

神経可塑性におけるグリア細胞の役割-痛覚伝達系をモデルとして-

研究代表者：村瀬 一之（工学研究科、教授）

電話：0776-27-8774、メールアドレス：murase@synapse.his.u-fukui.ac.jp

共同研究者：池田 弘（工学研究科、准教授）

概 要	痛覚過敏時には、脊髄後角内のニューロンおよびグリア細胞がさまざまな可塑的変化を示すと考えられている。本研究では、痛覚過敏モデル動物を用いて脊髄後角におけるグリア細胞の形態および数の変化、神経興奮へのグリア細胞の作用、グリア細胞の活動性の変化について、特にグリア細胞に存在する P2X 受容体の 1 つである P2X ₄ 受容体に注目して実験を行った。実験の結果、グリア細胞で形態の肥大化、数の増加が見られた。また、ノーマルラットに比べて、P2X ₄ 受容体を介したカルシウムシグナルがより多くのグリア細胞で見られ、より活性化されていることがわかった。また、グリア細胞の活動の抑制や P2X ₄ 受容体の阻害は、神経興奮を減少させた。これらの結果は、痛覚過敏が、脊髄後角内のグリア細胞に P2X ₄ を介した可塑的変化が起き、その変化が神経興奮を促進させるために起こることを示唆する。
関連キーワード	脊髄後角、痛覚過敏、P2X 受容体、カルシウムイメージング、ミクログリア

研究の背景

痛覚過敏時には、脊髄後角内のニューロンおよびグリア細胞がさまざまな可塑的変化を示すと考えられている。その 1 つとして、最近最も注目されているのが、脊髄内活性型ミクログリア（形態変化や数の増加などの変化を示す）の関与である。このようなミクログリアは、プリン受容体の 1 つである P2X₄ 受容体を発現し、そこからのカルシ

ウムイオンの細胞内への流入をきっかけに、細胞内でさまざまな生化学反応が引き起こされ、その結果、神経興奮を増強させると考えられている。しかし、実際に痛覚過敏ラットで P2X₄ 受容体を介したカルシウムイオンの細胞内への流入が起きているのか、また、P2X₄ 受容体が神経興奮に関与しているのかを明確に示した報告はない。

研究の目的

本研究では、3 種類の痛覚過敏モデル動物を用いて、活性型ミクログリアが見られるかを免疫染色でミクログリアを染色することによって調べた。また、膜電位感受性色素を用いた光イメージングによって神経興奮がノーマルラットに比べて増強しているかを時空間的に解析した。また、活性型ミクログリアの脊髄内での分布と、神経興奮が増

強している領域は同様の領域なのかを調べた。また、神経興奮がプリン受容体の拮抗薬の阻害薬によって抑制を受けるのかを調べた。さらに、P2X₄ 受容体からのカルシウムイオンの流入が見られるかを共焦点顕微鏡を用いたカルシウムイメージングによって調べた。

研究の成果

1. グリア細胞の免疫染色

脊髄後角のミクログリアの数の増加および肥大化が神経損傷、ホルマリンを肢裏へ注射したラッ

トの同側で見られたが、フロイント完全アジュバント(CFA)を肢裏へ注射したラットでは、そのような変化は見られなかった。また、神経損傷ラット

では、そのような変化は外側で顕著であり、ホルマリンラットでは内側で顕著であった。

2. 神経興奮の光イメージング

全ての痛覚過敏ラットで神経興奮の増強が見られ、いずれもモデルも顕著な増強は外側で見られた。従って、神経損傷ラットでは免疫染色の結果と領域が一致するが、ホルマリンラットでは領域に違いが見られることがわかった。また、CFA ラットでは、免疫染色によって活性型のミクログリアが見られなかったにも関わらず、神経興奮の増強が見られたことより、ミクログリアが関与せずに増強が起きると考えられる。また、神経損傷ラットの神経興奮はミクログリアの抑制剤によって大きく減少したが、ノーマルおよびその他のモデル動物ではほとんど変化が見られなかった。さらに、神経損傷ラットの神経興奮は、P2X_{1,2,3,5,7} 受容体の選択的拮抗薬ではほとんど変化は見られないが、P2X₁₋₄ 受容体の選択的拮抗薬では大きく減少した。このことより、神経損傷ラットで見られる神経興奮の増強にはミクログリアの P2X₄ 受容体が関与していると考えられる。しかし、その他のモデル動物では、P2X₄ 受容体以外のプリン受容体の関与が考えられる。

3. カルシウムイメージング

ミクログリアの P2X₄ 受容体を介した活動が神経損傷ラットで促進されているのかを調べるために、カルシウムイメージングによって、細胞内カルシウム濃度上昇を P2X 受容体の作用薬である ATP を還流することによって調べた。神経損傷ラットとノーマルラットの脊髄スライスに ATP を還流すると、ノーマルラットに比べて神経損傷ラットの方が多くの細胞でカルシウムシグナルが見られた(Fig. 1)。さらに、神経損傷ラットのカルシウ

ムシグナルは、P2X_{1,2,3,5,7} 受容体の選択的拮抗薬ではほとんど変化は見られないが、P2X₁₋₄ 受容体の選択的拮抗薬では大きく減少した(Fig. 2)。このことより、神経損傷ラットのミクログリアでは、P2X₄ 受容体の数が増加、あるいは機能の促進が起き、その結果、多くの Ca²⁺ が細胞内へと流入することができ、そのような変化が神経興奮の増強をもたらしているのではないかと考えられる。

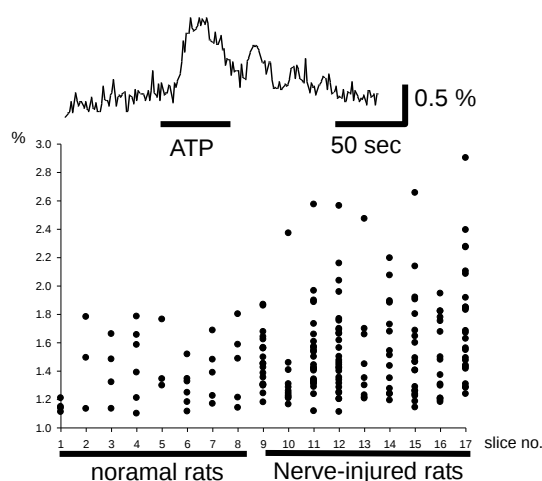


Fig. 1 ATP 刺激によって見られたカルシウムシグナルと各スライスでカルシウムシグナルを示した細胞の数とシグナルの大きさ

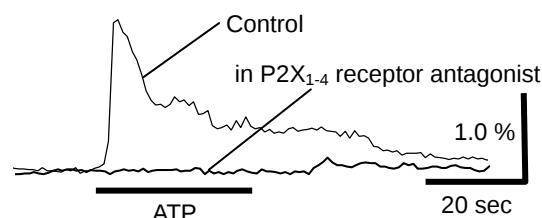


Fig. 2 ATP 刺激によって見られたカルシウムシグナルの P2X₁₋₄ 受容体の阻害薬による抑制

特記事項・発表論文など

「学会発表」

1. Ikeda H, Murase K (2009) Role of glial cells in the facilitation of optically-recorded neuronal excitation in the rat spinal dorsal horn. 36th International Congress of Physiological Science.
2. 池田弘, 村瀬一之, 切通考貴 (2009) 痛覚と神経可塑性: イメージングによる解析, 第31回日本疼痛学会.

「論文」

1. Ikeda H, Kiritoshi T, Murase K. Synaptic plasticity in the spinal dorsal horn. (2009) Neuroscience Research Vol. 64, No. 2 pp. 133-136.