

曾我ジャーナルクラブ」

2023/2/20

# PSD-95 in the anterior cingulate cortex contributes to neuropathic pain by interdependent activation with NR2B

Ang Li<sup>1,4</sup>, Chang-Jun Huang<sup>1,2,4</sup>, Kai-Peng Gu<sup>1</sup>, Yan Huang<sup>1</sup>, Ya-Qin Huang<sup>1</sup>, Hui Zhang<sup>1</sup>, Jia-Piao Lin<sup>1</sup>, Yu-Fan Liu<sup>1</sup>, Yan Yang<sup>3</sup> & Yong-Xing Yao<sup>1</sup>✉

前帯状皮質のPSD-95はNR2Bとの相互依存的な活性化により神経因性疼痛に関与している

# Abstract

PSD-95は、様々な神経機能障害に関与していることが示唆されているが、神経因性疼痛（NP）における前帯状皮質（ACC）のPSD-95の役割についてはこれまで明らかにされていない

本研究では、神経因性疼痛における NR2Bとの相互作用が示唆された。坐骨神経の慢性収縮損傷（CCI）によりNPモデルを確立し、機械的および熱的試験により行動学的な痛覚過敏を評価した

タンパク質の発現と分布は、免疫組織化学とウェスタンブロッティングで評価した

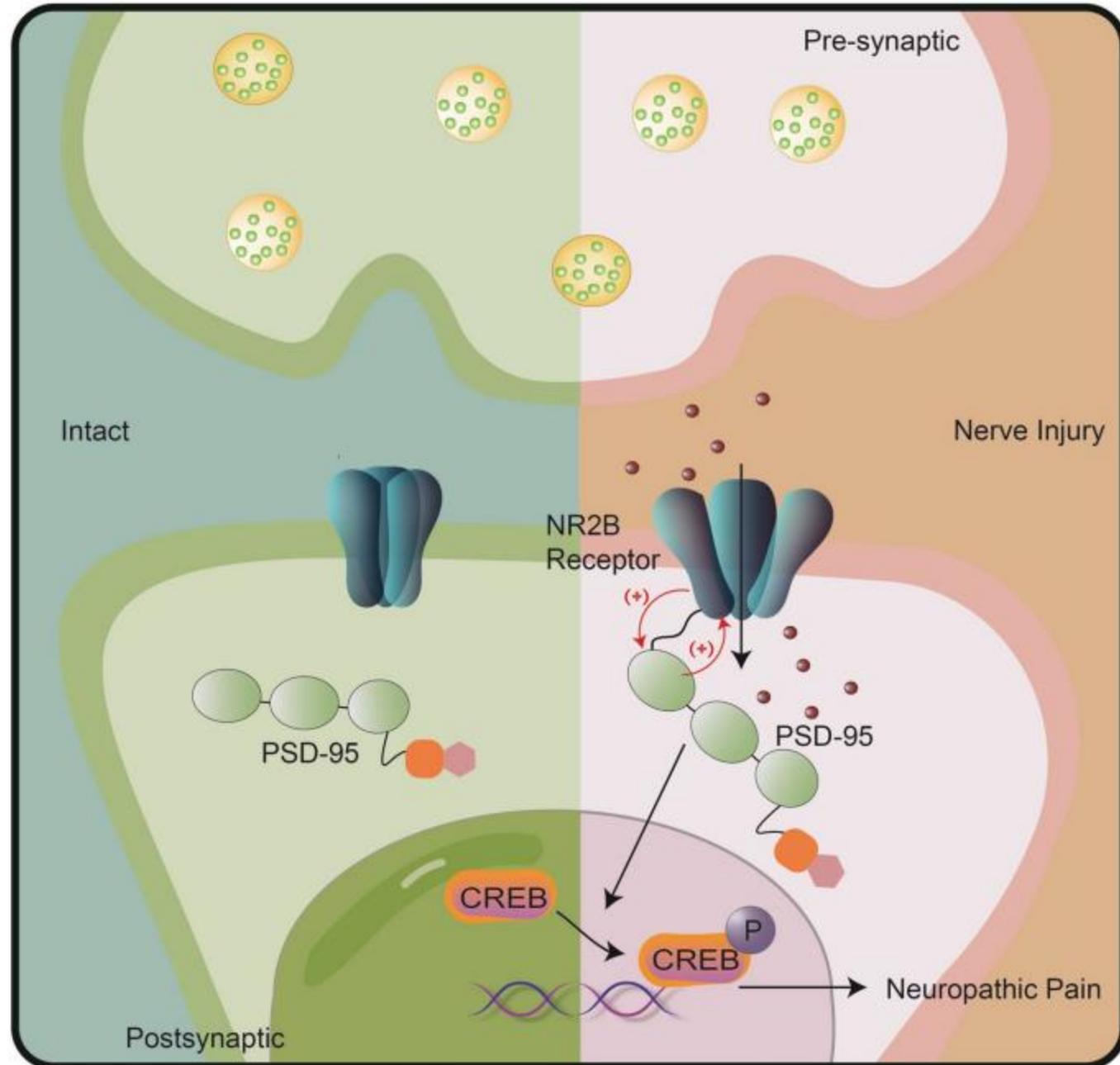
その結果、PSD-95と NR2B は ACC の神経細胞で共局在していた

CCI後、PSD-95とNR2BはともにACCで発現が上昇した

Ro 25-6981でNR2Bを阻害すると、痛覚過敏は減弱し、CCIによるPSD-95の過剰発現は減少した

さらに、PSD-95 アンチセンスオリゴヌクレオチドを ACC 内に投与すると、疼痛感受性が減弱するだけでなく、NR2B レベルが低下し、cyclic acid のリン酸化が抑制された

これらの結果から ACC の PSD-95 は、NR2B の相互依存的な活性化により、NP に寄与している。



# Betaine Attenuates Chronic Constriction Injury-Induced Neuropathic Pain in Rats by Inhibiting KIF17-Mediated Nociception

Vineeta Tiwari and Siva Hemalatha\*



Cite This: <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.2c00380>



Read Online

ACCESS |

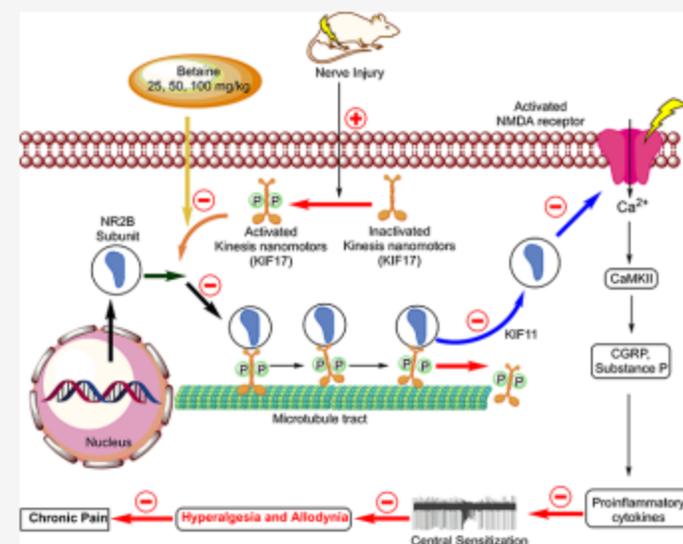
Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

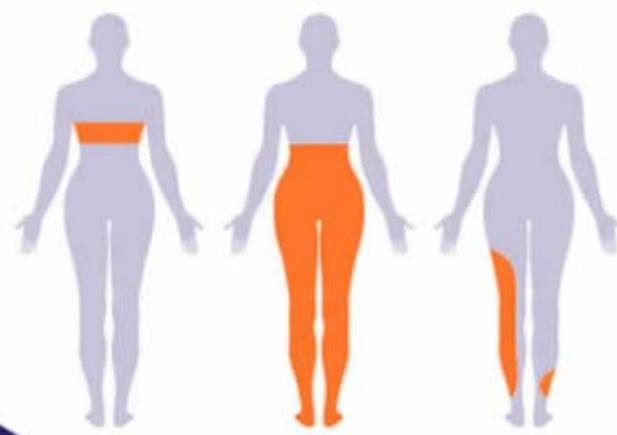
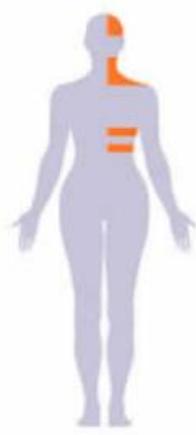
**ABSTRACT:** Kinesin superfamily proteins transport a diverse range of cargo, including excitatory receptors to the dendrite and axon of a neuron via retrograde and anterograde fashions along microtubules, causing central sensitization and neuropathic pain. In this study, we have performed *in silico* molecular dynamics simulation to delineate the dynamic interaction of betaine with KIF17, a kinesin protein, known to be involved in neuropathic pain. The results from the molecular dynamics study suggest that the betaine–KIF17 complex is stabilized through hydrogen bonding, polar interactions, and water bridges. Findings from *in vivo* studies suggest a significant increase in pain hypersensitivity, oxido-nitrosative stress, and KIF17 overexpression in the sciatic nerve, dorsal root ganglion (DRG), and spinal cord of nerve-injured rats, which was significantly attenuated on treatment with betaine. Betaine treatment also restored the increased NR2B expressions and levels of proinflammatory cytokines and neuropeptides in the DRG and spinal cord of nerve-injured rats. Findings from the current study suggest that betaine attenuates neuropathic pain in rats by inhibiting KIF17-NR2B-mediated neuroinflammatory signaling.

**KEYWORDS:** betaine, KIF17, NR2B, neuropathic pain, molecular dynamics simulation, CGRP, substance P



### Post-herpetic neuralgia

8% of herpes zoster patients



### Spinal cord injury

67% of patients with spinal cord injuries

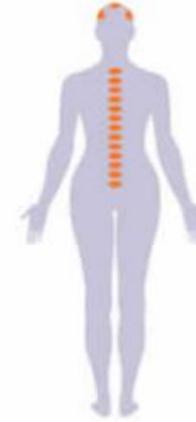
### Painful diabetic neuropathy

26% of patients with type 2 diabetes



## Neuropathic pain

Pain caused by a lesion or disease of the somatosensory nervous system

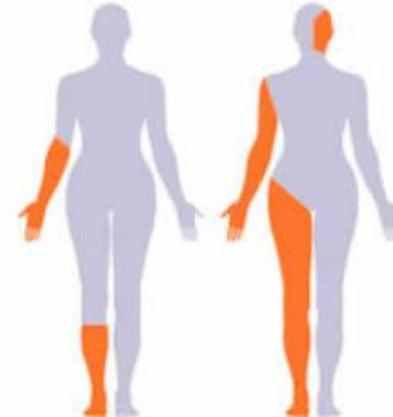


### Multiple sclerosis

28% of patients with multiple sclerosis

### Low back nerve root pathology

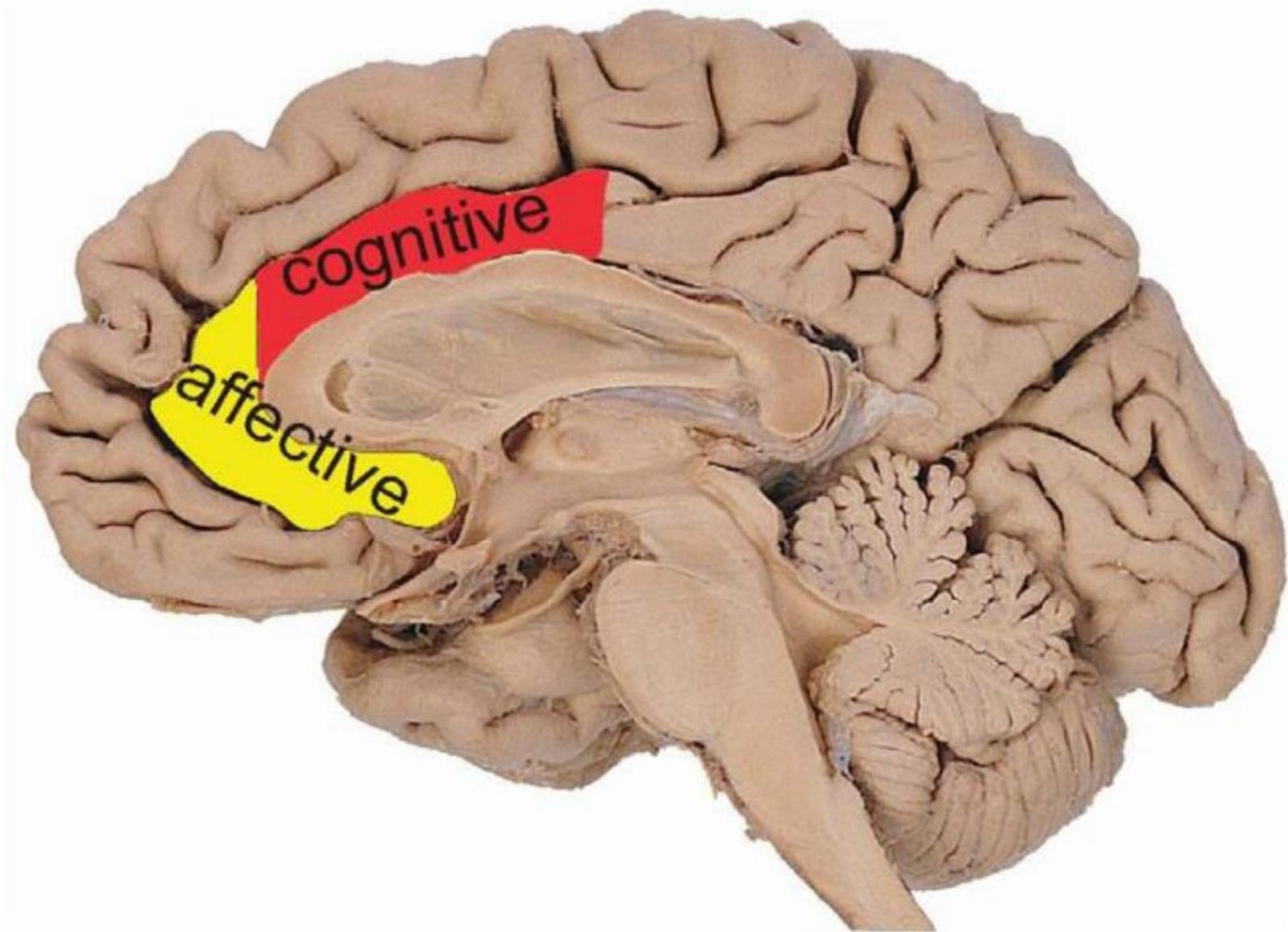
10-17% of patients with low back pain



### Stroke

8% of patients with stroke

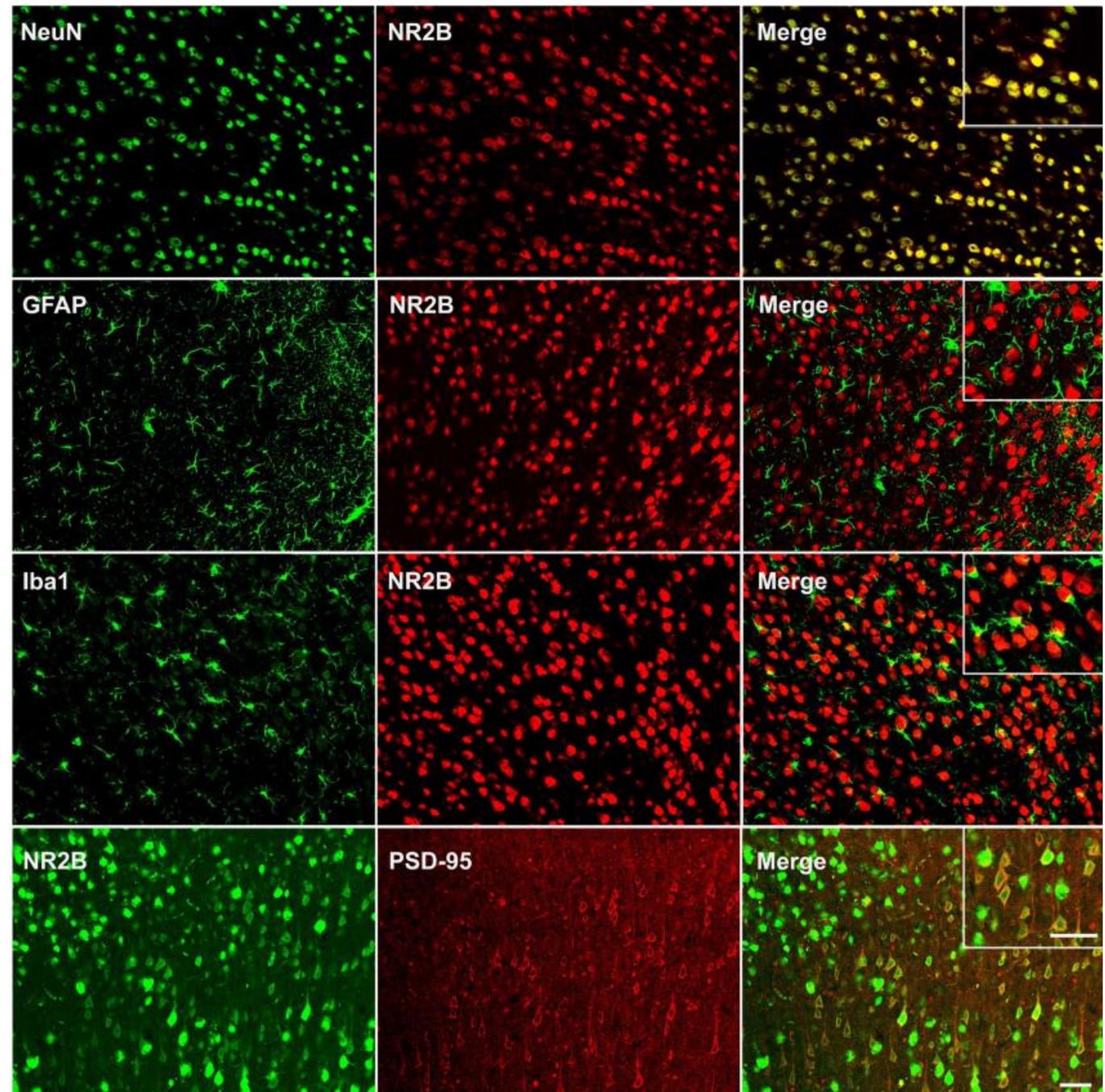
# Anterior Cingulate Cortex



# Results

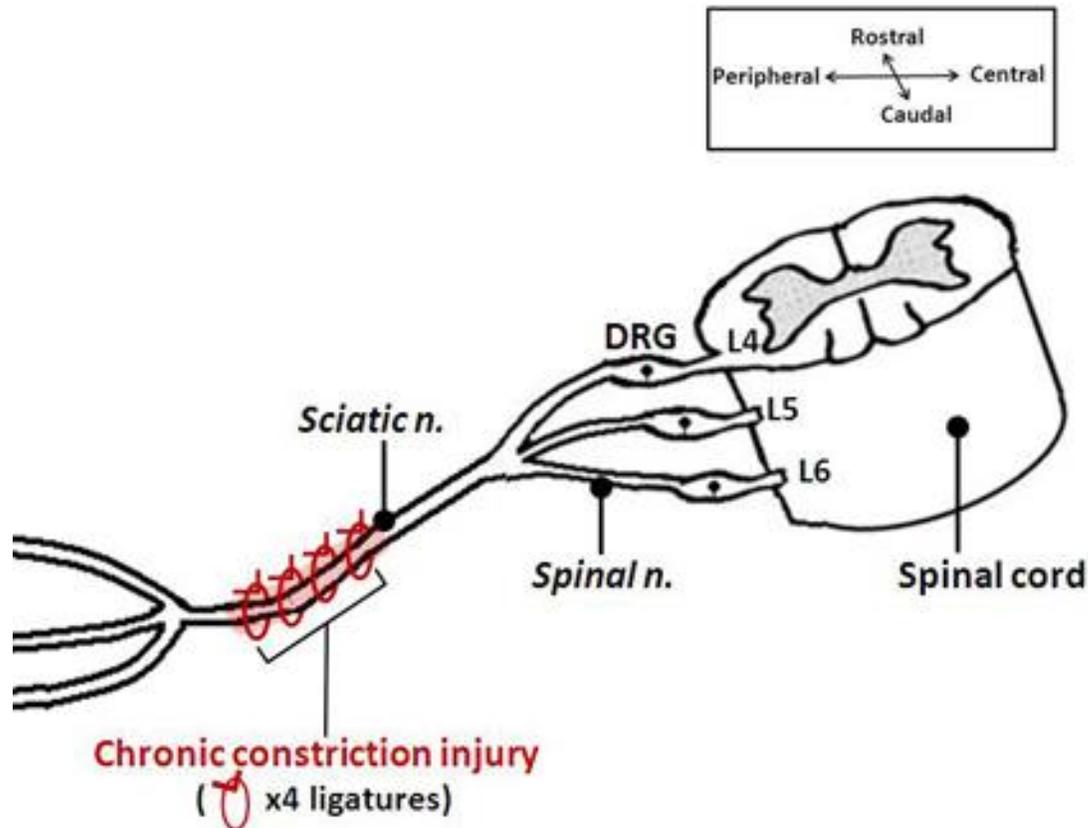
ACCにおけるNR2Bと  
PSD-95の細胞内分布

NR2Bはアストロサイトや  
ミクログリアのマーカ  
ーとは共局在せず、ニュー  
ロンのマーカ―やPSD-95  
と共局在する



## 2) 絞扼性神経損傷 (chronic constriction injury, CCI) モデル

1988年に Bennett と Xie によって報告された神経損傷モデルであり, Bennett モデルとも呼ばれる(2). ラットの大腿中央部の坐骨神経をクロム処理した4-0縫合糸で緩く4カ所絞扼する(約1 mm 間隔で)ことにより作製する. 絞扼部位は坐骨神経が三叉に分かれる近傍(中枢側)である. クロム自体の神経毒性が神経損傷に重要であり, クロム処理されていない縫合糸では疼痛は観察されない(3). 末梢神経の緩やかな圧迫による疼痛は臨床でもみられることから, CCI モデルは有用なモデルである. 自傷行動モデルと異なり, CCI モデルでは刺激により引き起こされる反応により疼痛を評価できることから, このモデルの報告により, 神経因性疼痛の研究は急速に進んだ. 問題点としては, 疼痛様反応の発症率が低いことと, 絞扼の程度を一定にするのが難しいことがあげられる.



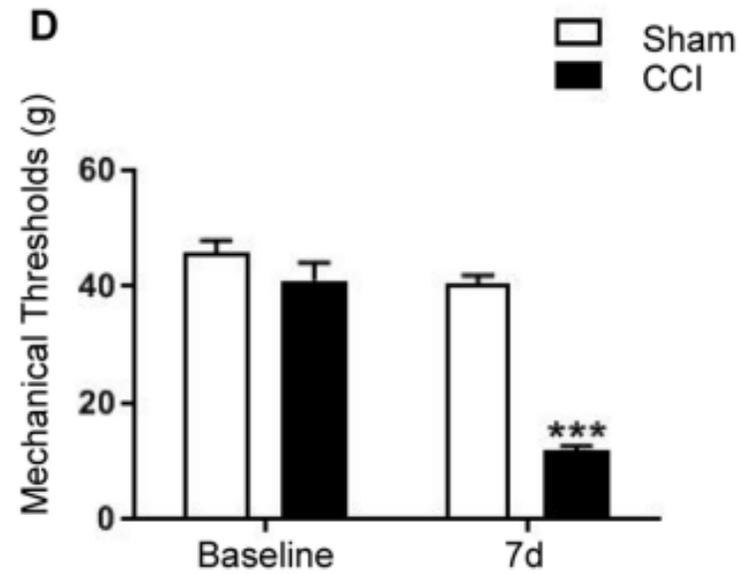
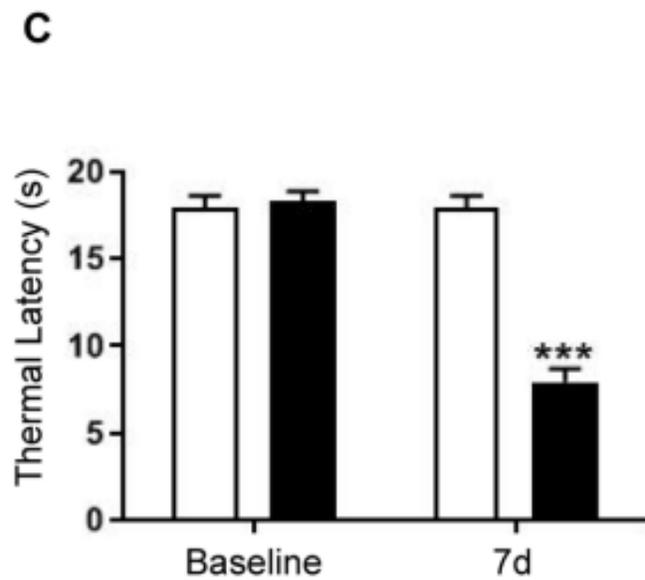
## Thermal Latency(熱潜時)

熱が出る光をラットの足底に照射し、ラットが足を引き抜くか舐める(痛みと認識する?)までの時間(s)をTLとする

## Mechanical Threshold(機械的閾値)

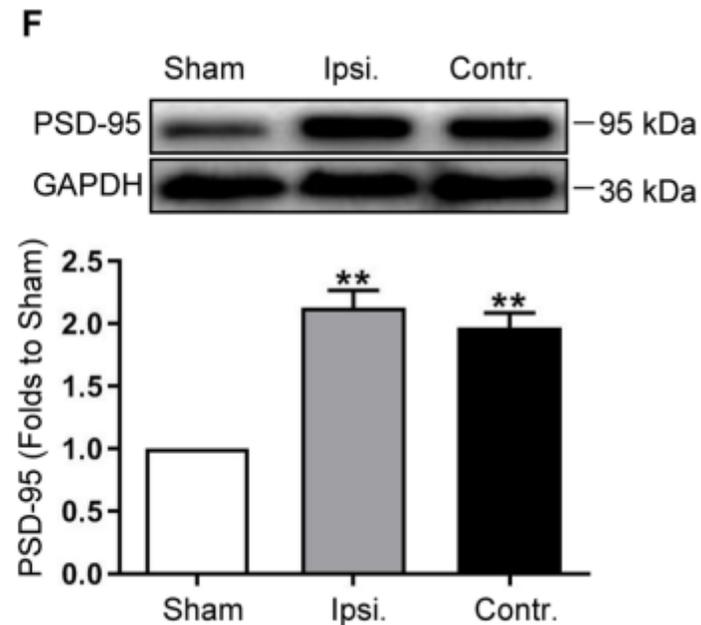
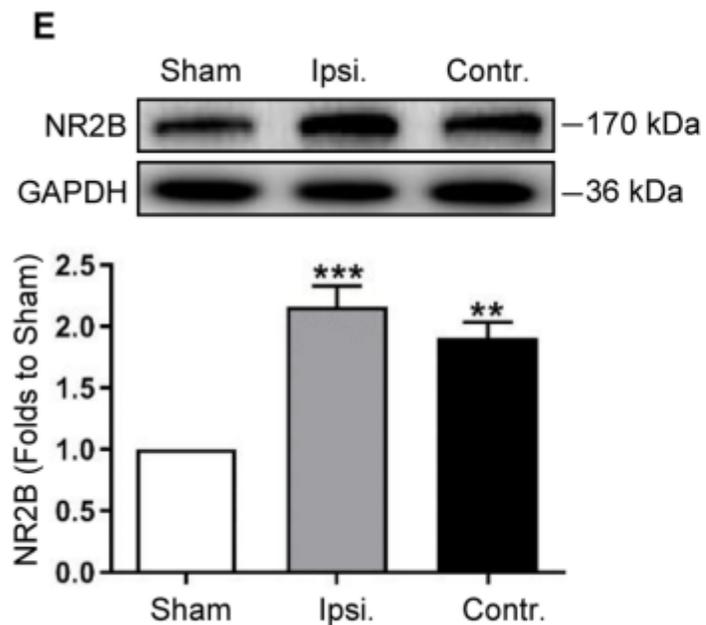
ラットの足底を強く刺激し、ラットが足を引き抜くか舐めるまで観察する。その時に要した力の大きさ(g)をMTとする

⇒ どちらもHyperalgesia(痛覚過敏)の指標

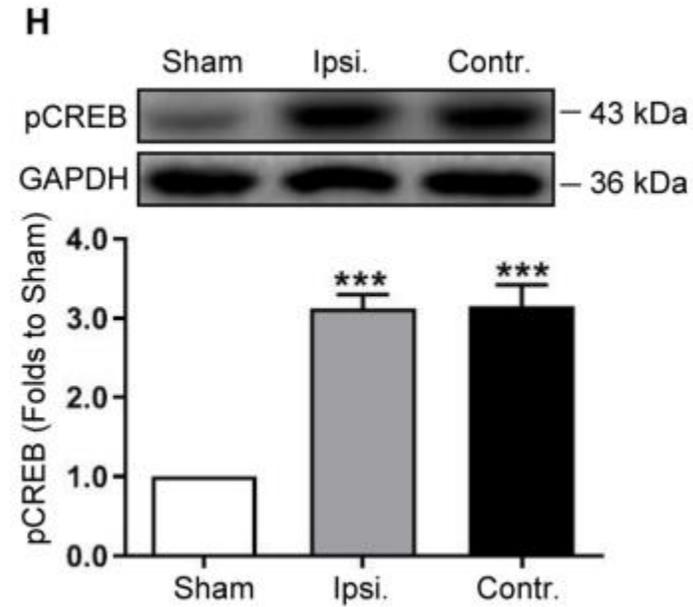
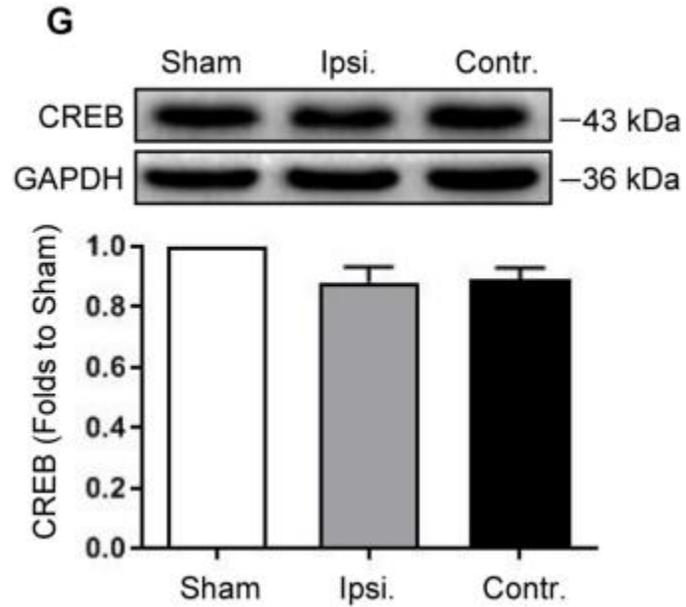


偽薬群(Sham)と比較してCCI群はCCI後7日目のTLとMCの値が有意に低かった

→CCIの成功により痛覚過敏が発現した

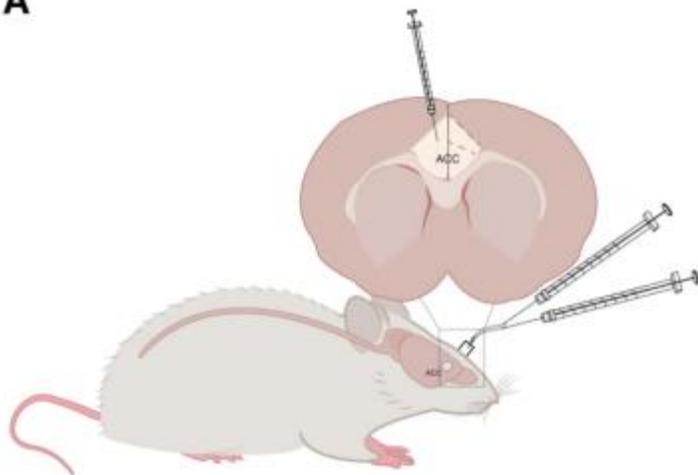
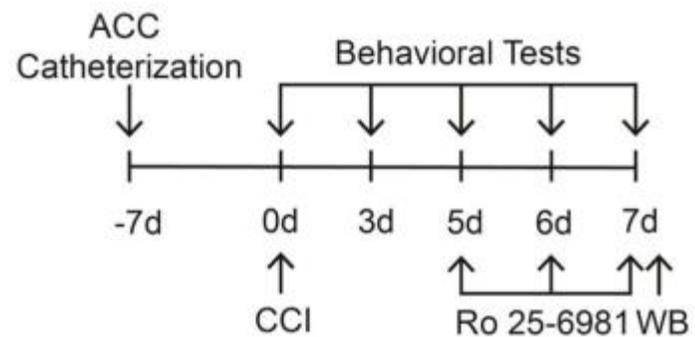


ACCにおけるNR2BとPSD-95の発現がCCI群で有意に増加した  
→CCIによりNR2BとPSD-95がACCで活性化される  
(NR2BとPSD-95は痛覚の構成に関与している)

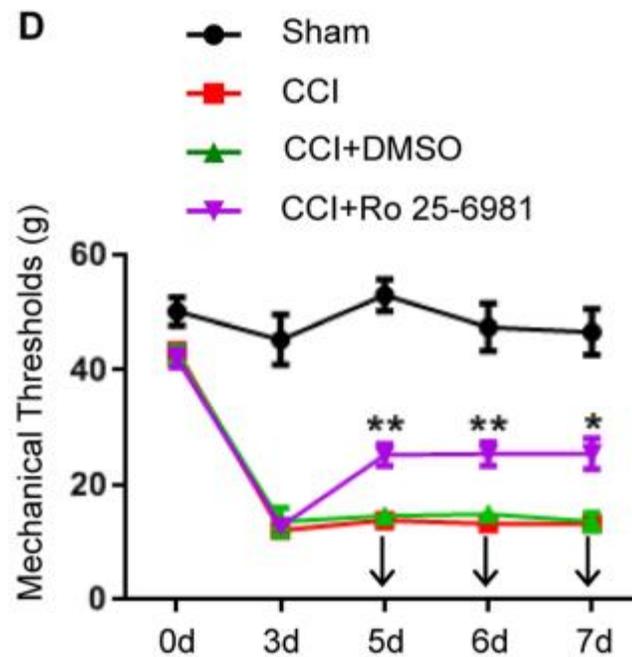
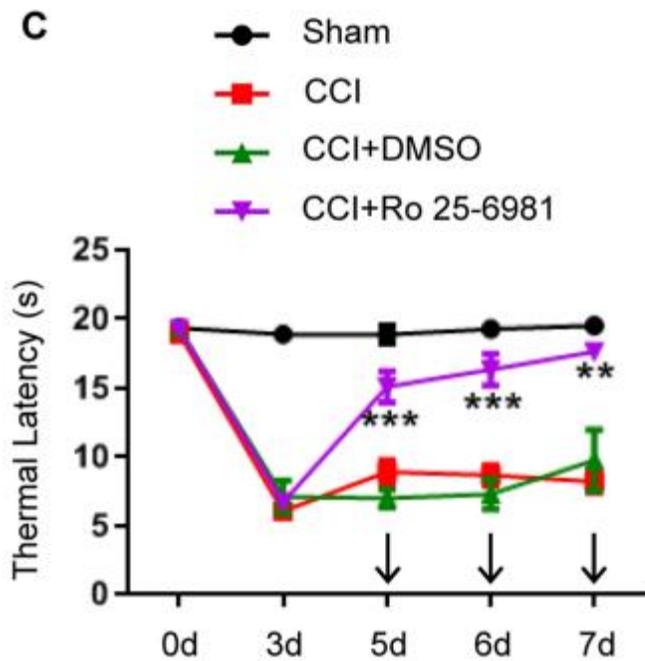


ACCの総CREB量は変化しなかったが、リン酸化CREB量はCCI群で有意に増加した

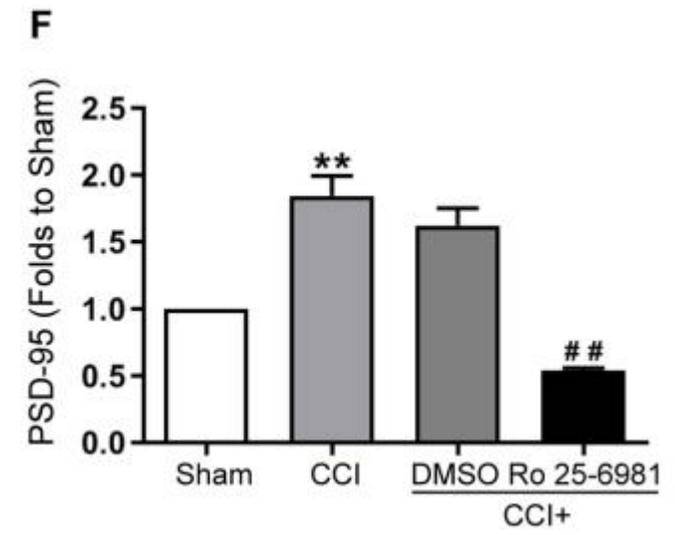
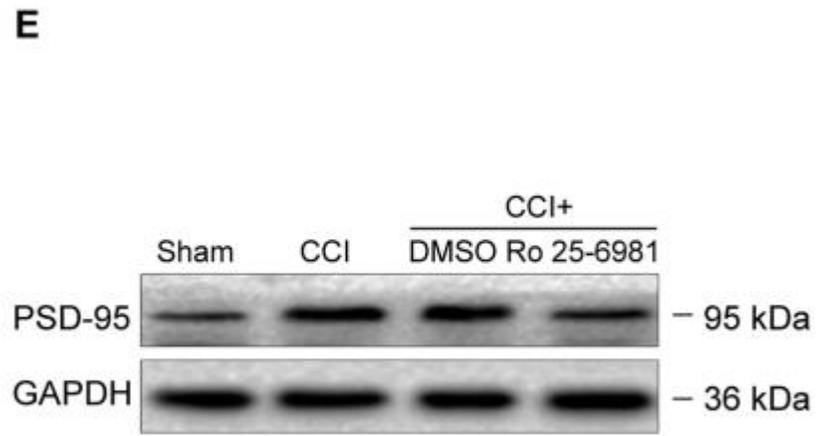
→ACCにおいてCCIによりCREBが活性化された

**A****B**

CCIから5,6,7日目にNR2B阻害薬のRo 25-6981を投与

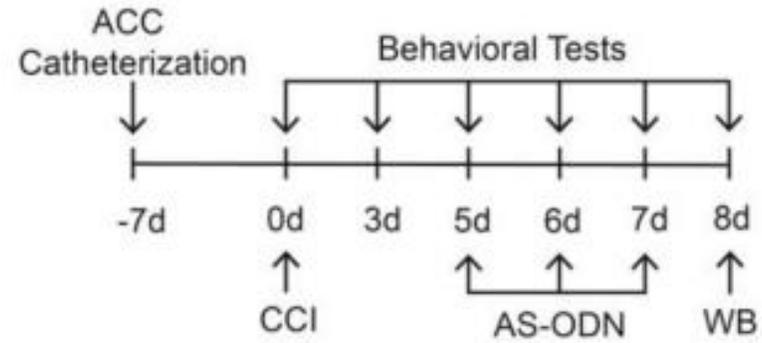


Ro 25-6981投与群でTCとMTが増加

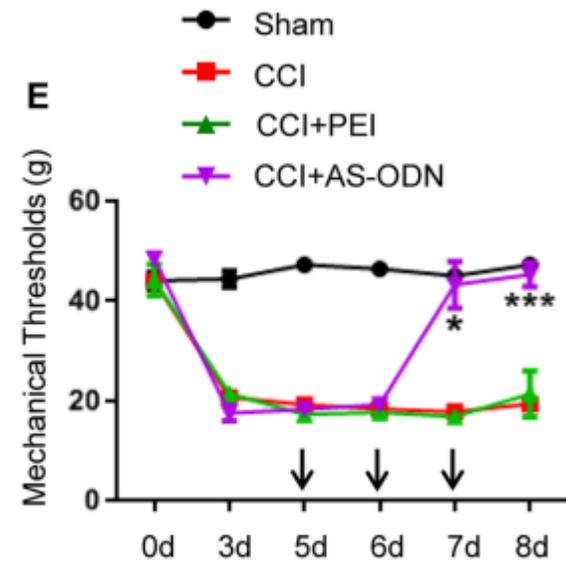
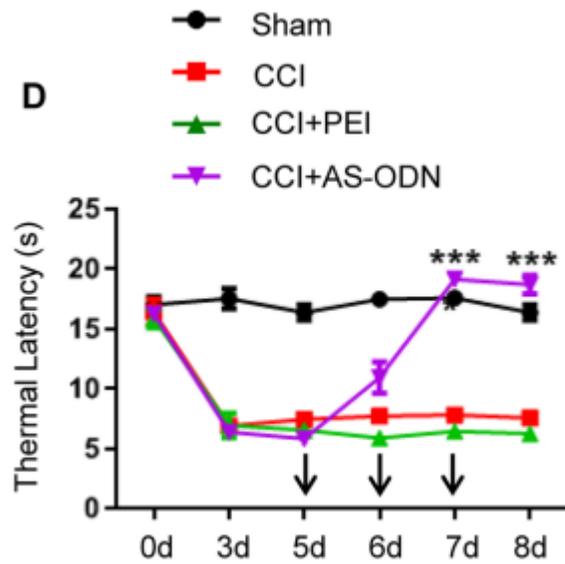


Ro 25-6981投与群でPSD-95の発現が減少

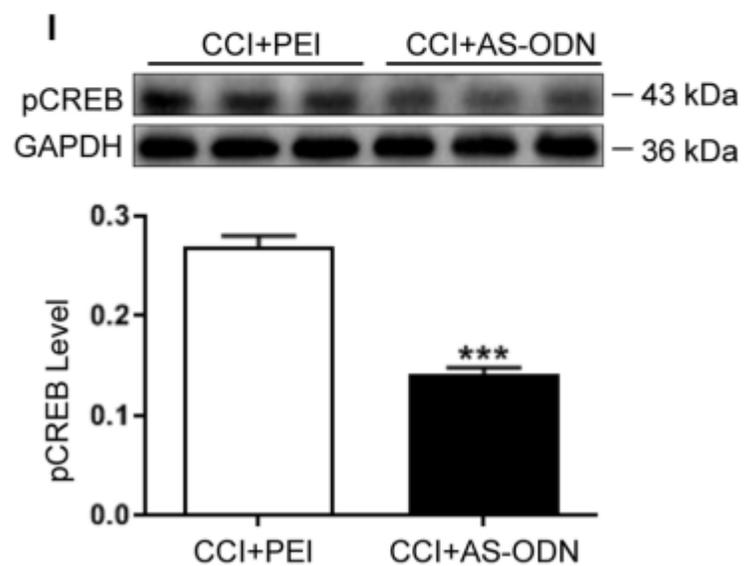
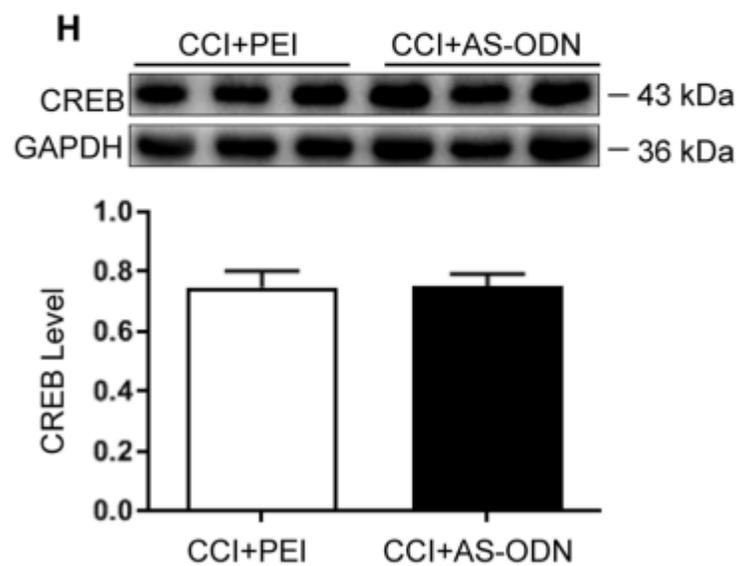
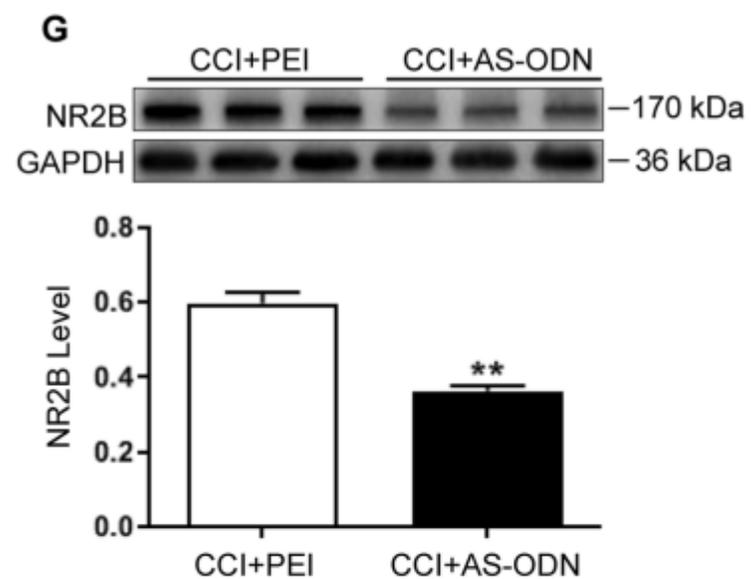
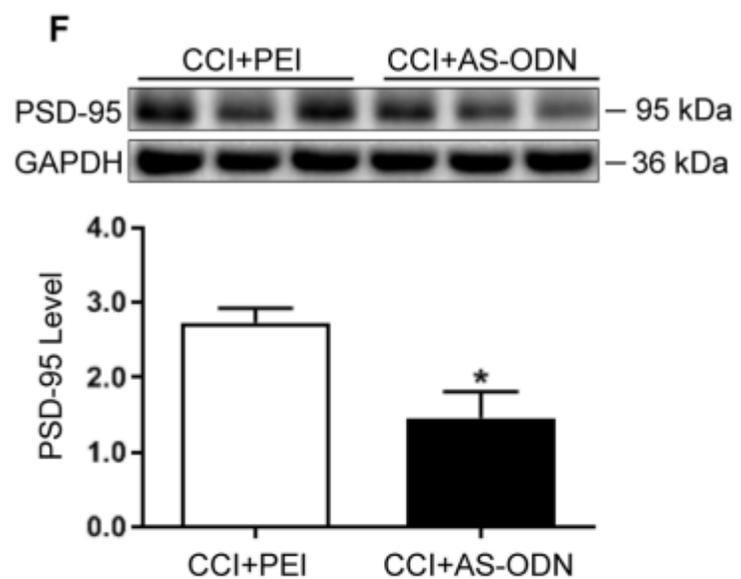
**A**



CCIから5,6,7日目にPSD-95 アンチセンスオリゴヌクレオチドのAS-ODNを投与



AS-ODN群では最終投与日とその翌日にTLとMTが増加



AS-ODNの連続投与は行動学的な痛覚過敏を抑制するだけでなく、CCIによって誘導されるNR2Bの過剰発現とCREBのリン酸化を阻害する

ACCにおいてPSD-95が痛覚過敏に重要な役割を果たし、CREBが神経因性疼痛におけるPSD-95の下流の標的分子である可能性を示唆