

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08937

研究課題名(和文) 疼痛・掻痒感の受容修飾におけるPDGFRの新規機能解析と術後痛管理への応用

研究課題名(英文) Roles of PDGFR in modulating pain/itch perception and application to postoperative pain management

研究代表者

大久保 正道 (Okubo, Masamichi)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：70581495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：後根神経節(DRG)におけるPDGFRの発現と痛み受容への関連を検討した。ISHの結果、PDGFRは、小型、中型、大型のneuronにそれぞれ15%程度、PDGFRは、小型neuronに多かった。ISHと免疫組織化学の二重標識により、P2X3の約40%に発現した。足底へPDGF-BBと-ab-MeATPを投与すると疼痛行動が有意に増強した。このラットの脊髄後角c-fos発現細胞数は有意に増加した。感覚神経のCa²⁺imagingにおいてPDGF-BBは-ab-MeATPの応答を有意に増加させた。PDGFRはP2X3の興奮性を上げ、末梢神経における痛覚受容を修飾する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感覚神経におけるPDGFRsの役割は不明であったが、本研究でその役割の一端が明らかになった。具体的には、PDGFRsはそれぞれ一部の感覚神経が持っており、特にPDGFRは痛みを伝えるとされる小型のニューロンに特異的に発現した。これらの成果は、PDGFが疼痛受容メカニズムの一つとして提案したこととなり、本研究が学術的な意義を持ったものであったと考えられる。また、創傷治癒過程で重要な役割を果たすPDGFが痛みに関与し得るという研究成果は、術後痛の発症メカニズムの理解を深め、術後痛緩和に向けた今後のマイルストーン研究となったことが社会的意義であると考えている。

研究成果の概要(英文)：We investigated the expression of PDGFR in dorsal root ganglion (DRG) and effect on pain behaviors in rats. in situ hybridization (ISH) revealed that PDGFR alpha mRNAs were expressed by 15% of all DRG neurons, and that PDGFR beta mRNAs were expressed by small sized neurons. Double labeling analysis of ISH with immunohistochemistry showed that PDGFR beta were relatively colocalized with P2X3 receptor. These results lead us to do behavior test. Intraplantar injection of PDGF receptor agonist (PDGF-BB) enhanced pain related-behaviors induced by P2X3 receptor agonist (ab-MeATP). We next examined whether PDGF-BB increased neuronal excitability in dorsal horn. PDGF-BB increased c-fos expressing neurons of dorsal horn following to injection of ab-MeATP. PDGF-BB increased the number of Ca²⁺ expressing neurons in response to ab-MeATP in DRG neurons by using Ca²⁺ imaging. These results suggested that PDGFR enhanced the function of P2X3 receptor contributing to pain behaviors.

研究分野：神経解剖学 ペインリサーチ

キーワード：後根神経節 術後痛 脊髄後角 疼痛

1. 研究開始当初の背景

術後痛は手術による創傷の治癒過程に生ずる急性痛である。術後痛を抑えるためには多量の鎮痛薬が必要で副作用により離床が遅れやすく、適切な鎮痛法の発案が急務である。血小板由来増殖因子 (PDGF) は、創傷治癒に重要な役割を果たすことは広く知られているが、痛みとの関連については不明な点が多い。このことから本課題は感覚神経でのPDGFRの役割と術後痛、急性痛との関連性を明らかにし、結果を臨床、特に周術期医療へ還元して的確な術後痛マネジメント法の発展に貢献しようとするものであった。

2. 研究の目的

組織学的手法にて感覚神経に発現するPDGFRの詳細な亜集団解析と生理学的手法による機能解析の両面からPDGFRが受容する感覚の特異性と役割を明らかにする。また、感覚神経でのPDGF/PDGFRシグナルと術後痛、急性痛との関連性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 2種類のサブタイプのPDGFRs (PDGFR α 、PDGFR β) のcRNA probeを用いたin situ hybridization (ISH)を行い、ナイーブラットの感覚神経 (DRGニューロン) において発現特異性があるか検討した。

(2) DRGニューロンの分類に用いられる古典的なマーカー (NF200、CGRP、TRPV1、TRPM8 など) とPDGFRの共存率を測定して解剖学的にPDGFRの感覚特異性を分類する。方法は、ラットDRGの凍結切片を用いてPDGFRのISHと各種マーカーの免疫組織化学 (IHC) 法による2重標識法を使用した。以下に各遺伝子の部分的cDNAテンプレートと使用した抗体情報を記す。

Gene	Accession No.	Bases
PDGFR	NM_012802	157-798
PDGFR	NM_031525	233-849

抗体

anti-NF200	Sigma
TRPV1	Oncogene
P2X3	Calbiochem
c-Fos	Oncogene

(3) naive ラットの足底に PDGF 単独あるいは PDGF と様々な刺激を組み合わせる刺激し、脊髄後角ニューロンの興奮性 (c-Fos など) の変化を観察した。

(4) PDGFR の機能を理解する実験として、生理学的実験を行った。各モデル動物の DRG ニューロンを急性単離・培養を行い、培養液中に PDGF を投与してニューロンの興奮性に与える影響についてカルシウムイメージング法を用いて観察し、PDGFR が発現するニューロンの興奮性の亢進が誘発されるかどうかを検討した。

4. 研究成果

(1) ISH によるナীবラットの感覚神経における PDGF および の発現を検討した。ラット後根神経節 (DRG) での PDGFR 、R の発現は、そのほとんどがグリア細胞であったが、強拡大にて観察すると一部のニューロンに発現すること、PDGFR は、小型、中型、大型の neuron にそれぞれ 15% 程度、ほぼ均等に発現する一方で、PDGFR は小型 neuron に多く PDGFR は痛み/痒みを伝えるニューロンに発現することが示唆された。

(2) ISH と免疫組織化学の二重標識により、PDGFR は無髄神経 (C 線維) の約 30%、痛みを受容することで知られる P2X3 の約 40% に発現することが明らかとなった。

(3) PDGFR agonist である PDGF-BB を足底に単独投与し、自発痛や機械刺激による逃避行動を観察したところ、いずれも優位な変化はなかったが、PDGF-BB を投与後に P2X3 agonist (-MeATP) を投与すると、 -MeATP による疼痛様行動 (flinching) を有意に増強させた。このラットの脊髄後角を用いて神経興奮マーカーである c-fos の発現細胞数を比較したところ、vehicle 群と比べ有意に増加した。

(4) 急性単離した DRG neuron を用いた Ca²⁺ imaging では、PDGF-BB は P2X3 の agonist により Ca 応答を示すニューロンの数を有意に増加させた。

以上のことから、PDGFR は P2X3 の興奮性を上げ、末梢神経における痛覚受容を修飾する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 大久保正道、永井みゆな、山中博樹、小林希実子、神田浩里、戴毅、
2. 発表標題 後根神経節における血小板由来増殖因子受容体の発現と疼痛行動への影響
3. 学会等名 第128回 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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