



Title	慢性痛による情動変容における拡張扁桃体の可塑的变化の役割 [全文の要約]
Author(s)	山内, 直紀
Citation	北海道大学. 博士(薬科学) 甲第14402号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/81835">http://hdl.handle.net/2115/81835</a>
Type	theses (doctoral - abstract of entire text)
Note	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。【担当：薬学部図書室】
Note(URL)	<a href="https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/">https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/</a>
File Information	Naoki_Yamauchi_summary.pdf



[Instructions for use](#)

# 学位論文の要約

博士(薬科学) 氏名 山内 直紀

## 学位論文題名

慢性痛による情動変容における拡張扁桃体の可塑的変化の役割

### 【序論】

痛みは感覚的かつ情動的な体験である。痛みが引き起こす不安や嫌悪などの不快情動は、身体への危険を警告する信号として重要な役割を果たす。一方、慢性痛においては警告信号としての役割を果たし終えた痛みが、うつ病や不安障害などの精神疾患の引き金になると考えられている。実際に、慢性痛と精神疾患には高い併存率が認められている。すなわち、慢性痛によって生体警告系としての痛みの処理機構に可塑的変化が生じ、情動変容がもたらされると考えられる。こうした可塑的変化の神経機構を明らかにすることは、慢性痛や精神疾患に対する有効な治療戦略の構築に有意義である。

分界条床核は、急性痛に対する情動反応において重要な役割を果たす脳部位である。しかし、慢性痛による情動変容への関与はいまだ明らかではない。外側視床下部は、分界条床核から神経投射を受け取る脳部位であり、分界条床核→外側視床下部の神経路を選択的に活性化すると抗不安作用がもたらされると報告されている。そこで本研究では、慢性痛によって分界条床核→外側視床下部の神経路に可塑的変化が生じることで情動変容がもたらされると考え、これを検証した。

### 【方法と結果】

慢性痛による情動変容を調べるため、坐骨神経を結紮することで慢性痛モデルマウスを作製した。von Frey 試験を行い、痛みが持続しているか否か検討したところ、4週間にわたって疼痛閾値の低下が認められた。不安様行動を測定するためオープンフィールド試験、高架式十字迷路試験、明暗箱試験を行った。高架式十字迷路試験において慢性痛モデルマウスの open arms 滞在時間および open arms 侵入割合が有意に減少し、明暗箱試験において慢性痛モデルマウスの light side 滞在時間が有意に減少していることが認められた。以上の結果は、慢性痛モデルマウスにおける不安様行動の亢進を示している。

外側視床下部へ投射する分界条床核神経細胞における可塑的変化を調べるため、ホールセルパッチクランプ記録を行った。外側視床下部へ逆行性神経トレーサーを投与することで、外側視床下部へ投射する分界条床核神経細胞を蛍光標識した。標識した分界条床核の神経細胞からシナプス伝達を測定したところ、慢性痛モデルマウスでは抑制性シナプス伝達が増加していることが明らかになった。すなわち、慢性痛により分界条床核→外側視床下部の出力が低下することが示唆された。

外側視床下部へ投射する分界条床核神経の抑制により不安様行動が亢進するか否かを検討した。逆行性に Cre リコンビナーゼを発現させる AAV2 を外側視床下部に投与するとともに、Cre 依存的に hM4Di を発現させる AAV5 を健常マウスの分界条床核へ投与した。これにより、外側視

床下部へ投射する分界条床核神経に選択的に hM4Di を発現させた。リガンドである CNO を投与することで、これら神経細胞を抑制したところ、高架式十字迷路試験において open arms 滞在時間が減少した。すなわち、分界条床核→外側視床下部への神経路の機能低下は、不安様行動を惹起させることが示された。次に、外側視床下部へ投射する分界条床核神経の活性化が、慢性痛による不安様行動の亢進を軽減するか否かを検討した。同様な手法で、慢性痛モデルマウスの外側視床下部へ投射する分界条床核神経に対して hM3Dq を発現させた。リガンドである CNO の投与により、これら神経細胞を活性化したところ、高架式十字迷路試験において open arms 滞在時間が増加した。すなわち、外側視床下部へ投射する分界条床核神経の活性化は、慢性痛により惹起された不安を軽減することが示された。

次に、慢性痛により外側視床下部へ投射する分界条床核神経に対する抑制性シナプス伝達が増加する機構について調べた。分界条床核は主として抑制性の GABA 作動性神経から構成される脳部位であるとともに、局所神経回路の存在が示唆されている。また、分界条床核の活動は不安と相関することが知られている。そこで、「分界条床核内の抑制性介在神経の興奮性が増大することで、出力を担う神経細胞への抑制性入力が増加する」との仮説を考えた。分界条床核内の抑制性介在神経の候補として、神経ペプチドである CART (Cocaine- and Amphetamine Regulated Transcript) を発現する神経細胞 (CART 陽性神経細胞) に着目した。実験には、CART の前駆体である Cartpt のプロモーター制御下で Cre リコンビナーゼを発現するトランスジェニックマウスを用いた。はじめに、CART 陽性神経細胞が、外側視床下部へ投射する分界条床核神経に対して抑制性シナプスを形成しているか調べた。CART 陽性神経細胞へ Cre 依存的に光感受性イオンチャネルであるチャンネルロドプシン2を発現させるとともに、逆行性神経トレーサー投与により外側視床下部へ投射する分界条床核の神経細胞を可視化しホールセルパッチクランプ記録を行った。青色光の照射により CART 陽性神経細胞を活性化したところ、記録した神経細胞中の 83.3% の細胞で青色光応答性の抑制性シナプス後電流が確認された。これにより、CART 陽性神経細胞が外側視床下部へ投射する分界条床核の神経細胞に抑制性シナプスを形成していることが示された。また、慢性痛モデルマウスの CART 陽性神経細胞からホールセルパッチクランプ記録を行ったところ、発火閾値および基電流が減少していることを明らかにした。すなわち、慢性痛により CART 陽性神経細胞の興奮性が増大していることが示唆される。さらに、慢性痛モデルマウスの CART 陽性神経細胞を hM4Di により抑制したところ、外側視床下部へ投射する分界条床核神経への抑制性シナプス伝達が減少することを明らかにした。さらに、慢性痛モデルマウスの CART 陽性神経細胞の抑制は、高架式十字迷路試験における不安様行動亢進を抑制することを明らかにした。

#### 【総括】

本研究は、慢性痛による情動変容において、分界条床核における可塑性が重要な役割を有することを明らかにした。その機構は以下のとおりである。1) 慢性痛により分界条床核内の CART 陽性神経細胞の興奮性が増大する。2) これにより外側視床下部へ投射する分界条床核神経への抑制性シナプス伝達が増加する 3) 分界条床核→外側視床下部の神経路出力が低下し、下流への情報伝達機能が障害されることで不安が惹起される。慢性痛による不安情動亢進の神経機構の一端を明らかにした本研究成果は、慢性痛や精神疾患に対する有効な治療戦略の開発につながることで期待される。