

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 慢性の痛み解明研究事業  
(英語) Research Project on Elucidation of Chronic Pain

研究開発課題名： (日本語) 診断・治療法の開発を目指した痛みの慢性化脳機構に関するトランスレーショナル研究  
(英語) Understanding the pain chronification process of in the brain - a translational approach from rodents, marmosets and to human subjects

研究開発担当者 (日本語) 東京慈恵会医科大学 医学部 教授 加藤総夫  
所属 役職 氏名： (英語) The Jikei University School of Medicine; Professor; Fusao Kato

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) resting-state fMRI 撮像に基づいた痛みの慢性化に関連した領域間機能的結合  
同定法開発と臨床応用

開発課題名： (英語) Development and application of the inter-regional functional connectivity  
evaluation in the patients with chronic pain based on resting-state  
functional MRI

研究開発分担者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科疼痛医学寄附講座 寄附講座教授  
柴田政彦

所属 役職 氏名： (英語) Department of Pain Medicine Osaka University Graduate School of  
Medicine; Endowed Chair Professor; Masahiko Shibata

分担研究 (日本語) マーモセットにおける痛み-情動回路間線維結合と安静時機能的結合の解析  
開発課題名： (英語) Anatomofunctional connectivity analysis of the pain-emotion networks in  
the marmosets based on brain imaging

研究開発分担者 (日本語) 東京慈恵会医科大学 再生医学研究部教授 岡野ジェイムス洋尚  
所属 役職 氏名: (英語) Division of Regenerative Medicine, Jikei University School of  
Medicine; Professor; Hirotaka James Okano

分担研究 (日本語) 生理活性物質遊離の評価に基づく物質基盤解明  
開発課題名: (英語) Elucidation of the molecular mechanism underlying pain chronification  
based on evaluation of bioactive substance release

研究開発分担者 (日本語) 北海道大学大学院薬学研究院・教授・南雅文  
所属 役職 氏名: (英語) Department of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical  
Sciences, Hokkaido University; Professor; Masabumi Minami

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

研究開発課題名 (実施内容): 慢性痛モデル MRI 解析

### 1. 慢性痛モデル MRI 解析 (研究開発代表者 加藤総夫)

長期の活動亢進を画像化しうるマンガン造影 MRI 法を応用し、扁桃体などの特異的脳機能亢進を見出した。特に、マンガン造影 MRI 法のデータに基づく新規部位間関連評価法を開発し、解析に応用した。加えて、脊髄神経支配領域と三叉神経支配領域の炎症性疼痛モデルを作成し、それぞれが体性感覚地図に及ぼす影響と中脳辺縁系～視床皮質系に及ぼす影響を比較した。辺縁系における活動亢進が一次的炎症部位に依存せず生じることが明らかになった。また、麻酔覚醒下のげっ歯類 fMRI 記録を可能にすべく、頭部軽拘束装置を開発するとともに、脳全体を欠落なくイメージングするための新たな撮影プロトコルを導入し、安定した BOLD 信号を 10 分間にわたり記録することが可能になった。これらを基にした多変量時系列解析を進めている。

### 2. 慢性痛モデル部位間シナプス結合変化の解明 (研究開発代表者 加藤総夫)

光遺伝学的手法を用い、従来までの方法では不可能であった脳幹下行性疼痛制御関連部位間のシナプス伝達を特異的に活性化させ記録する系を確立した (機能コネクトミクス)。ヒト患者 fMRI から得られた機能的結合の変化をシナプス・レベルで検証している。

### 3. rs-fMRI データ解析に基づく特異的な領域間機能的結合の評価 (研究開発代表者 柴田政彦)

中枢機能障害性痛患者群 46 名 (CRPS 19 例 線維筋痛症 8 例 その他 19 例)において、吻側帯状回内などの機能的結合が低下し、中脳水道周囲灰白質と扁桃体、前帯状回、右小脳との間に健常人では見られない有意な機能的結合が見られた。左扁桃体と左島皮質の機能的結合の強さと痛みの強度とに正の相関が見られ、吻側帯状回と左島皮質の機能的結合は痛みの期間と逆相関していた。上肢 CRPS 患者 16 名において左右の大脳皮質一次運動野の機能的結合が減弱していた。頸椎弓切除施行患者 23 例において、一次運動野・感覚野などの感覚運動系と小脳との間の機能的結合が患者群で有意に低下していた。変形性膝関節症と診断され人工膝関節置換術施行予定の患者 14 例で後帯状皮質と左島皮質および被殻/淡蒼球との機能的結合が増強していた。今後更に研究を継続し、術後の症状改善を予測できる技術の開発につなげる。

#### 4. マーモセットにおける痛み-情動回路間線維結合と安静時機能的結合の解析 (研究開発代表者 岡野ジェイムス洋尚)

実験動物中央研究所・慶應義塾大学と共同でマウスアロディニアモデルにおける fMRI 解析を行った。L4 神経根損傷によりモデルを作成し撮像を行ったところ、モデルマウスでは前帯状野、視床において高い BOLD 信号が検出された。Resting state fMRI により機能的結合評価を行ったところ、次数・固有ベクトル中心性ともに対側 S1 で小さくなっており、クラスタリング係数・局所効率は前帯状野で有意に高かった。また、媒介中心性は視床後外側腹側核において有意に高かった。Aβ 線維系の障害が示唆された。

#### 5. 生理活性物質遊離の評価に基づく物質基盤解明 (研究開発代表者 南 雅文)

インビボマイクロダイアリシス法を用いた研究により、慢性疼痛モデル動物における中脳-辺縁ドパミン報酬回路の機能異常を示した。この機能異常は慢性痛とうつ病に共通したメカニズムであり、新規な鎮痛薬あるいは抗うつ薬の創薬標的となる可能性がある。

#### 1. MRI analysis of chronic inflammatory pain development in mice

We employed the manganese-enhanced MRI (MEMRI) that enables imaging of accumulated  $Mn^{2+}$  in the cells through excitatory synaptic transmission and neuronal excitation. MEMRI at 2, 6 and 24 hours after intraplantar formalin injection resulted in a significant  $Mn^{2+}$  signal increase in the limbic system including the right central amygdala, accumbens nucleus, suggesting the sustained spontaneous activity in these areas would be the key triggers that would characterize the cerebral plastic changes in the course of acute-to-chronic transition of the inflammatory pain.

#### 2. Analysis of synaptic interconnectivity between brain regions underlying pain-related symptoms in the chronic pain model animals

We applied optogenetics to analyze the pain-induced changes in the functional connectivity between distinct brain regions using isolated brain slice preparations. We succeeded in detecting the changes in the opioid sensitivity of the inhibitory transmission from the central amygdala to the periaqueductal grey (PAG). This approach would compensate for the molecular/synaptic information as to the functional connectivity data obtained in the fMRI recordings.

#### 3. Development and application of the inter-regional functional connectivity evaluation in the patients with chronic pain based on resting-state functional MRI

In 46 patients with central dysfunction pain syndrome a significantly higher functional connectivity within the rACC (rostral anterior cingulate cortex) between the PAG (periaqueductal gray) and amygdala/ACC/right cerebellum was found by resting state fMRI. The connectivity between the left amygdala and the left insular cortex was positively correlated with mean pain intensity and the connectivity between the rACC and the left insular cortex was negatively correlated with pain duration. In 23 Cervical myelopathy patients, the functional connectivity between primary motor cortex and cerebellum was significantly decreased. In 14 patients with osteoarthritis of knee, the functional connectivity between the posterior cingulate cortex and the left insular/putamen, globus pallidus was significantly increased.

#### 4. Anatomofunctional connectivity analysis of the pain-emotion networks in the marmosets based on brain imaging

fMRI was conducted to investigate allodynia in mice generated by surgical injury at the L4 spinal nerve root. The allodynic mice showed significantly higher BOLD signals in the anterior cingulate area (ACA) and thalamus. The degree and eigenvector centrality were significantly decreased in the contralateral S1, clustering coefficient and local efficiency were significantly increased in the ACA, and “between-ness centrality” was significantly higher in the ventral posterolateral nucleus of the thalamus. These results suggest that the abnormal BOLD activation is associated with defects in A $\beta$ -fiber systems.

#### 5. Elucidation of the molecular mechanism underlying pain chronification based on evaluation of bioactive substance release

In vivo microdialysis study showed the dysfunction of the mesolimbic dopamine reward circuit develops in chronic pain model animals. This dysfunction might be a common neuronal mechanism underlying chronic pain and depression, and a potential target for novel analgesic and antidepressant medications.

### Ⅲ. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 5 件、国際誌 4 件）

1. Sugimura Y. K, Takahashi Y, Watabe A. M, Kato F, Synaptic and network consequences of monosynaptic nociceptive inputs of parabrachial nucleus origin in the central amygdala, *Journal of Neurophysiology*. 115:2721-39, 2016.
2. Okutsu Y, Takahashi Y, Nagase M, Shinohara K, Ikeda R, Kato F, Potentiation of NMDA receptor-mediated synaptic Transmission at the parabrachial-central amygdala synapses by CGRP in mice, *Molecular Pain*. In press, 2017.
3. 寒 重之, 植松 弘進, 大迫 正一, 渡邊 嘉之, 田中 壽, 柴田 政彦. 中枢機能障害性疼痛患者における脳部位間の機能的結合と背景因子との関連 安静時 fMRI による検討 *PAIN RESEARCH*. 2016; 31: 75.
4. 柴田 政彦, 寒 重之, 大迫 正一, 三木 健司, 柳澤 琢史, 助永 憲比古, 恒遠 剛示, 新田 一仁, 岩下 成人, 福井 聖, 黒崎 弘倫, 中野 直樹, 若泉 謙太, 上嶋 江利, 本山 泰士, 高雄 由美子, 溝渕 知司. さまざまな慢性痛患者の安静時 fMRI 研究 *PAIN RESEARCH*. 2016; 31: 189-31(4)196.
5. 寒 重之, 大迫 正一, 植松 弘進, 渡邊 嘉之, 田中 壽, 柴田 政彦. resting-state fMRI による上肢 CRPS 患者における感覚・運動ネットワークの検討 *Journal of Musculoskeletal Pain Research*. 2016; 8: 203-8(2)208.
6. 丸居 航, Alam Saadia Binte, 寒 重之, 柴田 政彦, Koh Min-Sung, 小橋 昌司. Resting state fMRI を用いた各脳部位の相互作用の解析 バイオメディカル・ファジィ・システム学会年次大会講演論文集. 2016; 29 回: 161-64.

7. 寒重之, 柴田 政彦. 【慢性の痛み-何によって生み出されているのか?】 痛みは脳をどう変えるか? Neuroimaging からみえてきたもの 医学のあゆみ. 2017; 260: 155-260(2)159.
8. Komaki Y, Hikishima K, Shibata S, Konomi T, Seki F, Yamada M, Miyasaka N, Fujiyoshi K, Okano HJ, Nakamura M, Okano H. Functional brain mapping using specific sensory-circuit stimulation and a theoretical graph network analysis in mice with neuropathic allodynia. Sci Rep. (2016) 6: 37802.
9. Kato T, Ide S, Minami M. Pain relief induces dopamine release in the rat nucleus accumbens during the early but not late phase of neuropathic pain. Neuroscience Letters. 2016, 629, 73-8.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Visualization of spontaneous brain activity during pain chronification process with manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI), poster, Shinohara K, Takahashi Y, Tsurugizawa T, Ikeda R, Marumo K, Kato F, The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. Yokohama, 2016/07/22.国内.
2. 炎症性疼痛モデルラットにおける扁桃体-中脳水道周囲灰白質シナプス伝達, 口頭, 高橋由香里, Ghasemi Zahra, 杉村弥恵, 篠原恵, 加藤総夫, 第 36 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム. 札幌, 2016/08/20.国内.
3. ホルマリン炎症遷延性疼痛モデルを用いた脳内慢性化過程の解析, 口頭, 加藤総夫, 第 36 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム. 札幌, 2016/08/20.国内.
4. Use of high-magnetic field MRI for analysis of pain chronification process, 口頭, Shinohara K, Ireland-U.S.A.-Japan Joint Mini-Symposium: Various Aspects in the Brain and Pain. Tokyo, 2016/09/26.国内.
5. マンガン造影小動物 MRI による炎症性疼痛モデルの自発的脳活動の可視化, 口頭, 篠原恵, 奥津裕也, 池田亮, 高橋由香里, 加藤総夫, 丸毛啓史, 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会. 福岡, 2016/10/13. 国内.
6. Optogenetic dissection of the amygdala-mediated control of the descending pain modulation, poster, Sugimura Y. K, Ghasemi Z, Takahashi Y, Yanagawa Y, Kaneko R, Watabe A. M, Kato E, Society for Neuroscience Annual Meeting 2016. San Diego, 2016/11/15.国外.
7. 慢性痛研究シンポジウム-AMED 研究の現状と今後, 口頭, 加藤総夫, 第 9 回日本運動器疼痛学会. 東京, 2016/11/26. 国内.
8. マンガン造影 MRI を用いた口唇部炎症痛モデルの脳機能画像解析, 口頭, 有村大吾, 篠原恵, 高橋由香里, 釣木澤朋和, 丸毛啓史, 加藤総夫, 第 9 回日本運動器疼痛学会. 東京, 2016/11/27. 国内.
9. マンガン造影 MRI 法を用いた炎症性疼痛モデルにおける慢性痛成立過程の脳機能画像化, 口頭, 篠原恵, 第 9 回日本運動器疼痛学会. 東京, 2016/11/27. 国内.
10. 無麻酔 fMRI 法による遺伝子改変マウス研究, MRI 研究会. 口頭, 釣木澤朋和, 篠原恵, 有村大吾, 沖繩, 2017/01/20. 国内.

11. 診断・治療法の開発を目指した痛みの慢性化脳機構に関するトランスレーショナル研究, 口頭, 加藤総夫, 2016年度AMED4事業合同成果報告会 疾患克服への挑戦. 東京, 2017/02/24. 国内.
12. 中枢機能障害性疼痛患者における脳部位間の機能的結合と背景因子との関連: 安静時 fMRI による検討, 口頭, 寒重之, 柴田政彦他, 日本疼痛学会, 2016/6/24, 国内.
13. Altered resting-state brain activity in central dysfunctional pain patients, 口頭 (シンポジウム), 寒重之, 柴田政彦他, 日本神経科学会, 2016/7/21, 国内.
14. Alterations of the salience network in patients with central dysfunctional pain, ポスター, 寒重之, 柴田政彦他, World Congress of Pain, 2016/10/2, 国内 (国際学会).
15. 慢性疼痛と自発脳活動: 中枢機能障害性疼痛患者における機能的結合の安静時 fMRI による検討, 口頭 (シンポジウム), 寒重之, 柴田政彦他, 日本運動器疼痛学会, 2016/11/26, 国内.
16. 臨床的治療戦略を応用した低侵襲マーモセット研究, 口頭, 太田裕貴, 畑純一, 岡野ジェイムス 洋尚, 第6回日本マーモセット研究会大会, 2016/12/13, 国内.
17. プレガバリンによる疼痛緩和が神経障害性疼痛モデル動物の側坐核内ドパミン遊離に及ぼす影響, 加藤貴大, 井手聡一郎, 南 雅文, 道立道民活動センターかでの 2.7, 2016/6/25, 国内.
18. 神経障害性疼痛モデルラットにおける報酬誘発性側坐核内ドパミン遊離の時期依存的変調, ポスター, 井門愛理, 加藤貴大, 井手聡一郎, 南 雅文, 第46回日本神経精神薬理学会年会, 2016/7/2, 国内.
19. Time-dependent alteration of reward-induced dopamine release in the nucleus accumbens of the neuropathic pain model rats, ポスター, Ido A, Kato T, Ide S, Minami M, 30th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology, 2016/7/3, 国外.

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

痛みは脳を変え、脳は痛みを変える-慢性痛の最新脳科学-, 加藤総夫, 厚生労働省 平成28年度からだの痛み相談支援事業 難治性疼痛・慢性の痛み 市民公開講座・交流会. 名古屋, 2016/08/07, 国内.

### (4) 特許出願