

痛みによる不快情動の制御における 扁桃体内神経ペプチド情報伝達の役割

北海道大学大学院 薬学研究院 薬理学研究室
南 雅文

1. はじめに

痛みによる「好ましくない不快な情動」は、生体警告系としての痛みの生理的役割にとって非常に重要である。しかしながら、長期間持続する痛みでは、痛みにより引き起こされる不安、抑うつ、恐怖などの不快情動は、患者の QOL を著しく低下させるだけでなく、精神疾患・情動障害の引き金ともなり、また、そのような精神状態が痛みをさらに悪化させるという悪循環をも生じさせる。このことは、痛みの感覚的側面だけでなく情動的側面をも考慮した慢性疼痛治療の必要性、加えて、その基盤となる基礎的知見の集積の必要性を示唆している。

我々はこれまでに、扁桃体が、痛みによる不快情動生成に重要な役割を果たしていることを報告し¹⁾、最近では、痛みによる不快情動生成における、扁桃体内グルタミン酸神経情報伝達の重要性²⁾ や「extended amygdala (拡張扁桃体)」を構成する分界条床核の関与³⁾、さらには、分界条床核内 β 受容体を介したノルアドレナリン神経情報伝達の役割⁴⁾ を明らかにしている。

本研究では、分界条床核において、 β 受容体と同じGs共役型受容体であるCRF受容体が、Gs-cAMP-PKAシステムの活性化を介して痛みによる不快情動生成に関与しているか否かを明らかにするとともに、Gi/o共役型受容体の活性化が痛みおよびCRFによる不快情動生成を抑制するか否かを明らかにすることを目的として行動薬理的及び神経化学的な解析を行った。

2. 方法

実験には雄性SD系ラット(190-260g)を用いた。薬物局所投与のためのガイドカニューレ埋め込み手術を行い、5日間以上の回復期間の後、行動薬理学的実験を行った。本研究では、痛みの情動的側面の評価のため、条件付け場所嫌悪性試験(conditioned place aversion (CPA) 試験)を行い、痛みにより惹起される条件付け場所嫌悪反応を不快情動の指標とした。CPA試験には、白黒2つのボックスからなるシャトルボックスを使用した。まず1、2日目は白黒の両ボックスを15分間自由に探索させ、各ボックスにおける滞在時間を計測し、2日目により長く滞在したボックスをpain-paired compartmentとした。続いて3日目は、先ずコントロール刺激としてsaline 100 μ lを左後肢足底内に投与し、直ちに2日目に決定したpain-paired compartmentと反対側のボックスへ入れ1時間拘束した。次に、分界条床核内へvehicleあるいは薬物を局所投与し、その10分後、侵害刺激として2% formalin 100 μ lを右後肢足底内に投与し、直ちにpain-paired compartmentに入れ1時間拘束することにより条件付けを行った。4日目のtest sessionでは再び両ボックスを15分間自由に探索させ、各ボックスにおける滞在

時間を計測した。2日目のpain-paired compartment滞在時間から4日目の滞在時間を引いた値をCPA scoreと定義し、この値が正に大きいほど不快情動が惹起されたものとして評価した。また、侵害刺激を負荷せず、CRF投与による条件付けによって惹起される不快情動の評価は、6日間の実験プロトコルで行い、1, 2日目は同様であるが、test sessionを6日目とし、3日目から5日目に1日1回、分界条床核内への薬物処置による条件付けを行った。痛みの感覚的側面に対する薬物投与の効果についても検討するためformalin testを実施し、侵害受容行動を観察した。観察ケージ内で30分以上馴化させた後、vehicleあるいは薬物を分界条床核内に局所投与し、その10分後に2% formalin 100 μ l を右後肢足底内に投与し、その後60分間、各種侵害受容行動を、5分毎に計測した。

分界条床核内のノルアドレナリン遊離量の測定は、*in vivo*マイクロダイアリス法を用いて行った。ガイドカニューレ埋め込み手術から1-2日後、マイクロダイアリス用透析プローブを挿入し、リンゲル液を流速1.0 μ l/minで灌流した。ノルアドレナリンの分離には、分離カラムを装着したマイクロダイアリス分析システムを用い、電気化学検出器により検出した。灌流を開始してから2時間以上経過後、細胞外ノルアドレナリン量が安定してから基礎遊離量 (basal level) を測定した後、2% formalin 100 μ l を右後肢足底内に投与し、その後120分間、細胞外ノルアドレナリン遊離量を測定した。クロニジンの効果の検討は、基礎遊離量測定後、クロニジン (100 μ M) を添加したリンゲル液が灌流されるように流路を切り替え、45分間分界条床核内への薬物処置による影響を観察した後、2% formalin 100 μ l を処置し、さらに120分後まで細胞外ノルアドレナリン遊離量を測定した。

3. 結果

分界条床核背外側領域における、神経ペプチドCRFの役割に関する検討を行った。痛みにより条件付けしたCPA試験において、vehicle投与群と比較して、 α -helical CRF (非選択的CRF受容体アンタゴニスト) 投与群においてCPA scoreが用量依存的に、かつ有意に減少した。さらに、CRF受容体の各サブタイプの関与を検討するために、NBI27914 (CRF1選択的アンタゴニスト)、ならびにAS-30 (CRF2選択的アンタゴニスト)を局所投与したところ、何れの薬物処置によっても、vehicle投与群と比較して、CPA scoreが用量依存的に、かつ有意に減少した。また、formalin testを用いた検討の結果、何れのアンタゴニスト局所投与も、痛みの感覚的側面には有意な影響を与えなかった。さらに、CRF受容体-Gs-cAMP-PKAシステムの関与について検討を行った。Rp-cAMPS (選択的PKA 阻害薬) の局所投与によって用量依存的にCPA scoreが減少し、高用量では有意に減少した。

次に、痛み刺激が存在しない場合でも直接分界条床核背外側領域内のCRF受容体を活性化することにより不快情動が惹起されるか否かを検討した。痛み刺激非存在下において、CRF局所投与により用量依存的にCPAが惹起され、高用量ではCPA scoreが有意に上昇した。このCRF投与によるCPA score上昇もRp-cAMPSにより有意に抑制された。

CRF受容体はGsに共役するGタンパク質共役型受容体であるが、これとは反対にcAMP産生を抑制する細胞内情報伝達系にリンクするGi/oタンパク質共役型受容体の活性化が痛みによる不快情動を抑制する可能性を考え、neuropeptide Y (NPY) が痛みによる不快情動生成に及ぼ

す影響を検討した。その結果、分界条床核背外側領域へのNPY局所投与により用量依存的に痛みによるCPA scoreが減少し、高用量では有意な減少が見られた。分界条床核背外側領域へのCRF投与によるCPA scoreの上昇についても、NPY同時投与により有意に抑制された。

これまでに当研究室において、分界条床核腹側領域では、痛みによる不快情動生成に、Gsタンパク質共役型受容体であるアドレナリン β 受容体を介した神経伝達機構が重要であることを明らかとしてきたことから、Gi/oタンパク質共役型受容体であるアドレナリン $\alpha 2$ 受容体の分界条床核腹側領域での役割に関して検討を行った。CPA試験では、vehicle投与群と比較して、クロニジン ($\alpha 2$ 受容体選択的アゴニスト) 局所投与を行った群では、用量依存的にCPA scoreが減少し、高用量では有意に減少した。また、formalin testを用いた検討の結果、クロニジン局所投与は、痛みの感覚的側面には有意な影響を与えなかった。さらに、*in vivo* マイクロダイアリシス法を用いた解析により、痛み刺激の負荷により分界条床核腹側領域におけるノルアドレナリン遊離量の増加が見られ、その遊離はクロニジンを処置することにより有意に抑制されることを明らかとした。

4. 考察

当研究室ではこれまでに、 β 受容体アンタゴニストの分界条床核腹側領域への局所投与により、痛みによる不快情動生成が抑制されること、さらに、 β 受容体アゴニストを当該脳領域への局所投与することで不快情動が惹起されることを明らかにしてきた。これらの知見と本研究結果より、痛みによる不快情動生成には、痛み刺激負荷時における分界条床核腹側領域内のノルアドレナリンの遊離量増加と、それに伴う β 受容体を介したノルアドレナリン神経情報伝達亢進が重要であり、 $\alpha 2$ 受容体は、プレシナプスに作用しノルアドレナリン遊離を抑制することを介して不快情動生成を調節していることが示唆される。

また、本研究において、分界条床核背外側領域に関して検討を行った結果より、当該脳領域における神経ペプチドCRFによる神経情報伝達亢進、さらにはCRF受容体を介したPKA活性化が、痛みによる不快情動生成に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、Gi/oタンパク質共役型受容体を有するNPYによる神経情報伝達が不快情動生成を抑制的に調節していることが示された。Gs共役型受容体であるCRF受容体と、Gi/o共役型受容体であるNPY受容体が、痛みによる不快情動生成を相反的に調節している可能性が考えられるが、両受容体を介した神経情報伝達系がどのように相互作用しているかについては、さらなる検討が必要である。

5. 参考文献

- 1) **Eur. J. Neurosci.**, **18**, 2343-2350 (2003)
- 2) **Neurosci. Res.**, **59**, 199-204 (2007)
- 3) **Behav. Brain Res.**, **176**, 367-371 (2007)
- 4) **J. Neurosci.**, **28**, 7728-7736 (2008)