

神経可塑性モデルとしての神経因性疼痛の発症・認識機構の体系的研究

Systematic study on the mechanism of generation, maintenance and recognition of neuropathic pain, a model of neural plasticity

伊藤 誠二 (Seiji Ito)

関西医科大学・医学部・教授



研究の概要

神経因性疼痛は痛覚伝達系の形質転換や神経回路網の再構築といった非可逆的な器質的な変化のため難治性と信じられてきた。本研究は神経損傷部位からの持続的入力によりグルタミン酸受容体のリン酸化やトラフフィキングなど痛覚伝達経路の機能的変化で病態が発症・維持されることを体系的に解明し、研究成果を診断・治療に反映させることを目指す。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：慢性疼痛・神経可塑性・分子イメージング・神経再生

1. 研究開始当初の背景・動機

(1) 脊髄後角での中枢性感作により引き起こされる神経因性疼痛は、海馬の記憶・学習にみられる長期増強などの可塑性変化と驚くほど共通性があり、疼痛反応は分子から個体レベルで長期間行動が観察できることからその維持機構が注目を集めていた。(2) 2000年のアメリカ議会による“痛みの10年”宣言にみられるように、痛みの克服は長年にわたる人類の課題である。本研究は高齢化社会を迎える日本にあって個人のQOLの向上だけでなく医療費の軽減など社会的にも貢献できると期待された。

2. 研究の目的

神経因性疼痛に焦点を当て、nNOSの活性化を指標にタンパクのリン酸化や遺伝子発現変化によるシナプス可塑性の分子機構から、脊髄組織レベルの神経回路網 *in situ* でのNOS活性化機構、さらにPETによる *in vivo* での分子イメージングまで体系的に解析を行い、神経因性疼痛の発症・維持・認識機構を解明し、診断・治療につながる臨床応用研究をすることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 遺伝子改変マウスを用いた疼痛行動
- (2) 蛋白化学とプロテオミクス解析
- (3) 新規生体分子の探索と機能解析
- (4) 免疫組織化学と回路のイメージング
- (5) ポジトロンエミッショントモグラフィ(PET)
- (6) 遺伝子改変マウスを用いた神経再生

4. これまでの成果

(1) 慢性疼痛の発症・維持機構の解明

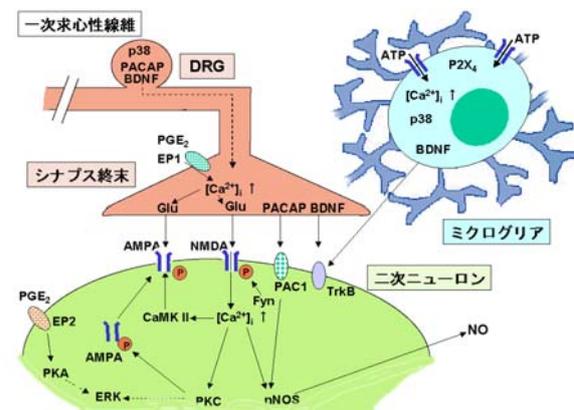


図1. 脊髄における慢性痛の発生維持機構

炎症、組織障害、神経損傷により生じる侵害刺激は後根神経節(DRG)に細胞体が存在する一次求心性線維を介して脊髄後角の二次ニューロンに伝達され、大脳皮質で痛覚と認識される。図1に示すように、我々を含めた最近の研究で神経損傷に伴う一次求心性線維からの入力増大によるDRG細胞での遺伝子発現の変化や脊髄後角でのシナプス伝達効率の増大、ミクログリアの活性化など慢性疼痛の発生・維持にさまざまな機能的変化が関与することが次々と明らかにされている。これまで難治性とされてきた神経因性疼痛の治療に向けたさまざまなアプローチがなされつつある。

我々は、1) 神経損傷1週間後でも、グルタミン酸 NMDA 受容体 NR2B サブユニットの1472番目の Tyr 残基 (Y1472) のリン酸化、Src キナーゼファミリーの Fyn の関与、神経型一酸化窒素合成酵素(nNOS)の活性化による機能的変化により維持されていること、2) DRG での PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) の発現誘導が nNOS の活性化に関与すること、3) プロスタグランジン E₂ (PGE₂) と一酸化窒素 (NO) の順行性・逆行性メディエーターが脊髄における神経可塑性に重要な役割をすることを疼痛行動とさまざまな生化学的、細胞生化学的解析で示してきた。

今年度、慢性疼痛に伴う機能的変化について以下の興味ある知見が得られた。

1) nNOS のトランスロケーションと nNOS 活性化機構の解明

PACAP と NMDA の共刺激によりトランスロケーションが生じ、nNOS の N 末側部分(1-299)が NO 産生にドミナントネガティブに作用すること、さらに、トランスロケーション変異体を作製して nNOS の N 末側の β-finger が PSD-95 の会合とトランスロケーションに関与することを明らかにした。

2) 炎症性疼痛モデルにおける AMPA 受容体のサブタイプスイッチの解明

炎症モデルラットの遷延期の腰部脊髄から PSD 画分を精製し、プロテオミクス解析をして AMPA 受容体のトラフフィッキングに関与する NSF(N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein)が低下すること、*in vivo* patch-clamp (九州大学・医・吉村恵教授と共同研究)で電気生理的に Ca²⁺透過型 AMPA 受容体が痛覚伝達に関与する脊髄膠様質細胞で増加していることを明らかにした。

(2) Thy-1-YFP マウスを用いた神経再生

神経損傷に伴う神経変性・神経再生過程を *in vivo* で可視化するために、神経選択的に蛍光タンパク YFP が発現する Thy-1-YFP マウスで神経再生モデルを確立し、種々の薬剤の神経再生における効果、神経再生に関与する因子を検討している(図2)。神経因性疼痛による疼痛閾値を測定することにより、神経因性疼痛と神経再生の関係を *in vivo* で解明できると期待できる。

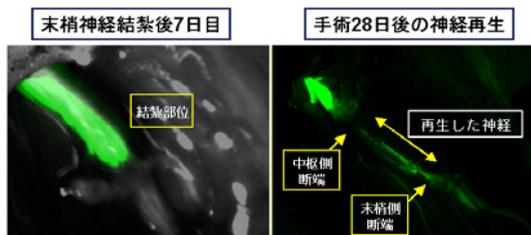


図2 Thy-1-YFP マウスでの神経再生の *in vivo* 評価

5. これまでの進捗状況と今後の計画

研究は研究計画に沿って概ね順調に進捗しているだけでなく、予期しない結果から新たな学術的展開を期待している。さらに、臨床応用をめざした病態モデルや神経再生による治療の基礎研究を推進している。

平成 18 年度文部科学省の学術フロンティア推進事業「修復再生医学による神経系難治性疾患の治療に向けた横断的トランスレーショナル研究」(研究代表者)を推進するブレインメディカルリサーチセンター (BMRC) が滝井キャンパスに設置されたので、本研究が神経因性疼痛の診断・治療に反映できることを期待している。

6. これまでの発表論文等

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)
Moriuchi, H., Koda, N., Okuda-Ashitaka, E., Daiyasu, H., Ogasawara, K., Toh, H., **Ito, S.**, Woodward, D.F. & Watanabe, K. Molecular characterization of a novel type of prostamide/prostaglandin F synthase, belonging to the thioredoxin-like superfamily. *J. Biol. Chem.* **283**, 792-801 (2008)

Ohnishi, T., Okuda-Ashitaka, E., Matsumura, S., Katano, T., Nishizawa, M. & **Ito, S.** Characterization of signaling pathway for the translocation of neuronal nitric oxide synthase to the plasma membrane by PACAP. *J. Neurochem.* in press (2008)

Soen, M., Minami, T., Tatsumi, S., Mabuchi, T., Furuta, K., Maeda, M., Suzuki, M. & **Ito, S.** A synthetic kainoid, (2S,3R,4R)-3-carboxymethyl-4-(phenylthio)pyrrolidine-2-carboxylic acid (PSPA-1) serves as a novel anti-allodynic agent for neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* **575**, 75-81 (2007)

Sasaki, A., Mabuchi, T., Serizawa, K., Takasaki, I., Andoh, T., Shiraki, K., **Ito, S.** & Kuraishi, Y. Different roles of nitric oxide synthase-1 and -2 between herpetic and postherpetic allodynia in mice. *Neuroscience* **150**, 459-466 (2007)

Nishimura, Y., Onoe, H., Morichika, Y., Perfiliev, S., Tsukada, H. & Isa, T. Time-dependent central compensatory mechanism of finger dexterity after spinal cord injury. *Science* **318**, 1150-1155 (2007)

Katano, T., Mabuchi, T., Okuda-Ashitaka, E., Inagaki, N., Kinumi, T. & **Ito, S.** Proteomic identification of a novel isoform of collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2) in spinal nerves peripheral to dorsal root ganglia. *Proteomics* **6**, 6085-6094 (2006)

ホームページ等

医化学=<http://www3.kmu.ac.jp/medchem/>

BMRC=<http://www2.kmu.ac.jp/bmrc/>