

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08995

研究課題名（和文）術後遷延痛における脊髄グルタミン酸トランスポーターの役割に関する検討

研究課題名（英文）Study on the role of spinal glutamate transporter in prolonged postoperative pain

研究代表者

賀来 隆治（Kaku, Ryuji）

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50444659

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：Glutamate transporter-1 (GLT-1) は、シナプス間隙のグルタミン酸濃度の恒常性を保つ役割を果たし、動物モデルにおける健側疼痛閾値の低下 (mirror image pain, MIP) への関与が報告されている。その機序として脊髄アストロサイトのGLT-1発現とアドレナリン受容体の関係を検討した結果、ノルアドレナリン投与下のフェントラミン投与により、GLT-1発現は完全に回復したが、1A、1D受容体阻害剤投与では、部分的な回復にとどまった。モデル作成3日目に両足底疼痛閾値低下を認め、1受容体阻害剤投与群では患側の変化を認めず、10日目の健側疼痛閾値が改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

術後遷延痛は、術後患者 QOL を低下させる大きな要因であることが以前から知られているが、その詳細な病態の解明、痛みに対する有効な予防・治療法の開発は未だ不十分である。近年の高齢化社会において手術を受ける患者は増加しており、術後遷延痛を予防し、また治療法の開発につながる病態を解明することは急務である。本研究で、動物実験において、アストロサイト特異的グルタミン酸トランスポーターであるGLT-1が、術後遷延痛が形成される過程で重要な役割を果たしていることが明らかとなり、新たな治療ターゲットの一つとして有力な候補であることが示された。今後はヒト臨床への応用を目指して更なる研究を継続していく予定である。

研究成果の概要（英文）：Glutamate transporter-1 (GLT-1) plays a role in maintaining the homeostasis of glutamate concentration in the synaptic cleft, and has been reported to be involved in the decrease in pain threshold in the healthy side (mirror image pain, MIP) in animal pain models. We investigated the relationship between GLT-1 expression in spinal astrocytes and adrenergic receptors as this mechanism. GLT-1 expression was completely restored by administration of phentolamine under noradrenaline administration, but only partially restored by administration of 1A and 1D receptor inhibitors. A decrease in the plantar pain threshold of both feet was observed on the third day after surgery, and no change was observed in the affected side in the 1 receptor inhibitor group, while the pain threshold in the healthy side improved on the 10th day.

研究分野：慢性疼痛

キーワード：慢性疼痛 グルタミン酸トランスポーター 術後遷延痛

1. 研究開始当初の背景

手術後に傷が癒えたにも関わらず長期間遷延する痛み(術後遷延痛)は、生活の質(Quality of Life, QOL)を低下させる大きな要因であることが以前から広く知られているが、その詳細な病態の解明、痛みに対する有効な予防・治療法の開発は未だ不十分である。高齢化社会において手術を受ける患者数は増加しており、術後遷延痛を予防し、また治療法の開発につながる病態を解明することが急務である。

Glutamate transporter-1 (GLT-1) はアストロサイト特異的グルタミン酸トランスポーターであり、シナプス間隙のグルタミン酸濃度の恒常性を保つ役割を果たしている。GLT-1 と慢性痛の関連として、*in vitro* では、Primary astrocyte に 1 受容体作動薬を投与すると用量依存性に GLT-1 発現が抑制すること、*in vivo* では modified Spared Nerve Injury (SNI) モデルラットの両側脊髄で GLT-1 の発現が低下すること、また両側脊髄でノルアドレナリンが一過性に増加すること、反対側である健側でも疼痛閾値の低下 (mirror image pain, MIP) が生じることがこれまでに報告されている。

2. 研究の目的

GLT-1 はシナプス間のグルタミン酸の調節、すなわち神経の興奮性に重要な役割を果たすため、その異常が慢性痛の病態に深く関与していることが示されている。申請者らは神経障害性痛モデルを用いた先行研究において、GLT-1 の調節に脊髄のノルアドレナリンが関与していることを明らかにしてきた (BBRC 2018、日本麻酔科学会 2020)。ノルアドレナリンは下行性疼痛抑制系の重要な伝達物質であり、申請者らは術後遷延痛の病態にも下行性疼痛抑制系、および脊髄での GLT-1 の異常が大きく関わっているのではとの仮説を立てた。これらの背景に基づき、本研究では術後痛モデルラットを用いて脊髄 GLT-1 と術後遷延痛の関連を明らかにすることを目的とし研究を行なった。

3. 研究の方法

2 つのラット術後痛モデルにおける脊髄 GLT-1 発現の変化、ノルアドレナリン量の定量およびアドレナリン 受容体阻害剤による術後遷延痛の変化：足底筋膜切開による術後痛モデル (Brennan モデル) では術後 5 日で疼痛域値は回復するが、皮膚/筋肉切開および開創 (skin/muscle incision and retraction, SMIR モデル) では術後約 3 週間にわたり疼痛閾値の低下を示す。これらのモデルの脊髄での遺伝子発現の違いとノルアドレナリン量の変化につき検討した。またアドレナリン 受容体阻害剤による術後遷延痛の変化を検討した。動物：6 週齢雄性 Sprague Dawley (SD) ラットを用い、足底筋膜切開による術後痛モデル (Brennan モデル) および皮膚/筋肉切開および開創 (SMIR) モデルを作成した。疼痛行動評価：von Frey test による両後肢足底の 50%疼痛閾値を測定した。組織採取：naïve ラット及びモデル作成 7、14、21 日目に後根神経節、脊髄を摘出した。RT-PCR：GLT-1、Glutamine Synthetase、内部コントロールとして GAPDH の各 mRNA につき、定量 RT-PCR により遺伝子発現変化を測定した。蛋白分析：ウェスタンブロットによる GLT-1 タンパク半定量を行なった。ELISA：脊髄組織中ノルアドレナリン定量を行なった。

4 . 研究成果

我々は令和3年度、MIPの機序として脊髄アストロサイトのGLT-1発現とアドレナリン受容体の関係を検討した結果、in vitroでは、ノルアドレナリン3 μ M投与下にフェントラミンを投与すると、GLT-1発現は完全に回復したが、1A, 1D受容体阻害剤投与では、部分的な回復にとどまった。in vivoでは、モデル作成3日目に両足底の疼痛閾値低下を認め、

1受容体阻害剤200 μ g投与群では患側疼痛閾値の変化を認めなかったが、術後10日目の健側疼痛閾値は改善した。この結果を、Acta Med Okayama 2022 Vol.76, No3, pp.255-63に報告した。

令和4年度には、Spinal Nerve Ligation (SNL)モデルに対して同様の実験を行い、脊髄における神経伝達物質であるBrain-derived neurotrophic factor (BDNF)の変化について検討した。

令和5年度は、BDNFに対する様々なノックダウン方法を検討した。これまで報告してきたデコイを用いた方法に加えて、新たにアンチセンスの効果を検討した。

これらの研究結果から、動物モデルにおいて、術後疼痛の遷延の機序として、脊髄アストロサイトにおけるGLT-1が大きな役割を担っていることが示された。本研究での結果により、術後遷延痛に対する治療の新たなターゲットとして、脊髄でのGLT-1やアドレナリン受容体へのモデュレーション、およびBDNFの発現調節が有用である可能性があり、今後のヒト臨床現場への応用が期待される。

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 1件）

1. 著者名 Kosuke Nakatsuka, Yoshikazu Matsuoka, Masako Kurita, Ruilin Wan, Chika Tsuboi, Nobutaka Sue, Ryuii Kaku, and Hiroshi Morimatsu	4. 巻 76
2. 論文標題 Phentolamine-induced spinal GLT-1 upregulation improve mirror image pain in SNI model rat	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Med Okayama	6. 最初と最後の頁 255-263
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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
研究分担者	松岡 義和 (Matsuoka Yoshikazu) (20509434)	岡山大学・大学病院・助教 (15301)	

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