

令和 5 年 10 月 26 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16500

研究課題名（和文）神経組織特異的に蛍光タンパク発現マウスを用いたがん性疼痛の発生メカニズムの研究

研究課題名（英文）Study of the mechanism of cancer pain in nerve tissue-specific fluorescent protein-expressing mice

研究代表者

中尾 謙太（NAKAO, KENTA）

大阪医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：50815719

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は神経組織特異的に蛍光タンパクを発現するthy1-YFPマウスでがんの骨転移モデルを作製し、がん組織に分布する神経線維の発芽と神経腫の形成における神経栄養因子の関与、MMP-9をはじめとする遺伝子のがん組織、後根神経節と脊髄における発現、がん性疼痛の発症メカニズムを明らかにすることを目的とする。がん組織で遊離される神経栄養因子が一次求心性線維を逆行性軸索輸送される点に着目し、坐骨神経を切断してその輸送を中断して、神経栄養因子の作用部位をがん組織か後根神経節かを明らかにし、末梢組織からは複数の神経栄養因子が遊離されるため、それらの抗体を投与することにより関与する神経栄養因子を同定する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、神経栄養因子（NGF）をはじめとする神経栄養因子の遺伝子の発現や形態学的変化に及ぼす影響に焦点を当て、がん性疼痛の発症メカニズムの解明を目的とし、本研究成果はがん患者のQOLの向上につながる事が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to generate a bone metastasis model of cancer in thy1-YFP mice that specifically express fluorescent proteins in neural tissues, and to clarify the involvement of neurotrophic factors in the germination of nerve fibers distributed in cancer tissues and the formation of neuromas, the expression of genes such as MMP-9 in cancer tissue, dorsal root ganglion and spinal cord, and the pathogenesis of cancer pain. Focusing on the point that neurotrophic factors released in cancer tissues are retrograde axonal transport of primary afferent fibers, the sciatic nerve is cut and the transport is interrupted, and the site of action of the neurotrophic factor is cancer tissue or dorsal root ganglion.

研究分野：がん性疼痛

キーワード：がん性疼痛 神経栄養因子 thy1-YFPマウス 蛍光タンパク 坐骨神経切断マウス 骨転移がんモデル

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因のトップはがんで、医療の進歩によりがん患者の予後は格段に良くなっているが、多くのがんは多発性に骨転移をして体動時痛や制御が困難な突発痛ががん患者の生活の質を低下させる。体動時痛や突発痛は末梢神経の発芽や神経腫の形成によりがん性疼痛が誘発されることから、骨転移によるがん性疼痛はこれまで考えられてきた侵害受容性疼痛よりは神経障害性疼痛と考えられる。本研究では、神経組織特異的に蛍光タンパクを発現する thy1-YFP マウスを用いて骨転移がんモデルを作製し、がん組織における末梢神経の発芽や神経腫形成を可視化する点に学術的独自性があり、薬物や抗体を投与できる坐骨神経切断モデルを確立した点に創造性がある。

2. 研究の目的

本研究は、神経栄養因子 (NGF) をはじめとする神経栄養因子の遺伝子の発現や形態学的変化に及ぼす影響に焦点を当て、がん性疼痛の発症メカニズムの解明を目的とし、本研究成果はがん患者の QOL の向上につながることを期待できる。

3. 研究の方法

(1) がん性疼痛モデルの作製と骨組織への神経分布

骨の転移がんモデルには乳がん細胞株 4T1 を脛骨の骨髓腔内に注入し、がんの骨転移モデルを作製する。腫瘍の大きさを X 線で測定すると同時に疼痛閾値を DBW 装置で経日変化を追跡する。

骨組織における腫瘍形成の初期、中期 (増大期)、後期 (崩壊期) で主に有髄神経に強く蛍光タンパクを発現する thy1-YFP マウスで末梢神経の発現の増加、有髄神経と無髄神経に発現するタンパクの免疫染色と IB4 の染色で神経線維の種類と分布の変化を調べる。

(2) がん性疼痛における神経栄養因子の役割

末梢組織で分泌される NGF、BDNF、GDNF などの神経栄養因子は軸索の逆行性輸送により、後根神経節の感覚ニューロンで、それらの受容体を発現する細胞体に作用し、ニューロンの生存や神経突起の増大に作用する。

骨の転移がんモデルの腫瘍形成過程における骨組織での NGF、BDNF、GDNF などの神経栄養因子の遺伝子の発現の変化を RT-PCR で、がん組織に遊離される因子の種類と量を酵素免疫測定法で調べる。

神経栄養因子を遊離する細胞ががん細胞なのか、がん組織に浸潤したマクロファージやリンパ球などの間質細胞なのかセルソーターや免疫染色で同定する。がん組織、後根神経節と脊髄での神経栄養因子の受容体、MMP-9、CGRP を含むがん性疼痛に関連する遺伝子発現の変化を RT-PCR で調べる。

(3) 神経栄養因子の作用部位の同定

がん組織において、感覚神経の発芽が見られたときに、がん組織から遊離される神経栄養因子が直接がん組織に作用しているのか、逆行性輸送された後根神経節あるいは脊髄で作用しているのか、坐骨神経切断モデルを用いてがん組織、後根神経節と脊髄での遺伝子の発現の変化とがん組織の末梢神経の分布の変化を解析して、作用部位を明らかにする。

(4) がん性疼痛における神経栄養因子の同定

がん組織の末梢神経の分布の変化における神経栄養因子を明らかにするために、シリコンチューブ内に、神経栄養因子の抗体を注入し、がん性疼痛の鎮痛効果を検討する。さらにがん組織と後根神経節での遺伝子発現に及ぼす影響からがん性疼痛に関与する分子を同定する。

4. 研究成果

坐骨神経切断モデルマウスを一定の正確さで完成させることが困難であり、実験モデル作成に時間がかかりすぎるといった困難がある。また、がん性疼痛モデルマウスの寿命が短くすぎるため、神経切断を行っているマウスでは神経の再生

より先に寿命がきてしまい、痛みの行動評価を正確に行えなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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