明らかになっていない。

そこで本研究では、感覚伝達、特に痛覚伝達に対する局所麻酔薬光学異性体の抑制作用を詳細に検討した。まず、細胞内記録法を用い後根神経節細胞における活動電位の伝導に対する作用を解析した。S(-)bupivacaine (レボブピバカイン) は、R(+)体に比してA α およびC線維における活動電位の伝導を選択的に抑制した。また、パッチクランプ法により後根神経節細胞に発生する電位依存性Na⁺電流に対する抑制効果を検討すると、S(-)体は小型細胞に発生するTTX非感受性Na⁺電流を著明に抑制したが、大型細胞に発生するTTX感受性Na⁺電流に対してほとんど抑制作用を示さなかった。一方、同濃度のR(+)体はTTX感受性および非感受性Na電流の双方に対し著明な抑制作用を示した。次に、in vivoパッチクランプ記録法を用い、痛みの中枢への入り口である脊髄後角においてS(-)体の選択的痛み抑制能を検討した。その結果、S(-)体は機械的痛み刺激によって誘起された興奮性シナプス後電流を抑制したが、非侵害性の触刺激によって誘起された興奮性シナプス後電流はほとんど抑制しなかった。以上より、S(-)bupivacaineはTTX非感受性Na電流を選択的に抑制してA α およびC線維における活動電位の伝導を遮断し、脊髄への痛みの伝達を選択的に抑制することが示唆された。

演題 27

「辛くないトウガラシの成分、カプシエイトによる TRPA1 活性化」

内田邦敏、新宅健司、Zhou Yiming、鈴木喜郎、富永真琴

(岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門)

辛くない唐辛子「CH-19 甘」の成分であるカプシエイトはカプシノイドに分類され、構造がカプサイシンと類似している。また、メカニズムは不明であるが、カプシエイトは交感神経系を活性化することによりエネルギー代謝を増強させることや炎症を抑制することが報告されている。我々はカプシエイトがカプサイシン受容体である TRPV1 を活性化することを以前報告している。しかし、

他の TRP チャンネルへの関与に関しては検討されていない。そこで本研究は、TRPV1 以外の、特に感覚神経に発現する TRP チャンネルへのカプシノイドの作用について検討した。

その結果、我々はカプシノイドが TRPA1 も活性化することを見いだした。また、TRPA1 におけるカプシノイドの反応は TRPV1 の反応よりも弱いものであった。カプシノイドは水溶液中で容易に加水分解されることが知られている。そこで、カプシノイドの分解産物による TRPA1 活性化の有無を検討した結果、活性化は認められずカプシノイド自身が TRPA1 を活性化していることが示唆された。共有結合の形成や亜鉛による TRPA1 の活性化に関わると考えられているアミノ酸残基の変異体でもカプシノイドの活性化は認められ、カプシノイドによる TRPA1 の活性化にこれらの残基は関与しないことが示唆された。

以上の結果より、カプシエイトは TRPV1 及び TRPA1 をともに活性化することが明らかとなった。カプシエイトの生理的作用に TRPA1 が関与している可能性があると考えられる。

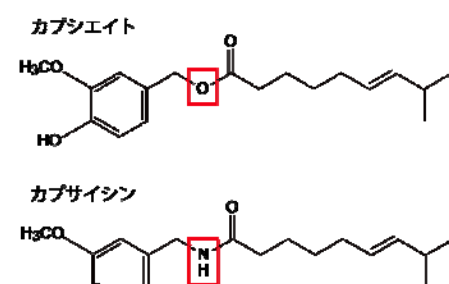


図 カプシエイト及びカプサイシンの構造 □部分の構造が異なる構造。

演題 28

「TRPM2 を介した炎症性および神経障害性疼痛発症のメカニズム」

勇昂一¹、原口佳代¹、河本 愛¹、朝倉佳代子¹、白川久志¹、森 泰生²、中川貴之¹、金子周司¹

(¹ 京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野、² 工学研究科合成・生物化学専攻分子生物化学分野)

TRPM2 チャンネルは、C 末端に Nudix モチーフを有し、過酸化水素により開口することが知られている。また、単球系、顆粒球系細胞やミクログリアでの発現が認められており、近年、炎症性疾患との関連が注目されている。本研究では、炎症性および神経障害性疼痛において、マクロファージやミクログリアに発現する TRPM2 が果たす役割について、主に TRPM2-KO マウスを用いて検討した。カラゲニン足底内投与による炎症部位や坐骨神経部分結紮による神経損傷部位において、マクロファージやミクログリアの TRPM2 mRNA 発現量が有意に増加した。また、TRPM2-KO マウスでは、機械的アロディニアや熱痛覚過敏が減弱するとともに、マクロファージからの CXCL2 ケモカイン産生および好中球の浸潤が有意に低下していた。また、腹腔マクロファージの足底内投与による機械的アロディニアは、TRPM2-KO マウス由来マクロファージでは効果が弱かった。さらに、神経損傷後の脊髄後角ミクログリア活性化が TRPM2-KO マウスで顕著に減弱していた。また、培養マクロファージや培養ミクログリアを用いた検討においても、TRPM2-KO により、細胞刺激時の CXCL2 産生、NO 産生などが有意に低下した。これらの結果から、TRPM2 を介したマクロファージやミクログリアの活性化が、末梢性感作や中枢性感作に寄与する神経炎症応答の一部に関与し、炎症性および神経障害性疼痛の発症に寄与していると考えられる。

演題 29

「カプサイシンを生後 2 日、15 日目投与マウスの炎症誘発後の侵害刺激に対する応答の変化」
樋浦明夫¹、中川弘²（¹徳島大学歯学部口腔組織学教室、²徳島大学病院障害者歯科）

生後 2 日目と 15 日目のマウスにカプサイシン(CAP、50mg/kg)を皮下投与した。対照群には溶媒のみを投与した。CAP 投与後 20 日目に λ -carrageenan(carr., 2%、20 μ l)を右足底に投与した。Carr.投与前(Base 値)と投与後 24 時間に Hargreaves 法(強度 20)で侵害熱刺激(NTS, 右足底)、von Frey 法で機械的刺激(右足底)を行い、それらに応答するまでの時間と強さを測定した。【結果】生後 2 日目 CAP 投与マウス(6 匹):対照群(8 匹)の NTS に対する応答は Base 値(2.3 $\pm$ 0.3 秒)と carr 投与後で有意差がなかった。CAP 投与群では、carr.投与後の NTS に対する応答は対照群と Base 値(3.2 $\pm$ 0.6)に比べて有意に遅延した(6.2 $\pm$ 0.6, carr.は効かなかった)。Von Frey に対しては、対照群、CAP 投与群共に carr.により有意に敏感になった。生後 15 日目 CAP 投与マウス(12 匹):対照群(9 匹)では、carr.投与によって Base 値(4.2 $\pm$ 0.4)と比べて有意に NTS の反応時間が短縮した(3.0 $\pm$ 0.3)。CAP 投与群では、Base 値(7.5 $\pm$ 0.6)が対照群に比べて有意に遅延した。しかし、CAP 投与群内では、carr.投与後の NTS は Base 値に比べて短縮した(4.9 $\pm$ 0.4, carr.が効いている)。Von Frey に対しては、CAP 投与群で carr.投与後に Base 値と比べて敏感になった(対照群の Base 値と同レベル。carr.投与の効果)。生後 2 日目 CAP 投与群での NTS に対する carr.投与後の応答遅延は CAP による TRPV1 陽性ニューロンの減少との関わりを示唆する。また、生後 15 日目 CAP 投与群の NTS に対する carr.投与後の反応時間短縮は、TRPV1 ニューロンの関与を示唆する。Von Frey に対しては、TRPV1 ニューロンに関わりなく carr.の効果が表れるようである。