

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K19704

研究課題名（和文）アレスチンと痛覚受容体の機能連関に注目した新たな慢性痛発症メカニズムの解析

研究課題名（英文）Analysis of arrestin and nociceptor coupling as a mechanism for the chronic pain development

研究代表者

天谷 文昌（Amaya, Fumimasa）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：60347466

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：Arrestinが機能する際に重要な役割を果たすGRK2の知覚神経における発現と機能を解析した。GRK2の発現をウェスタンブロットリングと免疫組織化学法で解析し、後根神経節におけるGRK2陽性ニューロンを可視化した。術後痛モデルの回復期にGRK2の発現が増加していること、術後痛モデル作成後回復期にGRK2阻害剤を投与すると、回復した痛覚閾値が再び低下する現象を明らかにした。術後痛モデルにおいて足底組織で合成されたIGF1がGRK2の発現を増加させることが明らかにした。網羅的リン酸化タンパク解析により、術後痛モデルにおいてアレスチン-GRK2によりリン酸化を受ける分子群を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性痛は罹患者数が多く、患者のQOLを低下させる。本研究は、アレスチン-GRK2の機能に注目し解析することで新しい慢性痛治療法を提案することを目的として行われた。術後痛モデルにおいて急性痛が消退する時期にGRK2の発現が増加し、GRK2を阻害することで痛みが慢性化した。GRK2の発現はIGF1により制御されることが示された。このことから、GRK2の機能不全が痛みの慢性化に大きく関わる可能性が示され、アレスチン-GRK2を標的とする疼痛治療の可能性を提案することができた。また、網羅的に同定されたリン酸化タンパク群の機能解析を今後実施し、新しい疼痛治療法確立のきっかけを提案することができた。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the expression and function of GRK2, which plays an important role in the function of Arrestin, in sensory nerves, using Western blotting and immunohistochemistry to visualize GRK2-positive neurons in dorsal root ganglia. We found that the expression of GRK2 increased during the recovery period of the postoperative pain model, and that the restored pain threshold was lowered again when GRK2 inhibitor was administered. In the postoperative pain model, we found that IGF1 synthesized in plantar tissues increased the expression of GRK2. Comprehensive phosphoproteomic analysis revealed a group of molecules that are phosphorylated by arrestin-GRK2 in the postoperative pain model.

研究分野：疼痛治療学

キーワード：アレスチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性痛が発生する機序として、末梢神経における痛覚受容体の過剰な興奮による痛覚過敏が関与することが知られている。慢性痛モデルにおいて、痛覚受容体の機能異常が生じる事が報告されているが、どのようなメカニズムにより機能が破綻するのか、その本態は不明であった。

痛覚受容体の多くはGタンパク共役型受容体に属する。Gタンパク共役受容体はアレスチンと呼ばれるタンパクと結合して機能制御をうけることが知られている。アレスチンと結合した受容体はGタンパクのシグナル伝達が阻害され、正常な情報伝達が行われなくなる。アレスチンの受容体への結合はG-protein coupled receptor kinase (GRK2)による受容体のリン酸化により制御を受ける。すなわち、正常時にはアレスチン-GRK2シグナリングにより、痛覚受容体の機能が適正に制御される。

慢性痛状態ではアレスチン-GRK2シグナリングが破綻し痛覚受容体の機能異常が生じる可能性が示唆されるが、慢性痛状態におけるアレスチン-GRK2シグナリングの詳細な解明はまだ行われていない。

2. 研究の目的

術後痛モデル回復期においては、痛覚閾値が正常化しているにもかかわらず、ある種の刺激により疼痛が再燃し、慢性化する現象が認められる(痛覚ブライミング現象)。本研究では、術後痛モデル回復期におけるアレスチン-GRK2シグナリングの機能を調査して、その機能変化により痛覚伝達が過剰となることが痛覚過敏を惹起し慢性痛の原因となる可能性を調査した。

3. 研究の方法

(1)術後痛モデルの作成

術後痛モデルとしてラット足底切開モデルを作成した。行動解析を行い、機械刺激に対し逃避反応を示す閾値と熱刺激に対し逃避反応を示すまでの潜時を測定、痛覚閾値を決定した。

(2)一次知覚神経におけるGRK2の発現

GRK2の発現を免疫組織化学法で可視化し、ウェスタンブロッティング法、PCR法、免疫組織化学法により、後根神経節におけるGRK2発現量を定量した。

(3)GRK2阻害剤の投与

GRK2の機能を評価するため、術後痛モデル回復期のラットにGRK2阻害剤を投与し行動解析を行った。

(4)GRK2発現変化におけるIGF1の関与

IGF1受容体阻害剤を投与し、GRK2の発現変化を観察すると共に行動解析により痛覚過敏の変化を明らかにした。足底組織のIGFを定量するとともに、ラット足底にIGFを投与しGRK2発現変化を免疫組織化学法とウェスタンブロッティング法で調査した。

(5)リン酸化タンパクの網羅的解析

後根神経節を採取しタンパクを抽出、二次元電気泳動を行った上でリン酸化タンパクだけが識別される色素により、リン酸化タンパクを定量し、発現変化の大きかった分子について質量分析により分子名の同定を行った。

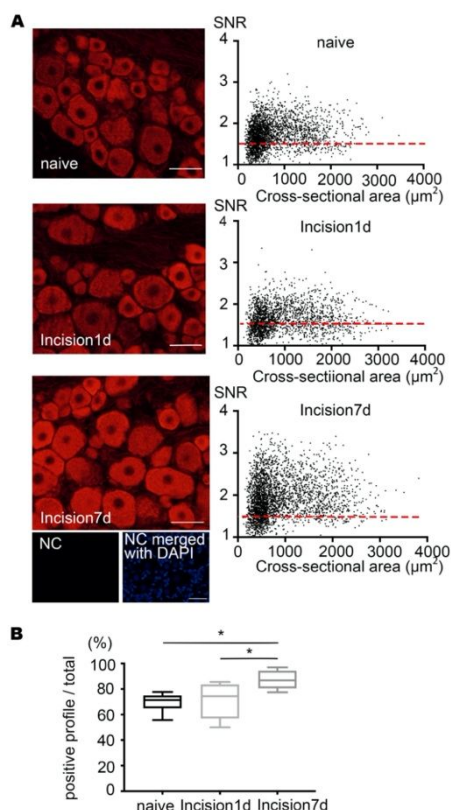
4. 研究成果

(1)術後痛モデルの作成

術後痛モデルにおいてモデル作成後から1週間持続する痛覚閾値の低下を観察し、急性期痛覚過敏を確認するとともに、1週間後には痛覚過敏が消退し、回復期となることを確認した。

(2)一次知覚神経におけるGRK2の発現

免疫組織化学法により、一次知覚神経の細胞体が集積する後根神経節の神経細胞に発現することを確認した。ウェスタンブロッティングと免疫組織化学法では足底切開7日目にDRGにおけるGRK2発現が増加している事が観察された。PCRによるGRK2 mRNA発



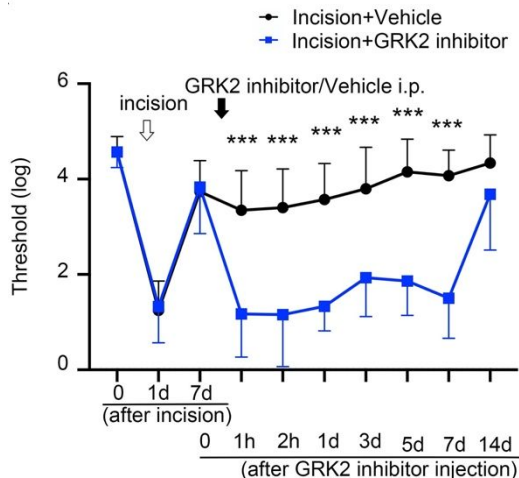
現は不変であった。

(3) GRK2 阻害剤の投与

GRK2 阻害剤を術後7日目のモデルラットに投与したところ、回復していた痛覚閾値が再び低下し術後痛覚過敏が再燃した。再燃した痛覚過敏は1ヶ月以上持続し、慢性化することが確認された。

(4)ラット術後痛モデルに IGF 阻害剤を投与すると、急性期痛覚過敏の持続期間が延長し、急性痛の消退が遅延した。後根神経節におけるGRK2 の発現増加は IGF 阻害剤により抑制された。切開後の足底組織では IGF の発現量は増量し、IGF の投与により後根神経節における GRK2 発現は増加した。

(5)術後痛モデルに GRK2 阻害剤を投与したラットと阻害剤を投与しないラットで網羅的解析を行い、多数のタンパク分子のリン酸化の程度が変動する事を明らかにした。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Shimizu Masaru, Amaya Fumimasa, Kinoshita Mao, Yamasaki Masaki, Yokota Isao, Sawa Teiji	4. 巻 14
2. 論文標題 Reduction of the rocuronium-induced withdrawal reflex by MR13A10A, a generic rocuronium with a novel solution: A randomized, controlled study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0223947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0223947	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsuoka Yutaka, Yamashita Ayahiro, Matsuda Megumi, Kawai Kenshiro, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 160
2. 論文標題 NLRP2 inflammasome in dorsal root ganglion as a novel molecular platform that produces inflammatory pain hypersensitivity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PAIN	6. 最初と最後の頁 2149 ~ 2160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/j.pain.0000000000001611	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamashita Ayahiro, Matsuoka Yutaka, Matsuda Megumi, Kawai Kenshiro, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 416
2. 論文標題 Dysregulation of p53 and Parkin Induce Mitochondrial Dysfunction and Leads to the Diabetic Neuropathic Pain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 9 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2019.07.045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsuda Megumi, Takemura Hitomi, Yamashita Ayahiro, Matsuoka Yutaka, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 63
2. 論文標題 Post surgical chronic pain and quality of life in children operated for congenital heart disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Anaesthesiologica Scandinavica	6. 最初と最後の頁 745 ~ 750
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aas.13346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Yosuke, Oh-hashii Kentaro, Matsuoka Yutaka, Takemura Hitomi, Yamakita Shunsuke, Matsuda Megumi, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 394
2. 論文標題 Endoplasmic Reticulum Stress in the Dorsal Root Ganglion Contributes to the Development of Pain Hypersensitivity after Nerve Injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 288 ~ 299
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2018.08.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Amaya Fumimasa	4. 巻 32
2. 論文標題 A good beginning makes a good ending: association between acute pain trajectory and chronic postsurgical pain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 789 ~ 791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-018-2570-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okamoto Akiko, Yamasaki Masaki, Yokota Isao, Mori Maiko, Matsuda Megumi, Yamaguchi Yosuke, Yamakita Shunsuke, Ueno Hiroshi, Sawa Teiji, Taguchi Tetsuya, Hosokawa Toyoshi, Amaya Fumimasa	4. 巻 Volume 11
2. 論文標題 Classification of acute pain trajectory after breast cancer surgery identifies patients at risk for persistent pain: a prospective observational study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pain Research	6. 最初と最後の頁 2197 ~ 2206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/JPR.S171680	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Norisada Junpei, Fujimura Keito, Amaya Fumimasa, Kohno Hiroki, Hirata Yoko, Oh-hashii Kentaro	4. 巻 60
2. 論文標題 Application of NanoBiT for Monitoring Dimerization of the Null Hong Kong Variant of α -1-Antitrypsin, NHK, in Living Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Biotechnology	6. 最初と最後の頁 539 ~ 549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12033-018-0092-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamakita Shunsuke, Horii Yasuhiko, Takemura Hitomi, Matsuoka Yutaka, Yamashita Ayahiro, Yamaguchi Yosuke, Matsuda Megumi, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 14
2. 論文標題 Synergistic activation of ERK1/2 between A-fiber neurons and glial cells in the DRG contributes to pain hypersensitivity after tissue injury	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Pain	6. 最初と最後の頁 1-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1744806918767508	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugiyama Yoko, Iida Hiroki, Amaya Fumimasa, Matsuo Kanako, Matsuoka Yutaka, Kojima Keiko, Matsuno Fumitaka, Hamaguchi Takayuki, Iseki Masako, Yamaguchi Keisuke, Takahashi Yoshika, Hara Atsuko, Sugasawa Yusuke, Kawamata Mikito, Tanaka Satoshi, Inagaki Yoshimi, Otsuki Akihiro, Yamazaki Mitsuaki, Ito Hisakatsu	4. 巻 32
2. 論文標題 Prevalence of chronic postsurgical pain after thoracotomy and total knee arthroplasty: a retrospective multicenter study in Japan (Japanese Study Group of Subacute Postoperative Pain)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 434 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-018-2481-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 天谷文昌
2. 発表標題 痛みとミトコンドリア
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 天谷文昌
2. 発表標題 術後痛治療におけるシステムティックレビューの実践
3. 学会等名 日本区域麻酔学会第6回学術集会(招待講演)
4. 発表年 2019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	中川 貴之 (Nakagawa Takayuki) (30303845)	京都大学・医学研究科・准教授 (14301)	
研究 分担者	大橋 憲太郎 (Oh-hashii Kentaro) (50332953)	岐阜大学・工学部・准教授 (13701)	

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
---------	---------