

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16609

研究課題名（和文）末梢神経障害性疼痛におけるバソプレッシン受容体（AVPR1A）のメカニズムの解明

研究課題名（英文）Identification of mechanisms of arginine vasopressin receptor 1A in peripheral neuropathic pain

研究代表者

平井 高志（Hirai, Takashi）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師

研究者番号：40510350

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）：数種類の神経障害性疼痛モデルを後根神経節に焦点を当て、マイクロアレイにより解析し発現増加をしていた遺伝子を確認した。AVPR1aが神経損傷後3週で2.3倍、6種で1.6倍と有意に上昇していた。AVPR1aの全身ノックアウトマウスを作成し行動解析、またAVPR1aのアゴニストアンタゴニストを使用し疼痛の変化を検証した結果、AVPR1aは神経障害性疼痛に対して保護作用があることが初めて分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AVPR1aバソプレッシンレセプターであり、今まで炎症性疼痛に関与していることが報告されてきた。しかし神経障害性疼痛のメカニズムとの関連を調査した報告はなく今回初めてである。ノックアウトマウスの行動解析とAVPR1aのアゴニストアンタゴニスト投与による実験の結果から、慢性疼痛の今後の治療薬の標的遺伝子候補として期待される。

研究成果の概要（英文）：Using microarray analysis, we examined dorsal root ganglia gene expression using several neuropathic pain models and found as many as 50 upregulated genes and 20 downregulated genes. Out of these genes that upregulated in neuropathic pain state, we focused on arginine vasopressin receptor 1A created (Avpr1A) mice deficient, and analysis of their behavior revealed that AVPR1A has a protective action against neuropathic pain.

研究分野：疼痛

キーワード：AVPR1a 神経障害性疼痛 ノックアウトマウス アゴニスト アンタゴニスト

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究では**絞扼性末梢神経障害動物実験モデルを用いて、疼痛部位に関連する末梢神経に発現するアルギニン・バソプレッシンレセプター1A(AVPR1A)に着目する。**このAVPR1Aは炎症性疼痛モデルでは発現が増加し、痛みの緩和に寄与していることが分かっているが、現在までに**神経障害性疼痛との関与を調べた研究はまだなく、その発症メカニズムを探索し、新たな治療法に結び付けることが期待される。**そこで我々は、**先行研究で神経障害性疼痛モデルにおいてAVPR1A mRNAが損傷神経の細胞体で発現が有意に増加することをマイクロアレイで突き止めた。**本研究の目的は神経障害性疼痛モデルにおいて、AVPR1Aが疼痛に対して保護作用を担っているかを十分に検証するためノックアウトマウスを含めた動物モデルを用いて評価を行い、新規治療の標的として有用であるかを検討することである。

2. 研究の目的

AVPR1Aと**神経障害性疼痛との関連を詳細に調べた研究は現在までほとんど無い。**本研究は、マウスSNIモデルを作成し、DRGにおけるAVPR1AmRNAおよびタンパクの発現量を詳細に調査し、関連するホルモンであるバソプレッシンとオキシトシンの血中濃度を調査する。さらに神経障害性疼痛に対する治療としてAVPR1Aの選択的アゴニストであるセレプレッシンを用いて神経障害性疼痛モデルの治療効果を行動解析と分子生物学的解析により詳細に検討する。またAVPR1Aノックアウトマウスを用いてSNIモデルを作成し、**AVPR1Aが神経障害性疼痛にどの程度影響を及ぼしているかを詳細に検証する**予定である。

3. 研究の方法

マウス神経障害性疼痛モデルAVPR1Aの神経細胞体および軸索での発現の検証

Wild typeマウスを用いて、下肢知覚過敏モデルはWoolfら(Pain 2000)によって確立されたSNIモデルを作成する。SNIモデル作成後に坐骨神経を支配するL4およびL5DRGのAVPR1AのmRNAおよびタンパク量をPCRとウエスタンブロットで定量し、先行研究のマイクロアレイの結果と整合するかを確認する。継続的な痛みの程度をアセトン・熱刺激・von Freyテストによる行動解析で調査し、体重・体温・食欲などの基礎データも同時に収集する予定である。

AVPR1Aアゴニスト・アンタゴニストを用いた神経障害性疼痛の治療効果の検証

AVPR1Aの選択的アゴニストであるセレプレッシンは敗血性ショックに対して血圧維持の効果が示された(Russellら、Crit. Care 2017)が、神経障害性疼痛に対する効果は今のところ報告はない。本研究では、**SNIモデルに対してセレプレッシンの投与を行い、神経障害性疼痛の行動解析を行うことで治療効果を検証する。**また逆に選択的アンタゴニストの投与により神経障害性疼痛が増悪するか同時に調査する予定である。

AVPR1Aノックアウトマウスを用いた神経障害性疼痛モデルの検証

AVPR1Aノックアウトマウスを使用し、**SNIモデルを作成する。**なおノックアウトマウスは熊本大学生命資源研究・支援センターより受精卵を譲渡し、東京医科歯科大学動物飼育施設で繁殖し系統を維持する予定である。経時的な痛みの程度を行動解析と同時に基礎データも収集する。この実験と同様にバソプレッシン・オキシトシンの血中濃度も調査する。

4. 研究成果

今回我々は数種類の神経障害性疼痛モデルを後根神経節(DRG)に焦点を当て、疾患マウスを作成しそれぞれのDRGを検体として採取した。マイクロアレイにより疾患独自に遺伝子発現が変化したものをとらえ、特定の遺伝子を確認した。そのうち腓腹神経を温存したspared nerve injury(SNI)モデルにおいて、AVPR1aが神経損傷後3週で

2.3倍、6種で1.6倍と特異的に有意に上昇していたことを突き止めた。さらに脊髄後角部でも神経障害後に発現増加していることも確かめられた。AVPR1aはバソプレッシン受容体であり、全身に発現しており、炎症性疼痛と強く関与していることが知られている。このAVPR1aの全身ノックアウトマウスを作成しSNIの疼痛行動解析を行ったところ、明らかな疼痛回避行動は見られなかった。その一方でAVPR1aのアゴニストアンタゴニストを使用し疼痛の変化を検証した結果、AVPR1aは神経障害性疼痛に対して保護作用があることが初めて分かった。AVPR1aと神経障害性疼痛のメカニズムとの関連を調査した報告はなく今回初めてである。ノックアウトマウスの行動解析とAVPR1aのアゴニストアンタゴニスト投与による実験の結果から、慢性疼痛の今後の治療薬の標的遺伝子候補として期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 平井高志 榎本 光弘 鍋木 秀俊 横山 裕之 永田 哲也 横田 隆徳 大川 淳	4. 巻 9(6)
2. 論文標題 神経障害性疼痛のメカニズム探索と分子標的による新規治療戦略	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Spine Research	6. 最初と最後の頁 1022-1030
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横山 裕之, 平井 高志, 榎本 光裕, 永田 哲也, 横田 隆徳, 大川 淳
2. 発表標題 DNAマイクロアレイを用いた神経障害性疼痛関連分子の調査
3. 学会等名 第33回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京医科歯科大学整形外科 https://tmdu-orth.jp/

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