

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：13601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22999

研究課題名（和文）遷延性術後痛における、CGRP-RAMP1系の病態生理学的意義の解明と応用展開

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiological significance of the CGRP-RAMP1 system in protracted postoperative pain and development of its application

研究代表者

松井 周平（Matsui, Shuhei）

信州大学・医学部附属病院・助教（診療）

研究者番号：10770977

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究により、遷延性術後痛は術前に存在した炎症に影響されることが明らかになった。また、CGRPの欠損は遷延性術後痛を悪化させることが明らかになった。CGRPの欠損は遷延性術後痛の母地となる炎症状態に影響を与えている可能性がある。CGRPの欠損が痛覚ブライミングに与える影響については、マクロファージやアストロサイトなどを介した末梢性機序や中枢性機序が予測されるが、今回の研究内では明らかにすることができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遷延性術後痛は母地となる炎症がその発生に重要な役割を果たしている可能性がある。抗炎症作用のあるカルシトニン遺伝子関連ペプチドは遷延性術後痛に影響を与える可能性がある。CGRPをターゲットにした遷延性術後痛治療戦略に寄与しうる。

研究成果の概要（英文）：The study revealed that protracted postoperative pain is affected by preoperative inflammation. It was also found that the deficiency of CGRP exacerbates protracted postoperative pain. Deficiency of CGRP may be affecting the inflammatory state that is the mother of protracted postoperative pain. The effects of CGRP deficiency on pain priming are predicted to be peripheral and central mechanisms via macrophages and astrocytes, but this study has not been clarified.

研究分野：麻酔科学

キーワード：遷延性術後痛 痛覚ブライミング 炎症 カラギーナン 足底切開 痛覚過敏

1. 研究開始当初の背景

術後に強い痛みが長期間持続してしまう遷延性術後痛は、本邦で年間 10 万人以上発症する頻度の高い病態であり、患者の QOL を損失する深刻な手術合併症であるが、詳細な発症メカニズムは未解明である。近年、炎症に伴う神経の病的変化によって疼痛感受性が亢進した病変に対して、さらに手術侵襲を加えると、神経損傷がなくても遷延性術後痛が発症する現象（痛覚プライミング）が報告された。カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）は主に一次感覚神経の自由神経終末から放出される神経ペプチドであり、全身に広く分布する。組織障害部位に放出される CGRP は強力な抗炎症作用を示すため、炎症により惹起される痛覚プライミングを抑制し、遷延性術後痛を改善する可能性がある。

本研究では、CGRP、および CGRP の受容体活性調節タンパク（RAMP1）のノックアウトマウスを用い、CGRP-RAMP1 システムの遷延性術後痛における病態生理学的意義を解明する。研究成果により、遷延性術後痛に対する治療法開発への展開が期待される。

遷延性術後痛と痛覚プライミング

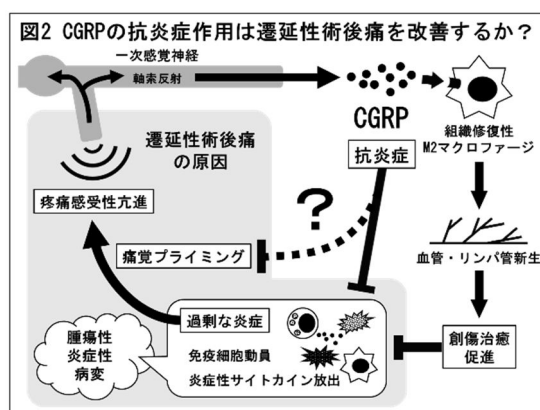
手術侵襲により組織が損傷すると疼痛が発生する。創傷治癒と共に疼痛は減弱消失するが、全体の 10～50% の症例では術後に強い痛みが長期間継続する。これは遷延性術後痛と呼ばれ、本邦では年間 10 万人以上が発症している。しかしながら遷延性術後痛の治療法や予防法は未確立であり、詳細な発症メカニズムの解明や効果的な治療薬の開発は急務である。近年、手術を要する腫瘍性・炎症性病変では、炎症に伴う神経の病的変化により疼痛感受性が亢進することが明らかになり、一次感覚神経の痛覚プライミングと呼ばれている（Mantyh WG et al. 2010, Lai BQ et al. 2015）。疼痛プライミングが生じた病変に侵襲を加えると、神経損傷がなくても遷延性術後痛が生じることが注目を集めている（Matsuda M et al. 2016）。

CGRP の抗炎症・組織修復作用

組織障害によって末梢神経の侵害受容器が刺激されると一次感覚神経に疼痛シグナルが発生する。疼痛シグナルは脊髄後角から高位中枢へ伝達されると同時に、軸索反射により軸索分岐部から逆行性にも伝達される。その結果、一次感覚神経の自由神経終末からカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）が放出される。軸索反射によって放出された CGRP は、組織障害部位の過剰な炎症を抑制し、血管・リンパ管新生を誘導して創傷治癒を促進する（Kurashige C et al. 2014, Mishima T et al. 2017）。最近われわれは、M2 マクロファージが CGRP によって動員され、組織修復に重要な役割を果たすことを報告した（Matsui S et al. 2019）。CGRP ノックアウトマウス（CGRP-/-）では、M2 マクロファージの動員障害があり、これに伴うリンパ管新生の抑制により、術後リンパ浮腫が増悪した。

CGRP の疼痛への関与

痛みの研究領域では、一次感覚神経から脊髄後角に放出される CGRP の疼痛シグナル伝達増強作用が検討されてきたが、最近、脊髄後角において強い作用はないことが報告された（Russell FA et al. 2014）。われわれのグループの先行研究においても、脊髄後角の CGRP は、足底切開モデルの術後痛に関与しないという結果が得られた（Ishida K et al. 2014）。しかし一方で、組織障害部位に放出される CGRP が、疼痛に対してどのように影響するのかは未解明である。CGRP は組織障害部位において強力な抗炎症作用を示すため、炎症性サイトカインや疼痛物質の産生を抑制し、疼痛に対して抑制的に作用する可能性を考えた。“CGRP の強力な抗炎症作用によって、炎症を基盤として生じる一次感覚神経の疼痛プライミングが抑制され、遷延性術後痛が改善するのではないかと考えた（図 2）。



2. 研究の目的

本研究の目的は、CGRP の遷延性術後痛に対する病態生理学的意義を解明し、新たな治療法に展開することである。

3. 研究の方法

遷延性術後痛モデルにおける創傷治癒と痛覚過敏に対する、CGRP-RAMP1 系の意義の検討

CGRP ノックアウト (CGRP-/-) マウスおよび CGRP 受容体活性調節タンパク (RAMP1) のノックアウト (RAMP1-/-) マウスを用いる。これらのマウスは協力研究室である信州大学医学部循環病態学教室 (新藤隆行教授) によって樹立されている。

遷延性術後痛モデルは、マウスの後肢に PGE2 を足底投与した後、Brennan の足底切開を施すことによって作製する。術後の後肢径の変化、炎症、組織治癒過程などを評価する。

痛みの行動分析 (自発痛、機械性・熱性痛覚過敏) を行う。

遷延性術後痛モデルの創部と脊髄後根神経節 (DRG) における遺伝子、タンパク発現解析

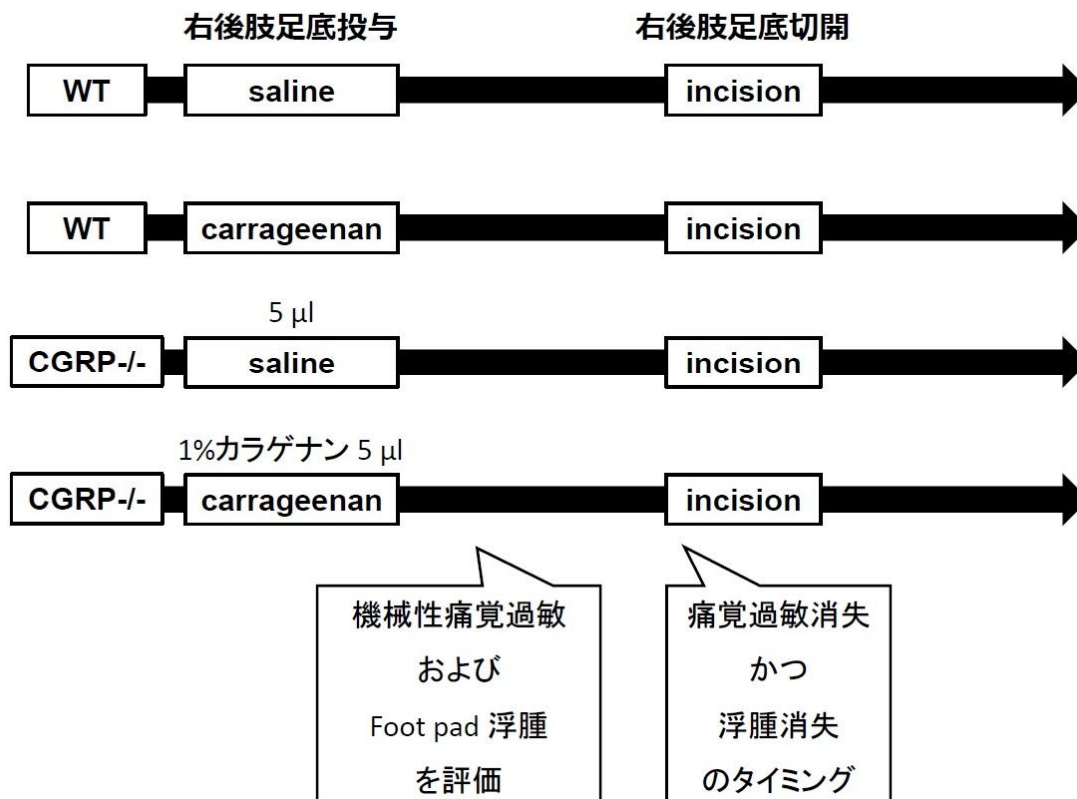
創部における肥満細胞動員、M1/M2 マクロファージ極性を、免疫染色やフローサイトメトリーにより評価する。DRG では、痛覚プライミングによって発現が亢進する EPAC1・EPAC2 を免疫染色により評価する。

リアルタイム RT-PCR 法を用いて遺伝子発現を解析する。創部では CGRP ファミリーペプチドおよび受容体・免疫・炎症・創傷治癒に関連する遺伝子発現を解析する。DRG では EPAC1・EPAC2 の遺伝子発現を解析する。

4. 研究成果

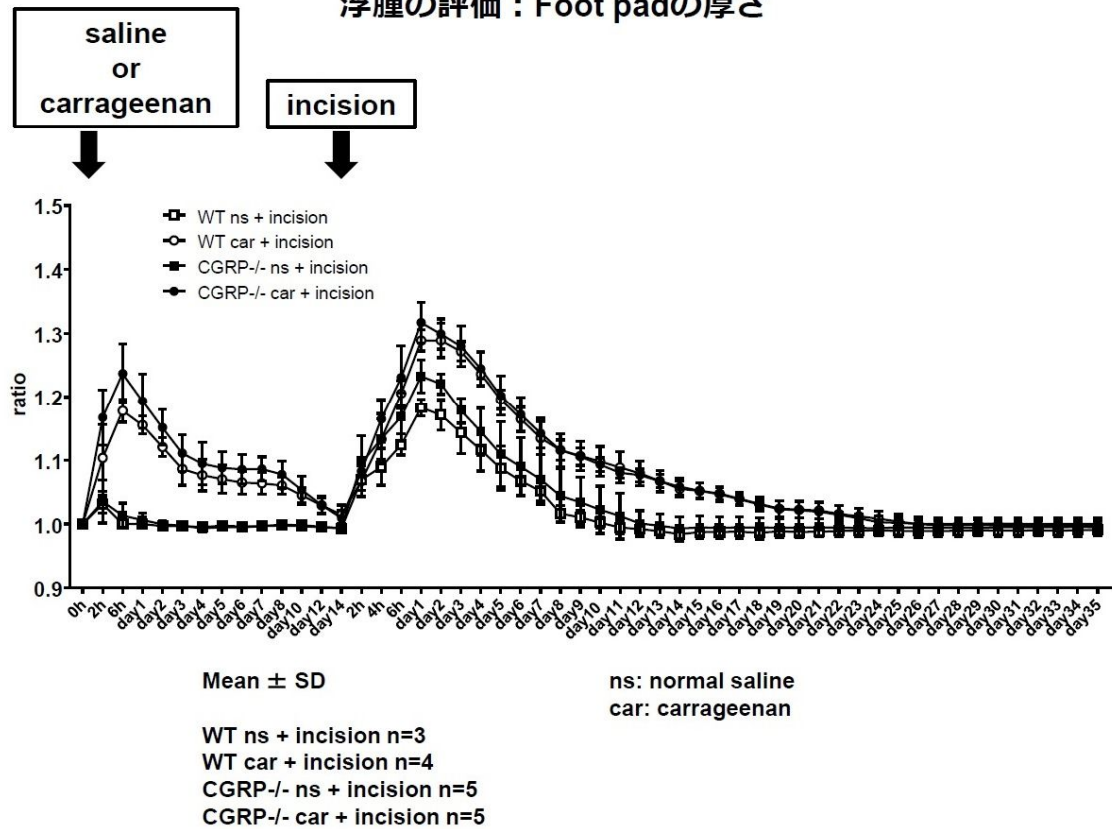
文献検索の結果、遷延性痛覚過敏モデルの作製に使用する炎症物質は、予定していた PGE2 ではなくカラギーナンを使用することになった。カラギーナンをマウス足底に投与し痛覚過敏および炎症性浮腫を惹起した。痛覚過敏および炎症性浮腫が消退した時点で足底切開を加え痛覚過敏および炎症性浮腫の推移を観察した。

モデル

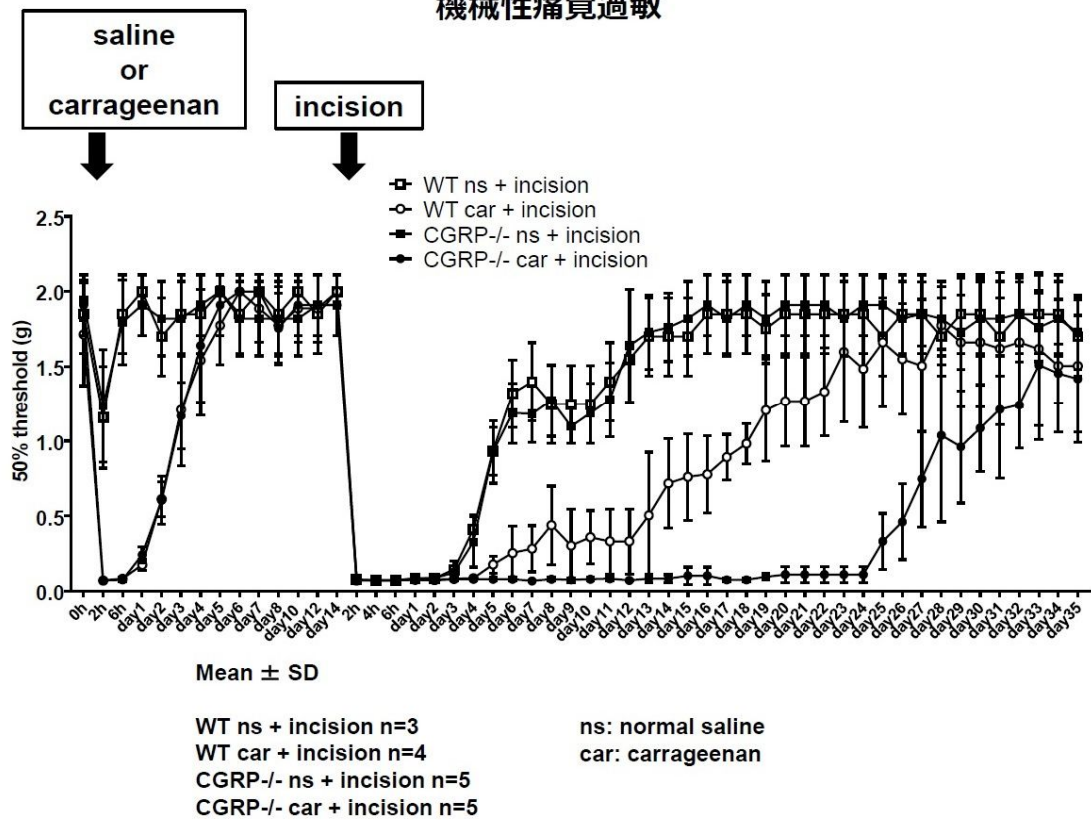


カラギーナンを投与したマウスでは生理食塩水を投与したマウスと比較して炎症性浮腫と痛覚過敏が生じた。CGRP-/-ではWTと比較して炎症性浮腫の程度が大きかった一方で、痛覚過敏の程度に差はなかった。カラギーナン投与から14日で炎症性浮腫と痛覚過敏は消失したため、その時点で足底切開を行った。足底切開後、カラギーナンを投与したマウスでは生理食塩水を投与したマウスと比較して炎症性浮腫の程度が増大し、痛覚過敏も遷延した。カラギーナンを投与した群ではCGRP-/-はWTと比較して、炎症性浮腫の程度に差はなかった一方で、痛覚過敏が強固に遷延した。これは、カラギーナンによる痛覚プライミングにCGRPの欠乏が関与し、遷延性術後痛に影響を与えている可能性を示唆する。

浮腫の評価：Foot padの厚さ



機械性痛覚過敏



遺伝子解析およびタンパク発現解析を行うためのサンプリングを実行中に、研究実施者が異動となったため、本研究の延長申請および延長実施を断念した。未使用の研究費は日本学術振興会に返納した。

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