

神経科学研究部

教授：加藤 総夫 神経科学，神経生理学，疼痛学

教育・研究概要

I. 慢性痛にともなう苦痛情動と，炎症性疼痛における痛みの慢性化に関する脳機構の解明

痛みは「不快な感覚的・情動的体験」であり，その苦痛は「自己の身体に生じた不都合な事態」を個体が感知するために進化的に早期に獲得された根源的生物機能である。痛み，特に，神経可塑性によって成立する慢性痛の苦痛を成立させている脳内機構の解明を目指して研究を進めた。

1. 光遺伝学，化学遺伝学の応用による脳内特定ニューロン集団の機能的役割の解明

昨年度作製した dopamine- β -hydroxylase プロモーター，および vesicular GABA transporter プロモーターの制御下に cre リコンビナーゼを発現するラット 2 系統（それぞれ，W-Tg (Dbh-tTA/cre) 2_7Fusa，および，W-Tg (Slc32a1-cre) 3_5Fusa と命名）をナショナルバイオリソースプロジェクト repository に寄託した（それぞれ NBRP Rat No.0856 および No.0839）。これらを用いて，1）扁桃体中心核の選択的活性化と抑制の侵害受容応答への影響，2）扁桃体中心核から中脳水道周囲灰白質へのシナプス伝達，および，3）扁桃体シナプス伝達およびニューロン興奮性に及ぼす孤束核ノルアドレナリン神経刺激の影響を解析した（科研費・基盤研究（B）および（C）（研究代表者：高橋由香里助教）の補助を受けて進めた）。

2. 慢性痛の成立における扁桃体の役割の解明

唇顔面部の炎症性疼痛が右扁桃体シナプス伝達および右扁桃体 cFos 発現を増強する事実を見出した（Miyazawa Y, et al. の成果として論文公表）。また，初期急性痛応答の消褪数時間後，両側の下肢に触覚性疼痛過敏が生じ，数日間持続する「generalized sensitization」現象を見出し，その発現に扁桃体中心核が関与する事実を証明した（主に科研費・基盤研究（B）および内藤記念科学振興財団の補助を受けて進めた）。

3. 全身性炎症と痛みネットワークの可塑性に関する研究

慢性疼痛モデルで活性化する腕傍核と扁桃体中心核のニューロンは，自然免疫系の活性化によっても活性化する。両者の連関とそのシナプス伝達に及ぼ

す影響を検討するとともに，扁桃体中心核ニューロンの発現 RNA 解析を開始した（2018 年度本学研究奨励費（杉村弥恵助教）および上原記念生命科学財団の補助を受けて進めた）。

4. 痛みネットワーク神経活動依存的機能分子発現法の解析

特異的機能に関与するニューロンを同定し，その人工的分子発現操作を行うべく，Fos 発現依存的に cre リコンビナーゼを発現するトランスジェニック・マウスを導入し，重急性炎症性疼痛，急性の痒みなどの刺激下，特異的な時間幅で興奮するニューロンの同定に成功した（科研費・基盤研究（B）および上原記念生命科学財団の補助を受けて進めた）。

5. 三叉神経ニューロンへの遺伝子導入系確立

三叉神経一次求心線維が延髄腕傍核に直接投射している可能性が証明されたため，一次求心線維-腕傍核ニューロン間のシナプス伝達を評価する系を開発した。顔面部の炎症・侵害受容が脳内の痛み情動回路のシナプス可塑性を引き起こす機構を解明する上で極めて重要な手法となるものと思われる（科研費・基盤研究（B）の補助を受けて進めた）。

6. 侵害受容-情動連関におよぼすギャバベンチノイドの影響の評価

炎症性疼痛モデル扁桃体中心核シナプス伝達増強に及ぼすギャバベンチノイドの影響をスライス・パッチクランプ法を用いて評価した。ギャバベンチノイドは炎症性疼痛モデルにおいて扁桃体外側基底核-中心核シナプス伝達を選択的に抑制した（筑波大学麻酔科学講座との共同研究）。

II. 小動物超高磁場 MRI を用いた慢性痛関連脳活動の可視化に関する研究

実験動物研究施設 9.4T 小動物用 MRI 装置を用い，マンガン造影 MRI 法を用いた自発痛関連脳活動の可視化を行った。右扁桃体にアデノ随伴ウイルスにより化学遺伝学人工 G タンパク共役型受容体を発現させ，炎症性疼痛の発症後人工的アゴニストを投与することによって腹側被蓋野，大脳基底核，および，側坐核の活性化が扁桃体の活動に依存する事実を証明し論文投稿した（フランス原子力庁 Neuro-Spin との共同研究，AMED 慢性の痛み解明研究事業の研究費の支援を受けて進めた）。

III. 情動に伴う慢性疼痛の実態に関する研究

「怒りや恨み，不公平感などの情動に伴う慢性疼痛の実態に関する研究」を推進した（AMED 慢性の痛み解明研究事業研究班（柴田政彦代表研究者）

の支援を受けて進めた)。

IV. 光遺伝学と遺伝子組み換えラットを用いた特異的神経細胞集団の生理機能に関する研究

波長依存的に開口と閉口を操作可能なチャンネルロドプシン変異体を VGAT-cre ラットに発現させたラットを用い、脳スライスにおいて異なる波長の光で励起してシナプス伝達を観察し論文公表した(東北大学 八尾 寛教授との共同研究として推進し論文公表した)。VGAT-cre ラットを用い、一次および二次運動野における抑制性ニューロンの役割を光遺伝学的手法を用いて同定する研究に参加した(玉川大学 磯村宣和教授との共同研究として推進し論文公表した)。

V. 痒みと搔痒行動の発現における脳内報酬系ニューロンの活動に関する研究

ヒスタミン皮下急性投与後の側坐核の Fos 分子発現とニューロンのドパミン D₁ または D₂ 受容体の発現との関連を一分子蛍光 in situ hybridization 法 (RNAscope[®]) で可視化解析した(皮膚科学講座との共同研究)。

VI. 関節炎リウマチモデルにおける自発的行動の評価に基づく病態評価法の開発

コラーゲン誘発リウマチ関節炎モデルマウスにおける自発運動および随意的温度選択行動試験を行い、リウマチ治療分子標的薬がこれらと関節症状を解離させる事実を証明した(リウマチ・膠原病内科との共同研究、上原記念生命科学財団の補助を受けて進めた)。

VII. マウス耐糖能に及ぼす社会的階層の影響に関する研究

マウスの各個体の社会的階層と耐糖能、グルコース誘発投与インスリン放出などの関係、ならびに、食事との関係を解析したところ、集団内階層、摂食脂肪量、耐糖能の間に相互依存の関係がある事実が見出された(糖尿病・代謝・内分泌内科との共同研究、上原記念生命科学財団の補助を受けて進めた)。

VIII. 周産期における脳内オキシトシン受容体応答の変容に関する研究

妊娠前、妊娠中期、分娩直後、および、分娩後の雌性ラットの扁桃体スライスに細胞内カルシウム濃度インディケータを導入し、外因性オキシトシンによるカルシウム応答を可視化したところ、周産期

の時点に依存した反応性の大きな差異が認められた(産科婦人科学講座との共同研究)。

IX. iPS 細胞由来内耳内シナプス機能の証明

ヒト由来 iPS 細胞から分化作製された内耳の感覚器・感覚神経間に機能的シナプスが形成されていることを電気生理学および細胞内カルシウムイメージングで実証した(再生医学研究部および耳鼻咽喉科学講座との共同研究)。

X. ニコチン受容体修飾タンパクの制御機構に関する分子生理学的研究

HEK293 細胞に発現させた人工ニコチン受容体の修飾タンパクの修飾機構をニコチン誘発チャンネル電流の電気生理学的測定によって検討した(慶応義塾大学薬学部との共同研究)。

「点検・評価」

神経科学研究部の構成員は、教授 1 名、助教 2 名(高橋由香里、杉村弥恵)、本学雇用研究補助員 1 名(垂水崇子)、非常勤講師 1 名、本学大学院生 8 名、単位取得大学院生 3 名、海外留学生(博士課程) 1 名、研究実習生 1 名、臨時雇用研究補助員 1 名、臨時雇用研究技術者 1 名である。

本年度も高水準の国際的活動を続け、国際的に高い評価を受けた。大学院生(派遣 3 名、再派遣 5 名)の研究指導および大学院共通カリキュラムでの講義に加え、コース基礎医科学Ⅱのユニット「神経系」における医学科の神経生理学の講義、コース研究室配属、選択実習ならびに輪読勉強会などを通じた学部学生への教育、および、派遣大学院生、臨床講座からの再派遣大学院生・専攻生、留学生の研究指導においても十分な成果を上げた。コース研究室配属で配属された学生はその後高度な実験を放課後などに進め成果を上げた。本学の神経関係の研究を進める基礎系部局の合同勉強会 NeuroClub の活動を推進した。名実ともに本学の神経科学研究および教育の中心として高水準の活動が続いている。

昨年度に引き続き、本学における神経機能研究の振興と学部・大学院学生への教育を目的として、「神経機能研究の最前線」セミナーを「医学研究の基礎を語り合う集い」として開催した。「日常生活動作や自然刺激にともなう自律神経のはたらき」堀田晴美博士(東京都健康長寿医療センター)(2018年9月26日)、「ケトン食療法の機序と作用 - アデノシンと痛み -」Susan A. Masino 教授(Trinity College)(2018年10月3日)。

部長・加藤は、日本学術会議第24期連携会員、一般社団法人日本生理学会理事、日本自律神経学会理事、同広報委員長、日本疼痛学会理事、日本脳科学関連学会連合評議員、Molecular Pain 編集長次席を務めた。アジア・オセアニア生理学会連合第9回大会 (FAOPS2019) (2019年3月27~31日、神戸)の副大会長(財務担当)および財務委員長を務めた。本学動物実験委員会委員長およびホームページ委員会副委員長を務めた。

以上、本研究部は学外の活動に貢献するとともに、「痛み脳科学センター」の拠点としての活動を継続して推進し、また、多くの競争的研究費(文科省科研費・AMED・各種財団)を獲得して研究活動を活発に進めていることに加え、医学科講義、大学院教育、および、各種委員会活動など学内の教育研究活動にも大いに貢献した。本学の神経科学の推進に大いに貢献していると評価する。さらに先端的研究を推進・持続して本学発信の医学研究の成果を上げ、先端医学研究を推進する医科大学としての社会的位置づけを向上させていくには、教員の努力と能力に依存するだけではなく、大学院教育による医学研究者養成の充実を目標とした抜本的な構造と意識改革が急務であり、そのモデルケースとして活動を続けていく。

研究業績は、神経科学研究部ホームページに全業績(原著論文3編、総説5編、学会発表23件)のリストを掲載した(<http://www.jikei-neuroscience.com/website/files/2018.pdf>)。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Yamauchi N¹, Takahashi D, Sugimura YK, Kato F, Amano T¹, Minami M¹(¹ Hokkaido Univ). Activation of the neural pathway from the dorsolateral bed nucleus of the stria terminalis to the central amygdala induces anxiety-like behaviors. *Eur J Neurosci* 2018; 48(9): 3052-61.
- 2) Soma S¹, Yoshida J¹, Kato S¹, Takahashi Y, Nonomura S¹, Sugimura YK, Rios A¹, Kawabata M¹, Kobayashi K¹, Kato F, Sakai Y¹, Isomura Y¹(¹ Tamagawa Univ). Ipsilateral-dominant control of limb movements in rodent posterior parietal cortex. *J Neurosci* 2019; 39(3): 485-502.
- 3) Igarashi H¹, Ikeda K², Onimaru H (Showa Univ), Kaneko R³, Koizumi K¹, Beppu K¹, Nishizawa K⁴, Takahashi Y, Kato F, Matsui K²(² Int Univ Health Welfare), Kobayashi K⁴(⁴ Fuku-shima Med Univ), Yanagawa Y³(³ Gunma Univ), Muramatsu SI (Jichi Med Sch), Ishizuka T¹, Yawo H¹(¹ Tohoku Univ). Targeted expression of step-function opsins in transgenic rats for optogenetic studies. *Sci Rep* 2018; 8(1): 5435.

II. 総説

- 1) Kato F, Sugimura YK, Takahashi Y. Pain-associated neural plasticity in the parabrachial to central amygdala circuit: pain changes the brain, and the brain changes the pain. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1099: 157-66.
- 2) 篠原 恵, 池田 亮, 丸毛啓史, 高橋由香里, 加藤 総夫. 痛みと情動 痛みと情動を結ぶ脳回路における CGRP の役割. *Locomotive Pain Fronti* 2018; 7(2): 90-5.
- 3) 加藤総夫. 【脳神経回路のダイナミクスから探る脳の発達・疾患・老化】痛みと神経可塑性. *生体の科学* 2019; 70(1): 38-42.
- 4) 加藤総夫, 高橋由香里, 杉村弥恵, 各種疾患 自律神経疾患 神経可塑性障害としての慢性痛 腕傍核扁桃体中心核路の役割. *Annu Rev 神経* 2019: 277-83.
- 5) 有村大吾, 篠原 恵, 丸毛啓史, 釣木澤朋和, 高橋由香里, 加藤総夫. 整形トピックス マンガン造影 MRI を用いた小動物自発脳活動可視化. *整形外科* 2018; 69(7): 738.

III. 学会発表

- 1) 加藤総夫. (アフタヌーンセミナー 3) 痛みの記憶と神経可塑性障害としての慢性痛. 第47回日本脊椎脊髄病学会学術集会. 神戸, 4月.
- 2) 加藤総夫, 高橋由香里, 木下 淳, 落合敏平, 杉本真理子. (シンポジウム 22: 神経障害の病態と治療-痛みを科学する) 痛性糖尿病神経障害における痛覚過敏の中枢メカニズム. 第61回日本糖尿病学会年次学術集会. 東京, 5月. [糖尿病 2018; 61(Suppl.1): S-73]
- 3) 加藤総夫. (教育セミナー 1) 光遺伝学・化学遺伝学を用いた痛み関連ネットワークの機能解析. 第40回日本疼痛学会. 長崎, 6月. [PAIN RES 2018; 33(2): 85]
- 4) Kato F. The active role of the central amygdala in the widespread hypersensitivity. *Pain Mechanisms and Therapeutics Conference 2018*. Taormina, June.
- 5) Kato F. Chronic pain-associated plasticity in the emotional circuits - modulation by purines. *PURINES 2018 (Basic and Translational Science on Purinergic Signaling and its Components for a Healthy and Better World)*. Foz do Iguaçu, June.

- 6) Takahashi Y, Onozato T, Tokita T, Sugimura YK, Kato F. The impact of the potentiated parabrachio-amygdaloid synaptic transmission on the central amygdala network signaling in the rats with neuropathic pain. 11th FENS (Federation of European Neuroscience Societies) Forum of Neuroscience. Berlin, July.
- 7) Ghaemi-Jandabi M, Ghasemi Z, Takahashi Y, Sugimura YK, Kato F. Optogenetically activated monosynaptic transmission from the central amygdala to the periaqueductal gray in rats with inflammatory pain. 11th FENS (Federation of European Neuroscience Societies) Forum of Neuroscience. Berlin, July.
- 8) Kato F. What is this thing called "pain"? - functional consequences of synaptic plasticity in the nociception-emotion link in the amygdala. RIKEN CBS Summer Program. Wako, July.
- 9) Arimura D, Shinohara K, Takahashi Y, Tsurugizawa T, Ikeda R, Marumo K, Kato F. 炎症性疼痛慢性化過程のDREADD-MEMRIによる可視化(Visualization of the activation pattern causality in the transition from acute to chronic pain using DREADD-MEMRI). 第41回日本神経科学大会. 神戸, 7月.
- 10) 加藤総夫. (ジョイント教育講演3) 時間依存的神経可塑性障害としての慢性の痛み. 日本ペインクリニック学会第52回大会. 東京, 7月. [日ペインクリニック会誌 2018, 25(3): np99]
- 11) 高橋由香里. 侵害受容扁桃体における神経ペプチド CGRP の役割. 平成30年度生理学研究所研究会「情動の神経回路機構とその破綻」. 岡崎, 9月.
- 12) 加藤総夫. (シンポジウム6: 痛みと情動・自律反応) 痛み情動の生物学的意味を考え直す. 第71回日本自律神経学会総会. さいたま, 10月.
- 13) 宮沢祐太, 高橋由香里, 加藤総夫. 三叉神経疼痛モデルにおける扁桃体中心核活性化のラテラルリティ. 第135回成医会総会. 東京, 10月. [慈恵医大誌 2018; 133(6): 85]
- 14) Kato F. Pain-associated synaptic plasticity in the amygdala-optogenetics and chemogenetics approaches. 3rd IBRO-APRC (International Brain Research Organization - Asia Pacific Regional Committee) Chandigarh Neuroscience School. Chandigarh, Nov.
- 15) Kato F. (Symposium 706: The Emerging Role of the Amygdala in Modulating the Somatosensory and Emotional Components of Pain and Itch) The central amygdala regulates widespread mechanical sensitivity. Neuroscience 2018 (48th Annual Meeting of the Society for Neuroscience). San Diego, Nov.
- 16) Takahashi Y, Onozato T, Sugimura YK, Kato F. Effect of neuropathic pain on the optogenetically activated feedforward inhibition in the central amygdala of rats. Neuroscience 2018 (48th Annual Meeting of the Society for Neuroscience). San Diego, Nov.
- 17) 加藤総夫. (教育講演) 脳内の細胞内および細胞外ブリン・シグナリング. 第52回日本疼痛・核酸代謝学会総会. 東京, 2月.
- 18) 加藤総夫, 永瀬将志, 江口遼大. (シンポジウム20: 難治性疼痛の治療戦略ターゲットとしてのアストロサイト・ニューロン乳酸シャトル) 痛み情動関連興奮性シナプス伝達におけるアストロサイト・ニューロン乳酸シャトルの特異的役割. 第92回日本薬理学会年会. 大阪, 3月.
- 19) Takahashi Y, Miyazawa Y, Sugimura Y. K, Kato F. (Symposium49 (Local Organizing Committee Symposium): Frontiers in Pain Physiology-From Detection to the Survival Behavior (under the auspices of Japanese Association for Study of Pain)) Lateralized amygdala plasticity independent of bilateral parabrachial activity in inflammatory pain. The 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies) Congress in conjunction with the 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. Kobe, Mar.
- 20) Arimura D, Shinohara K, Takahashi Y, Tsurugizawa T, Ikeda R, Marumo K, Kato F. Visualization of the activation pattern causality during pain chronification using DREADD-MEMRI. The 9th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies) Congress in conjunction with the 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. Kobe, Mar.