

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K09049

研究課題名(和文) 血中miRNA、cfDNAによる特発性慢性痛の客観的診断・評価ツールの作成

研究課題名(英文) Creation of objective diagnostic and evaluation tools for chronic primary pain by miRNA and cfDNA in blood

研究代表者

西江 宏行(nishie, hiroyuki)

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号：20379788

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：Chronic primary pain(CPP)のバイオマーカー(BM)を探索するためCPPと人工股関節置換術(THA)、健常群の3群について調査した。頭部MRIを利用したvoxel based morphometry(VBM)と採血でのmiRNAを解析した。cfDNAの解析は、サンプル量、リソースの問題で実施しなかった。VBMではTHA前後で左頭頂弁蓋が減少した。miRNAは11のmiRNAについてRT-PCRを行った。THA術前に発現量が低く、術後に増加したのがあった。これは侵害受容性痛のBMとなりうる。CPPの診断には、侵害受容性痛のBMを探索して除外診断とするのが合理的である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みの客観的評価は困難である。よって一次性慢性痛(CPP)と呼ばれる原因不明の痛みは、誰からも理解されず、患者には深刻な状態である。そこでCPPのバイオマーカーを探索した。比較対象として、明らかに侵害受容性痛が存在する人工股関節置換術(THA)を受ける患者を選択した。その結果、CPPは現段階の解析では明らかでないバイオマーカーが指摘できないが、THA群についてはバイオマーカーとなりえるmiRNAが存在する可能性があった。CPPの診断のために、そのmiRNAを測定することで、侵害受容性痛を否定して除外診断ができる可能性がある。また、THAを受ける患者でも手術適応判断を正確にできる。

研究成果の概要(英文)：Chronic primary pain (CPP) is pain with no identifiable cause. To explore biomarkers for CPP, we investigated three groups: CPP, total hip arthropathy (THA), and healthy subjects. We analyzed brain volume by voxel-based morphometry (VBM) using head MRI and micro RNA (miRNAs) from blood samples. Sample volume and resource issues prevented us from performing cell-free DNA analysis. The volume of the left parietal operculum was decreased before and after THA in VBM. We used RT-PCR to analyze for 11 miRNAs, some of which had low expression levels before THA surgery and increased postoperatively. This miRNA could be a biomarker for nociceptive pain because nociception causes the pain of hip osteoarthritis. No biomarkers for CPP have been noted in the analysis at this time. When diagnosing CPP, it is reasonable to look for biomarkers of nociceptive pain as a diagnosis of exclusion.

研究分野：慢性痛

キーワード：慢性痛 miRNA 侵害受容性痛 voxel based morphometry

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性痛 (Chronic pain) に苦しむ患者は日本では人口の 15.3%、1800 万人と試算されている。「痛み」は労働機会の損失、意欲の消失、生産性の低下に関与し、その社会経済的な影響はおおきい。「痛み」には、侵害受容性を中心とした急性痛と、多因子が複雑に関与して引き起こされる慢性痛の 2 つに大別される。慢性痛は急性痛よりも社会経済的影響が高いと考えられ、その原因の解明や治療法の開発が切望されている。慢性痛は現在 7 つに細分されており、その中でも痛みの原因が同定できない Chronic primary pain (CPP) は特に難治性であり診断も難しいとされる。CPP の問題点は、患者は、他人から痛みが理解されないことによる苦悩を持つ 治療法が難しい 客観的な診断法がない 病態が分かっていない、ことである。CPP の患者を「客観的」に評価する方法として普及しているのが脳画像検査である。Functional MRI、PET、SPECT、DTI など様々な方法が研究で用いられている。さらに、脳の形態変化が起こることが知られており、Voxel-based morphometry (VBM) の手法で MRI から脳体積を測定する方法が普及している。CPP 症例で灰白質容積に変化が見られることは多くの報告がある。CPP 患者では脳内ではエピジェネティックな変化を生じており、DNA メチル化やマイクロ RNA (miR) の発現に変化が見られる。これを捉えることが「客観的」な評価につながると考えている。

2. 研究の目的

VBM による脳容積、末梢血の血漿から得られる cfDNA、miRNA、臨床データの比較を行い CPP の診断と病勢評価に役立つツールを作成することである。

3. 研究の方法

当初は、CPP 患者と痛みのないコントロール群を比較対象とする予定であった。しかし、それだけでなく、「明らかに身体的な痛みを有する状態」を研究対象に加えた方がより明確な結果が出せるのではないかと考えた。変形股関節症の患者は人工股関節置換術を受けることで痛みが劇的に改善することが多い。そこで、変形股関節症患者で人工股関節置換術を受けた患者 (THA 群) を対象として加えることにした。

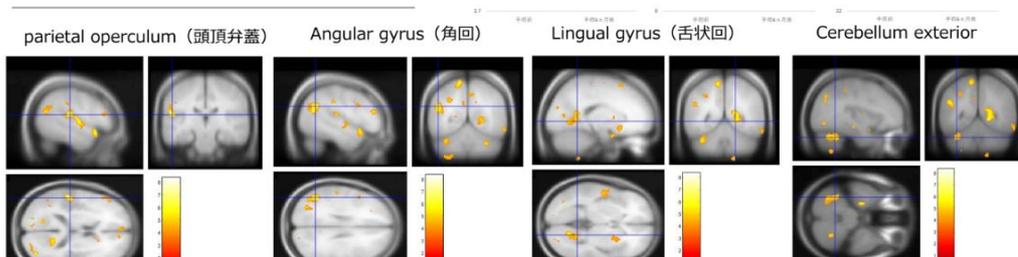
THA 群では手術前と手術から 6 か月後に採血と頭部 MRI を撮影した。CPP 患者では、認知行動療法 (CBT) を治療方法として、治療前と 6 か月後に採血と頭部 MRI を撮影した。コントロール群では採血と頭部 MRI 撮影を同時期に一回行った。

THA 群、CPP 群、コントロール群のそれぞれ、15 例ずつの予定で研究を開始した。

4. 研究成果

【VBM】

THA 群の手術前と手術後の比較で有意差が認められた。研究に参加した 15 例のうち、前後で撮影できたのが 14 例であった。その結果、頭頂弁蓋、角回、舌状回、Cerebellum exterior が術前と比べて術後に縮小していた。それ以外の、CPP 群、コントロール群では明らかな差は認められなかった。



Region	Left/ Right	P-value for cluster *	Volume of cluster	Peak MNI coordinates	Peak T- value
Pre THR > post THR					
parietal operculum (頭頂弁蓋)	L	0.000	1413	-52 -26 15	8.34
Angular gyrus (角回)	L	0.000	1616	-48 -58 27	7.14
Lingual gyrus (舌状回)	R	0.001	975	18 -52 0	6.19
Cerebellum exterior	L	0.004	767	-36 -54 -32	5.47

*FWE corrected at cluster level

【miRNA】

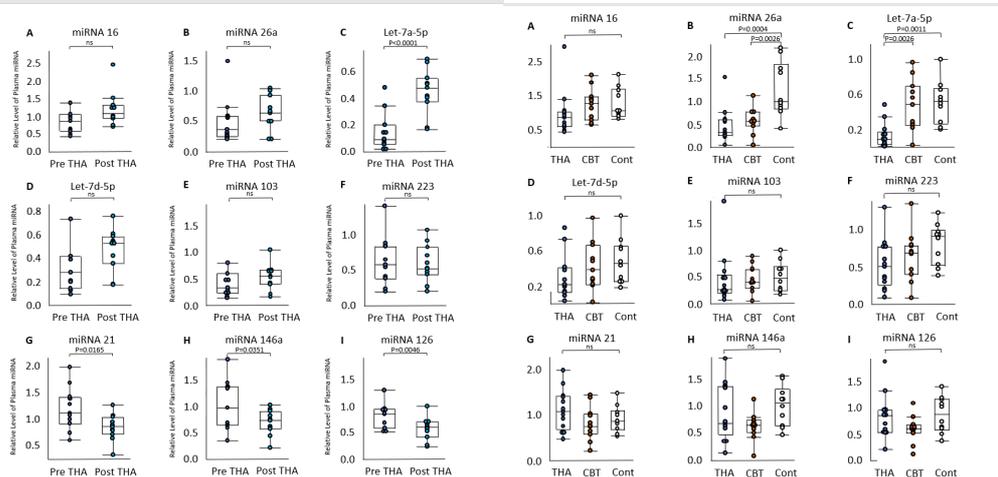
2000種類以上存在するmiRNAの中から候補を探索するため、東レ株式会社にTHA群の術前2例、術後2例、CPP群のCBT前2例、CPP群のCBT後の2例の合計8検体を提出してマイクロアレイを行った。変動が大きい以下の6つのうち、has-miR-6885-5pとhas-let-7c-5pを除外して、残りの4つを候補とした。その他文献から、7つのmiRNAを選択し、合計11のmiRNAについて研究した。

Table 6
Candidate screening by RT-PCR on microarrays

	CPP pre/ THA pre	THA pre/ THA post
hsa-miR-16-5p	3.24	
hsa-miR-26a-5p	2.62	
hsa-miR-6885-5p	0.50	
hsa-let-7a-5p	3.53	0.43
hsa-let-7c-5p	2.56	
hsa-let-7d-5p	3.45	0.48

CPP pre: Patients with chronic primary pain, prior to receiving cognitive behavioral therapy
 THA pre: Patients with hip osteoarthritis, prior to total hip arthroplasty
 THA post: Patients with hip osteoarthritis, after receiving total hip arthroplasty

miRNA 測定結果



THA群の術前、CBT群のCBT前、コントロール群の3群で比較したところ、let-7a-5pがTHA群で有意に低下していた。let-7a-5pは術後には発現が増加した。このことから、let-7a-5pは変形性股関節症の痛みがある状態では発現が低下し、治療後に痛みが軽快すると、増加することが視された。

現時点での解析では CPP 群で説明できる変化はないが、外れ値があるため、再度検討しなおす予定である。

この結果から、let-7a-5p は変形性股関節症の痛みを測定するバイオマーカーとなる可能性がある。このバイオマーカーがあれば、変形性股関節症の手術適応についての一つの参考になる可能性がある。

当初の目的であった CPP のバイオマーカーは現時点では同定できていない。しかし、身体的な痛みを測定するバイオマーカーについては発見できる可能性がわかったため、これらを測定することで除外診断として CPP の診断に役立つ可能性はある。

なお予定していた cfDNA の測定は、miRNA の測定をやり直したことにより、サンプル量や研究リソースの問題で実施なかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西江 宏行 , 作田 由香 , 中塚 秀輝
2. 発表標題 変形性股関節症患者でのVBMによる脳の形態の変化
3. 学会等名 日本麻酔科学会第69回学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永坂 岳司 (Nagasaka Takeshi) (30452569)	川崎医科大学・医学部・准教授 (35303)	
研究分担者	中塚 秀輝 (Nakatsuka Hideki) (70263580)	川崎医科大学・医学部・教授 (35303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------