

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08928

研究課題名（和文）神経線維をターゲットとした術後痛に対する新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel treatment targeting nerve fibers for postoperative pain

研究代表者

谷奥 匡（Tanioku, Tadashi）

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50554656

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）：Tmem45bを発現する末梢神経がどのような体性感覚、特に痛みを感知・伝達しているのか明らかにし、神経線維をターゲットとした術後痛新規治療戦略の可能性を探索する事を目的として本研究を実施した。遺伝子改変マウスを作成し、ヒトジフテリア毒素を用いる事によりTmem45b陽性末梢神経のみ選択的に脱落するマウスを作成することに成功した。まずTmem45b陽性末梢神経の脱落により、生理的状態における痛み受容は影響されないことを確認した。そして、Tmem45b陽性末梢神経が術後痛モデルにおいて機械性痛覚過敏の発生、伝達を担う末梢神経である事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みが末梢から認知されるに至る分子機構は複雑であり、特定の1分子の抑制により痛み伝達を十分に遮断できない可能性が考えられる。もし特定の神経線維が特定の感覚伝達に特化して機能していれば機械性痛覚過敏に特化した神経線維の機能を抑制する事により痛みを制御できる。本研究では、Tmem45b陽性末梢神経の選択的脱落により術後痛モデルにおける機械性痛覚過敏が選択的に脱落する事を確認した。また、Tmem45b陽性末梢神経の脱落は警告信号として重要である正常状態の痛みの受容に影響しないことを確認した。この結果はTmem45b陽性神経をターゲットとする術後痛新規治療戦略が有効である可能性を示唆する成果である。

研究成果の概要（英文）：This study was conducted to elucidate how peripheral nerves expressing Tmem45b detect and transmit somatosensory information, particularly pain, and to explore the potential of novel postoperative pain treatment strategies targeting these nerve fibers. Genetically modified mice were created, and by using human diphtheria toxin, we successfully generated mice in which only Tmem45b-positive peripheral nerves were selectively ablated. First, it was confirmed that pain perception in physiological conditions was not affected by the ablation of Tmem45b-positive peripheral nerves. Then, it was demonstrated that Tmem45b-positive peripheral nerves are responsible for the onset and transmission of mechanical hypersensitivity in a postoperative pain model.

研究分野：疼痛

キーワード：術後痛 機械性痛覚過敏

## 1. 研究開始当初の背景

手術後の病的な痛みは、早期離床や退院に向けたリハビリテーションの妨げとなり、術後合併症の主要な誘因となる。特に、体動や咳嗽などの軽微な機械刺激によって強い痛みを生じる機械性痛覚過敏は、しばしばその治療に難渋する。硬膜外麻酔などの局所麻酔薬を用いた区域麻酔法は機械性痛覚過敏の緩和に有用であるが、適応症例が限定される。最も広く用いられているオピオイドは、用量依存性に優れた鎮痛効果を発揮するが嘔気・呼吸抑制・依存などの中枢神経性の重篤な副作用が問題となり使用が制限されることが多い。また、オピオイドは機械性痛覚過敏を十分に軽減できないことも知られている (Ian G. Pain 2005)。NSAIDs はプロスタグランジンの産生を抑制するのみであるため、その鎮痛効果は限定的である。機械性痛覚過敏に対して十分かつ安全な治療薬は未だ見出されていないのが現状である。周術期の患者の QOL 向上と合併症低減に向けて、機械性痛覚過敏を十分に緩和することができる新たな痛み治療法の開発が望まれている。これまで、オピオイド受容体やプロスタグランジン受容体のような痛みの発生や伝達に関連する分子をターゲットとして様々な痛み治療薬の開発がなされてきた。しかし、未だ十分な鎮痛が得られる薬剤は実用化されていないのはなぜだろうか？痛み刺激が末梢から脳へ伝わり認知されるに至る分子機構及び神経システムは高度に複雑であり、特定の1つの分子の働きを抑制するだけでは痛み伝達を十分に遮断できない可能性が考えられる。もし、特定の神経線維が特定の感覚伝達に特化して機能しているのであれば、末梢神経に発現する特定の痛み関連分子ではなく、機械性痛覚過敏に特化した神経線維の機能を抑制する事により、効率的に痛みを制御できる。これまでに、マウスでは、特定の痛み関連分子を発現する末梢神経が特定の痛み刺激を受容・伝達していることが複数報告されている (Labeled line 説)。さらに、既にヒトの TRPV1 陽性神経線維を除去することにより癌性疼痛の緩和に成功した事例が報告されており、神経線維を丸ごとターゲットとした痛み治療戦略の有用性は大きいと期待される。申請者は機能が未知であった Tmem45b という新規分子が炎症によって惹起される機械性痛覚過敏の発生に選択的に寄与することを見出している (図2)。そして、Tmem45b は神経系において中枢神経には存在せず、末梢神経特異的に発現する分子であることも確認している。もし、Tmem45b 陽性神経が痛みを選択的に、もしくは機械性痛覚過敏を選択的に伝達しているならば、Tmem45b を特異的に発現する末梢神経線維の機能抑制は、新たな痛み治療戦略となる可能性が高い。

## 2. 研究の目的

Tmem45b を発現する末梢神経がどのような体性感覚、特に痛みを感知・伝達しているのか明らかにし、神経線維をターゲットとした術後痛新規治療戦略の可能性を探索する事。

## 3. 研究の方法

### 実験1 末梢神経選択的 Tmem45b 陽性神経脱落マウスの作成

申請者は既に、Tmem45b 遺伝子座にヒトジフテリア毒素受容体 (DTR) 遺伝子を導入したマウスを作成済みである。末梢神経選択的に DNA 組み換え酵素 Cre を発現するマウス (Nav1.8-Cre マウス、入手済み) と交配することにより、末梢神経選択的に Tmem45b 陽性神経において DTR を発現するマウスを作成できる。目的とするマウス (Tmem45b-DTR マウス) が得られたことを DTR および Tmem45b 特異的な抗体を用いて組織学的に確認する。

### 実験2 ヒトジフテリア毒素投与による Tmem45b 陽性神経脱落

Tmem45b-DTR マウスにヒトジフテリア毒素 (DTX) を3日間腹腔内投与し、末梢神経でのみ Tmem45b 陽性神経を脱落させる。DTX 投与5日後及び28日後に後根神経節を摘出し、免疫染色法を用いて Tmem45b の脱落を確認する。

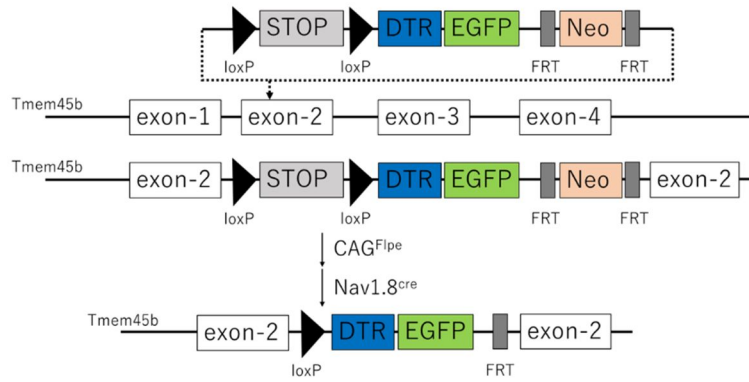
### 実験3 Tmem45b 陽性神経の機能解析 (行動解析)

Tmem45b 陽性神経がどのような痛みの伝達に関与するか調べる痛みモデルとして術後痛モデルを作製し、経時的に行動解析試験を実施する。DTX 投与5日後より行動解析試験を実施する。予備実験において、術後痛モデルは処置後24時間以内に痛みモデルが完成することを確認している。行動解析試験は、熱刺激に対する逃避潜時、Von Frey filament を用いた機械刺激に対する逃避閾値を測定する。対照マウスと比較検討する。実験終了後、後根神経節を摘出し免疫染色により Tmem45b 陽性神経の選択的脱落を確認する。

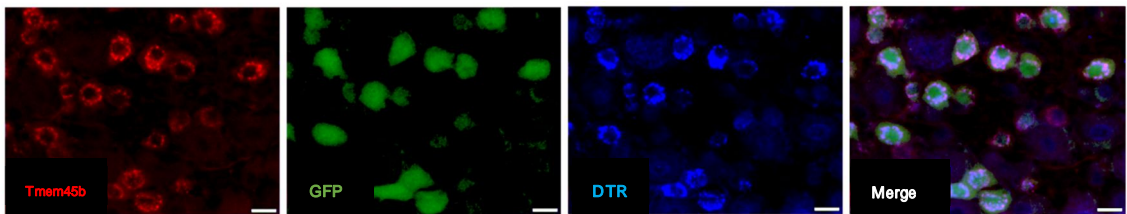
## 4. 研究成果

### 実験1 末梢神経選択的 Tmem45b 陽性神経脱落マウスの作成

以下の図に示すとおりマウスを交配し、末梢神経選択的に Tmem45b 陽性神経を DTR を発現するマウス (Tmem45b-DTR マウス) 作成した。

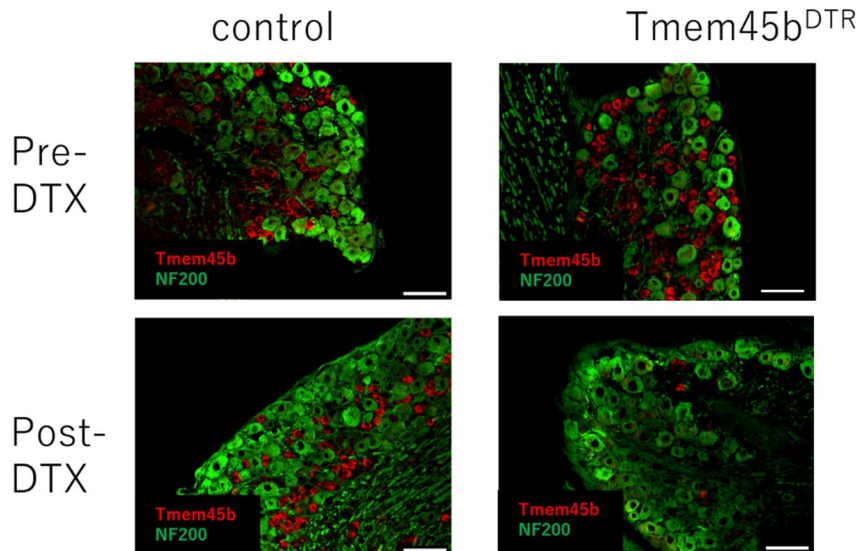


そして、Tmem45b 陽性末梢神経に DTR が発現していることを蛍光免疫染色にて確認した。

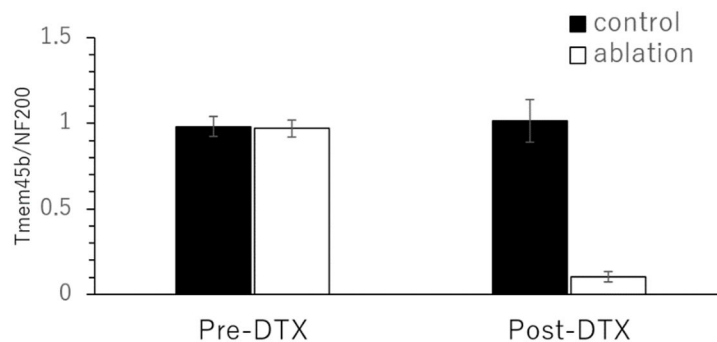


### 実験 2 ヒトジフテリア毒素投与による Tmem45b 陽性神経脱落

DTX を 3 日間腹腔内投与し Tmem45b 陽性末梢神経のみ脱落するマウスの作成を行った。そして、免疫染色により Tmem45b 陽性末梢神経細胞が脱落していることを確認した。

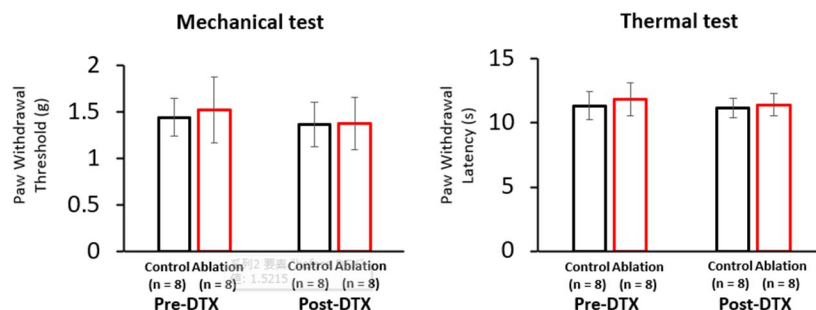


また、DTX による神経脱落が Tmem45b 陽性末梢神経細胞でのみ生じていることを確認した。Tmem45b 陽性細胞と有髄神経のマーカーである NF200 を発現する細胞はほとんどオーバーラップしないことを先行文献において確認している。DTX 投与により Tmem45b 陽性細胞のみ選択的に脱落していることを確認した。

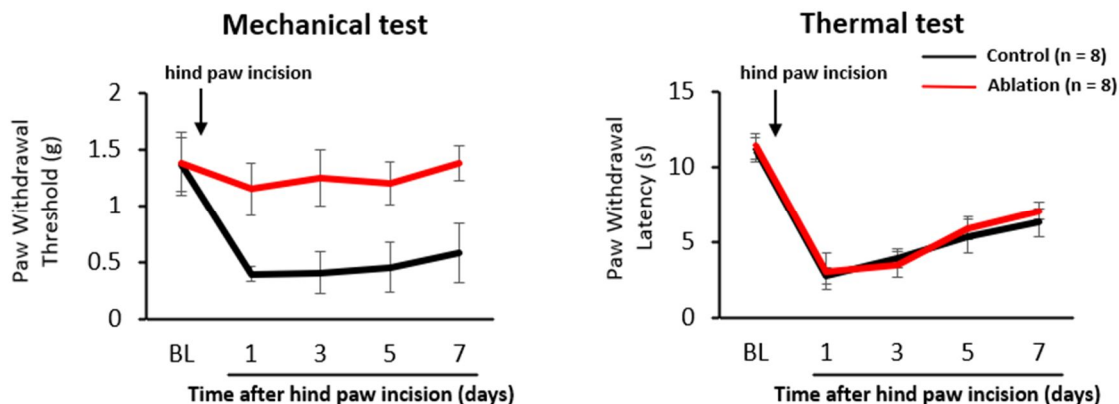


### 実験3 Tmem45b 陽性神経の機能解析（行動解析）

実験2で作成した Tmem45b 陽性神経脱落マウスを用いて、術後痛モデルを作成し行動解析試験を実施した。まず、痛みモデル作成前の生理的状態における痛み受容について確認した。DTX 投与の投与前後で、侵害機械刺激および侵害熱刺激に対する痛み閾値と潜時は変わらなかった。Tmem45b 陽性神経は生理的状態における痛み受容に関与しないことを確認した。



続いて、術後痛モデルを作成し行動解析を実施した。術後痛モデルではコントロールマウスでは痛みモデル作成 24 時間後より機械性痛覚過敏および熱性痛覚過敏となったが、Tmem45b 陽性神経脱落マウスでは熱性痛覚過敏となったが、機械性痛覚過敏とはならなかった。この結果より、Tmem45b 陽性神経は術後痛モデルにおける機械性痛覚過敏を選択的に伝達する神経である事を確認した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西畑雅由、谷奥匡、丸山智之、川股知之
2. 発表標題 Tmem45b陽性末梢神経の末梢組織および脊髄への投射
3. 学会等名 第44回日本疼痛学会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 西畑雅由、谷奥匡、角南昇吾、中村安寿左、川股知之
2. 発表標題 Tmem45b陽性神経は如何なる痛みを伝達するか？
3. 学会等名 日本麻酔学科第69回関西支部学術集会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 西畑雅由、谷奥匡、川股知之
2. 発表標題 神経障害性痛の種類によってTmem45b陽性神経の関与が異なる
3. 学会等名 日本麻酔科学会第71回学術集会
4. 発表年 2024年～2025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	若林 美帆 (Wakabayashi Miho) (20713275)	和歌山県立医科大学・医学部・助教  (24701)	

6. 研究組織（つづき）

	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	西畑 雅由  (Nishihata Masayuki)  (20896013)	和歌山県立医科大学・医学部・学内助教    (24701)	
研究分担者	川股 知之  (Kawamata Tomoyuki)  (80336388)	和歌山県立医科大学・医学部・教授    (24701)	
研究分担者	古梅 香  (Kobai Kaori)  (90886954)	和歌山県立医科大学・医学部・助教    (24701)	

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