

令和元年6月12日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21311

研究課題名(和文) 難治性疼痛における脊髄アンジオテンシンII機構の解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) The elucidation of the involvement of spinal angiotensin II system in intractable pain and the development of new therapy

研究代表者

根本 互 (NEMOTO, Wataru)

東北医科薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：80635136

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は坐骨神経結紮や糖尿病に起因した神経障害性疼痛モデルマウスにおける脊髄内アンジオテンシン(Ang)IIの関与を明らかにし、新規治療法の開発を目指すものである。結果として、これらの神経障害性疼痛における脊髄内Ang IIの関与は認められなかった。一方、2型糖尿病モデルであるob/obマウスの脊髄内ではAng IIの代謝物であるAng(1-7)産生系の活性が低下しており、このことが糖尿病性神経障害性疼痛に関与していることを見出した。本研究で明らかにした、糖尿病性神経障害性疼痛における脊髄内Ang(1-7)産生系の関与は、今後の新規治療法の開発に重要な役割を果たすことが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では難治性疼痛における脊髄内アンジオテンシン(Ang)IIの関与を探り、新規治療法の開発を目指した。結果として、坐骨神経結紮マウスや2型糖尿病マウスで認められる痛覚過敏に対し、Ang IIは関与していなかった。一方、糖尿病性神経障害性疼痛において、脊髄内Ang(1-7)産生系の低下が関わることを見出した。Ang(1-7)はAng IIのN末端代謝物であるが、脊髄内Ang(1-7)産生系の疼痛伝達機構における役割を示した研究はこれまでに無く、この点が学術的に意義のある点だと考えられる。脊髄内Ang(1-7)産生系は有用な新規治療標的となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to determine the involvement of spinal angiotensin (Ang) II on chronic constriction injury- or diabetes-induced neuropathic pain in mice and to establish the system for the development of novel therapy. As a result, spinal Ang II was not involved in neuropathic pain in these models. On the other hand, attenuation of Ang (1-7), an N-terminal fragment of Ang II, generating system was observed in the spinal cord of ob/ob mice, a model for type 2 diabetes, which led to neuropathic pain. These data suggested that spinal Ang (1-7) might be novel therapeutic target for diabetic neuropathic pain.

研究分野：薬理学

キーワード：糖尿病 神経障害性疼痛 脊髄 アンジオテンシン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脊髄後根神経節 (DRG) にはアンジオテンシノーゲン, アンジオテンシン (Ang) 変換酵素 (ACE), Ang II タイプ (AT)_{1A} および AT₂ 受容体が発現しており, いくつかの DRG ニューロンにおいて Ang II はサブスタンス P やカルシトニン遺伝子関連ペプチドなどの痛みの伝達物質と共存している (Patil et al., Regul. Pept., 2010). 我々は先行研究において, Ang II が脊髄後角の神経細胞やアストロサイトの p38 MAPK を活性化することで疼痛関連行動 (後肢や尾部への噛み付き行動, 舐め行動および下腹部への引っ掻き行動) を誘発させること (Nemoto et al., Neuropharmacology, 2015), および 2%ホルマリン液をマウスの足蹠内へ投与することにより脊髄後角において Ang II 含量が増加し, AT₁ 受容体拮抗薬ロサルタンは p38 MAPK の活性化を抑制することで鎮痛作用を示すことを明らかにしている (Nemoto et al., Neurosci. Lett., 2015). これらの知見は, 従来より血圧や体液バランスの調節因子として考えられてきた Ang II が脊髄疼痛伝達機構において促進的な役割を担っていることを示唆するものである。しかしながら, Ang II による疼痛調節機構が難治性疼痛の共通基盤として存在しているのか否かは未だ不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は, 難治性疼痛の共通基盤として脊髄 Ang II 系の亢進が関与しているのか否かを探るとともに, Ang II 系を標的とする薬物の難治性疼痛に対する有効性を検討することである。

3. 研究の方法

(1) 坐骨神経絞扼 (CCI) マウスの神経障害性疼痛における脊髄内 Ang II 系の関与について: CCI マウスは坐骨神経 2 カ所を 5-0 絹糸で緩く結紮することにより作製した。CCI 手術後, 十分な痛覚過敏を示す 1 週間後のマウスを使用し, 各種 Ang 系構成因子の発現量の変化をウエスタンブロット法により解析した。

(2) 糖尿病性神経障害性疼痛における脊髄内 Ang II 系の関与について: 2 型糖尿病モデルマウスとしてレプチン変異型 ob/ob マウスを用いた。機械的および熱性痛覚過敏の変化はそれぞれ, von Frey 法および Hargreaves 法により解析した。また, 脊髄における各種 Ang 系構成因子の発現量の変化をウエスタンブロット法により解析した。

4. 研究成果

(1) CCI マウスの神経障害性疼痛における脊髄内 Ang II 系の関与について: CCI 手術後 1 週間後の脊髄背側部 (ipsilateral 側) における各種 Ang II 系構成因子の発現量の変化を解析した。その結果, アンジオテンシノーゲン, ACE および AT_{1A} 受容体の発現量に変化は認められなかった。Ang II はその代謝産物も生理活性を有しており, Ang II が ACE2 により代謝されることで産生される Ang (1-7) は Mas 受容体に作用することで, Ang II の AT₁ 受容体を介した反応に対して抑制的に機能することが知られている。そこで, 本研究では ACE2 および Mas 受容体の発現量に関しても解析した。しかしながら, これらの両タンパクに関しても CCI マウスの脊髄内における変化は認められなかった。したがって, CCI マウスで認められる神経障害性疼痛に脊髄内 Ang II 系は関与していないことが明らかとなった。

(2) 糖尿病性神経障害性疼痛における脊髄内 Ang II 系の関与について: 2 型糖尿病モデルマウスである ob/ob マウスの経日的な疼痛閾値の変化を von Frey 法および Hargreaves 法により検討した。その結果, ob/ob マウスは 11 週齢において顕著な機械的ならびに熱性痛覚過敏症状を呈することが明らかとなった (図 1)。そこで次に, 11 週齢における脊髄内 Ang 系構成因子の発現量を解析した。ob/ob マウスの脊髄背側部においてアンジオテンシノーゲン, ACE および AT_{1A} 受容体の発現量に変化は認められなかった。一方, Mas 受容体の発現量が減少傾向にあり, ACE2 に関しては有意な発現量の低下が認められた。これらの結果より, ob/ob マウスの脊髄背側部では Ang (1-7) 産生系の機能が低下している可能性が示唆された。

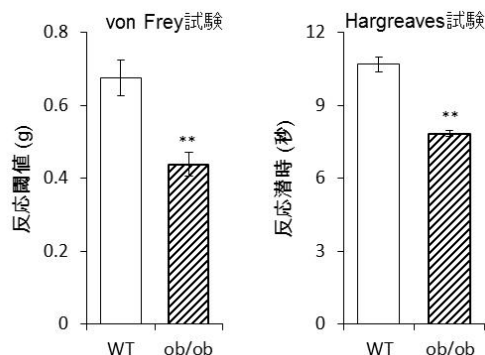


図 1 ob/ob マウス (11 週齢) は機械的および熱性痛覚過敏症状を示す。

ob/ob マウスの脊髄内 Ang (1-7) 産生系の機能低下が痛覚過敏の原因となっているのか否かを明らかにする為、Ang (1-7) を脊髄クモ膜下腔内投与し機械的および熱性痛覚過敏に対する効果を検討した。その結果、ob/ob マウスで認められる機械的および熱性痛覚過敏は、Ang (1-7) (3 pmol) の脊髄クモ膜下腔内投与 45 分後および 60 分後においてそれぞれ顕著に抑制された(図 2)。また、この抗痛覚過敏作用は Mas 受容体拮抗薬である A779 により消失した。したがって、ob/ob マウスは脊髄内 Ang (1-7) 産生系の機能低下に起因した機械的および熱性痛覚過敏症状を呈するが、脊髄クモ膜下腔内投与された Ang (1-7) は Mas 受容体を介して抗痛覚過敏作用を示すことが明らかとなった。

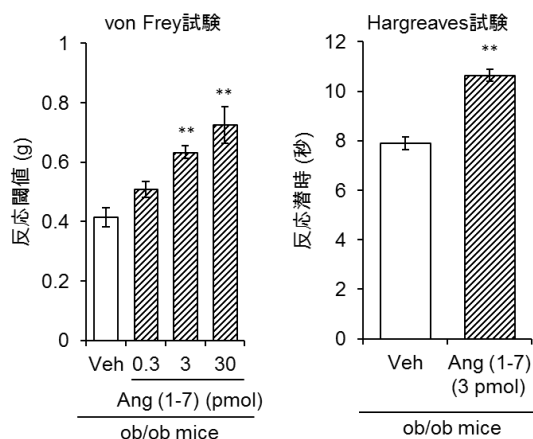


図 2 ob/ob マウスの機械的および熱性痛覚過敏に対する Ang (1-7) の効果。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Yamagata, R., Nemoto, W., Nakagawasai, O., Hung, W. Y., Shima, K., Endo, Y., and Tan-No, K. (2019) Etidronate attenuates tactile allodynia by spinal ATP release inhibition in mice with partial sciatic nerve ligation. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 392, 349-357. doi: 10.1007/s00210-018-1593-2. 査読有

Ogata, Y., Nemoto, W., Yamagata, R., Nakagawasai, O., Shimoyama, S., Furukawa, T., Ueno, S., and Tan-No, K. (2019) Anti-hypersensitive effect of angiotensin (1-7) on streptozotocin-induced diabetic neuropathic pain in mice. *Eur. J. Pain* 23, 739-749. doi: 10.1002/ejp.1341. 査読有

Nemoto, W. (2018) Behavioral and Molecular Pharmacological Study of the Role of Angiotensin II in Spinal Pain Transmission. *Yakugaku Zasshi* 138, 1235-1240. doi: 10.1248/yakushi.18-00124. 査読有

Nemoto, W., Yamada, K., Nakagawasai, O., Ogata, Y., Chiba, M., Yamagata, R., Sakurai, H., and Tan-No, K. (2018) Effect of repeated oral administration of chondroitin sulfate on neuropathic pain induced by partial sciatic nerve ligation in mice. *J. Pharmacol. Sci.* 137, 403-406. doi: 10.1016/j.jphs.2018.03.003. 査読有

Nemoto, W., Yamagata, R., Ogata, Y., Nakagawasai, O., Tadano, T., and Tan-No, K. (2017) Inhibitory effect of angiotensin (1-7) on angiotensin III-induced nociceptive behaviour in mice. *Neuropeptides* 65, 71-76. doi: 10.1016/j.npep.2017.05.002. 査読有

Ogata, Y., Nemoto, W., Nakagawasai, O., Yamagata, R., Tadano, T., and Tan-No, K. (2016) Involvement of spinal angiotensin II system in streptozotocin-induced diabetic neuropathic pain in mice. *Mol. Pharmacol.* 90, 205-213. doi:

10.1124/mol.116.104133. 査読有

Nemoto, W., Yamada, K., Ogata, Y., Nakagawasai, O., Onodera, K., Sakurai, H., and Tan-No, K. (2016) Chondroitin sulfate attenuates formalin-induced persistent tactile allodynia. *J. Pharmacol. Sci.* 131, 275-278. doi: 10.1016/j.jphs.2016.07.009. 査読有

[学会発表](計 14 件)

山縣涼太, 根本互, 小瀧佳輝, 中川西修, 丹野孝一: ストレプトゾトシン誘発性糖尿病性神経障害性疼痛に対する Angiotensin (1-7) の抑制効果. 日本薬学会第 139 年会 2019. 3. 20-23 千葉

根本互, 山縣涼太, 中川西修, 洪琬貽, 島和弘, 遠藤康男, 丹野孝一: 坐骨神経部分結紮マウスにおけるエチドロン酸の抗痛覚過敏作用について. 第 92 回日本薬理学会年会 2019. 3. 14-46 大阪

Wataru Nemoto, Yoshiki Ogata, Ryota Yamagata, Osamu Nakagawasai, Koichi Tan-No: Angiotensin (1-7) prevents streptozotocin-induced diabetic neuropathic pain in mice. 31th European College of Neuropsychopharmacology Congress 2018. 10. 6-9 Barcelona (Spain)

山縣涼太, 根本互, 中川西修, 丹野孝一: 2 型糖尿病モデルマウスにおけるアンジオテンシン (1-7) の抗痛覚過敏作用. 第 69 回日本薬理学会北部会 2018. 9. 21 富山

Ryota Yamagata, Wataru Nemoto, Yoshiki Ogata, Osamu Nakagawasai, Koichi Tan-No: Anti-allodynic effect of angiotensin (1-7) on streptozotocin-induced diabetic neuropathic pain. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 2018. 7. 1-6 Kyoto

Wataru Nemoto, Kotaro Yamada, Osamu Nakagawasai, Yoshiki Ogata, Hidetomo Sakurai, Koichi Tan-No: Inhibitory effect of repeated oral administration of chondroitin sulfate on the formalin-induced tactile allodynia in mice. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 2018. 7. 1-6 Kyoto

根本互, 山田耕太郎, 中川西修, 小瀧佳輝, 千葉聖斗, 山縣涼太, 櫻井英知, 丹野孝一: 神経障害性疼痛に対するコンドロイチン硫酸の抑制効果. 日本薬学会第 138 年会 2018. 3. 25-28 金沢

山縣涼太, 根本互, 小瀧佳輝, 中川西修, 丹野孝一: ストレプトゾトシン誘発性 1 型糖尿病マウスにおけるアンジオテンシン (1-7) の抗アロディニア作用. 第 68 回日本薬理学会北部会 2017. 9. 15-16 山形

山縣涼太, 根本互, 小瀧佳輝, 中川西修, 丹野孝一: 1 型糖尿病モデルマウスにおける神経障害性疼痛に対するアンジオテンシン (1-7) の抑制効果. 生体機能と創薬シンポジウム 2017. 8. 24-25 京都

山縣涼太, 根本互, 小瀧佳輝, 中川西修, 八百板富紀枝, 丹野孝一: 糖尿病性神経障害性疼痛に対するアンジオテンシン (1-7) の抑制効果. 平成 29 年度東北医科薬科大学創薬研究センターシンポジウム 2017. 6. 17 仙台

根本互, 小瀧佳輝, 山縣涼太, 中川西修, 八百板富紀枝, 丹野孝一: 脊髄 Angiotensin 系は糖尿病性神経障害性疼痛の治療標的になり得るか? 平成 29 年度東北医科薬科大学創薬研究センターシンポジウム 2017. 6. 17 仙台

小瀧佳輝, 根本互, 中川西修, 丹野孝一: アンジオテンシン (1-7) は糖尿病性神経障害性疼痛を抑制する. 第 90 回日本薬理学会年会 2017. 3. 15-17 長崎

根本互, 中川西修, 丹野孝一: アンジオテンシン III 誘発性侵害刺激行動に対するアンジオテンシン (1-7) の抑制作用について. 第 90 回日本薬理学会年会 2017. 3. 15-17 長崎

山縣涼太, 根本互, 小瀧佳輝, 中川西修, 八百板富紀枝, 丹野孝一: 1 型糖尿病モデルマウスの機械的アロディニアにおける脊髄内アンジオテンシン II 系の関与. 生体機能と創薬シンポジウム 2016 2016. 8. 25-26 仙台

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

東北医科薬科大学薬学部薬理学教室

<http://www.tohoku-mpu.ac.jp/laboratory/yakuri/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。