

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：34509

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462458

研究課題名(和文) 中枢性疼痛の発症機序における長鎖脂肪酸受容体 GPR40 の関与

研究課題名(英文) Involvement of GPR40 in the production of central post-stroke pain after global cerebral ischemia

研究代表者

徳山 尚吾 (Tokuyama, Shogo)

神戸学院大学・薬学部・教授

研究者番号：70225358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：脳卒中後疼痛(CPSP)は、脳卒中後の難治性合併症であり、神経障害性疼痛の一つとして知られる。これまでに我々は、長鎖脂肪酸の受容体であるGPR40が、視床下部での μ -エンドルフィンの遊離を介して疼痛を制御することを報告した。そこで本研究では、CPSPを模する全脳虚血モデルを用いて、CPSPに対するGPR40の関与について検討した。BCAO3日後の後肢において認められた痛覚過敏反応は、GPR40アゴニストであるGW9508の処置によって有意に抑制され、その作用はアンタゴニストであるGW1100によって消失した。すなわち、CPSPに対する治療標的として、GPR40が有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Central post-stroke pain (CPSP), one of the complications of cerebral ischemia and neuropathic pain syndrome, is associated with specific somatosensory abnormalities. We recently reported that DHA and/or GW9508, a GPR40 agonist, have suppressive effects on pain behavior elicited by formalin, acetic acid and a complete Freund's adjuvant. These effects appear to be mediated through the release of μ -endorphin, an endogenous opioid peptide, which is stimulated by GPR40 signaling in the supraspinal region. The aim of the present study was to determine the involvement of GPR40 in the development of CPSP in an animal model of global cerebral ischemia. BCAO-induced mechanical hyperalgesia was significantly decreased by intracerebroventricular injection of docosahexaenoic acid or GW9508, a GPR40 agonist; furthermore, these effects were reversed by GW1100, a GPR40 antagonist. Our data show that BCAO-induced mechanical hyperalgesia can be regulated by stimulation of GPR40 signaling.

研究分野：精神神経薬理

キーワード：脳卒中後疼痛 長鎖脂肪酸 GPR40 全脳虚血ストレス

1. 研究開始当初の背景

これまでの脳卒中の後遺症に関連する研究の中で、疼痛(中枢性疼痛)の発症機序の解明はほとんどなされてこなかった。中枢性疼痛の評価系として、脳出血性の脳卒中動物モデルを用いた疼痛評価報告はわずかにあるものの、脳梗塞性の脳卒中動物モデルを用いた有効な動物モデルがないこともその障壁の一つとなっていた。

脳卒中をはじめとする脳血管障害慢性期の患者においては、再発の防止と合併症・後遺症に対する対応が中心となる。合併症・後遺症は、疼痛・麻痺等の感覚障害、易感染症、血栓症、肺梗塞症状に加え、うつなどの精神症状も惹起する。とくに疼痛や精神症状は高率に生じ、予後に対する負の影響をもたらすことから、それらの発症機序の解明ならびにその予防法の開発への期待は社会的要請となっている。さらに、疼痛と精神症状は密接に関連し、慢性疼痛患者では不安、焦燥、抑うつを認めることが多いと報告されている。すなわち、疼痛の軽減によって、精神症状の緩和にも寄与できると考えられる。近年、「緩和ケア」の充実化が求められ、がん性疼痛に対する多くの治療方法が提唱されているが、脳卒中後の中枢性疼痛に対するそれは未だ確立していない。現在までに、脳深部電気刺激等の治療が実施されているが、その効果は流動的である。

2. 研究の目的

本研究において、中枢性疼痛の分子メカニズムを解明するために、長鎖脂肪酸およびその受容体に着目し、その役割について明らかにする。さらに、なぜ中枢性の虚血再灌流障害によって、末梢部位における疼痛発症が起こるのかなどの機序を明らかにすることを目指している。最終的に、中枢性疼痛の発症機序およびその有効な治療法の開発に寄与出来ればと考えている。なお、具体的な目標としては下記にあげる通りである。

2-1. 中枢性疼痛の発症機構における長鎖脂肪酸受容体 GPR40 およびこれらの病態下における脳内長鎖脂肪酸の変動および局在変化について明らかにする。

2-2. 網羅的タンパク質発現解析により、中枢性疼痛の発現関連因子を同定する。

2-3. 中枢性疼痛に対する有効な治療法を確立する。

3. 研究の方法

3-1. BCAA 後の機械的アロディニアの発現に対する各種鎮痛補助薬の効果

BCAO 3 日後に、三環系抗うつ薬イミプラミン、抗てんかん薬ガバペンチン、カルバマゼピン、抗不整脈薬メキシレチン、NSAIDs インドメタシンを単回腹腔内、麻薬性鎮痛薬モルヒネを単回皮下投与し、疼痛行動に対する影響を行動薬理的に解析した。

3-2. CPSP の発現に対する長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 の関与

先行研究において、DHA などの種々の長鎖脂肪酸が生体内の疼痛制御機構に対し重要な役割を果たす可能性を提唱している (Nakamoto et al., Brain Res., 2012)。それ故、以下の検討を実行した。

BCAO 3 日後に DHA (25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) または GPR40/FFAR1 選択的アゴニスト GW9508 (0.1, 1 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) を脳室内投与し、疼痛行動を行動薬理的に解析した。GPR40/FFAR1 選択的アンタゴニスト GW1100 (10, 50 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) は、DHA または GW9508 投与 10 分前に脳室内投与した。

3-3. プロテオーム解析を用いた BCAA 後の脊髄および坐骨神経におけるタンパク質変動の網羅的解析

各種阻害剤を用い、HMBG1/RAGE シグナル系の活性化によって変化する下流シグナルを同定し、脳虚血ストレス負荷後の脳卒中後疼痛発症の責任組織における詳細なシグナル伝達機序を生化学的および組織学的に解明する。

4. 研究成果

4-1. BCAA 後の機械的アロディニアの発現に対する各種鎮痛補助薬の効果

BCAO 3 日後の後肢において認められた機械的アロディニアは、イミプラミン、ガバペンチン、メキシレチンおよびモルヒネ投与群において、対照群と比較して有意な抑制が認められた。しかしながら、インドメタシンおよびカルバマゼピン投与群では、対照群と何ら変化が認められなかった。

4-2. CPSP の発現に対する長鎖脂肪酸受容体 GPR40/FFAR1 の関与

BCAO 3 日後の後肢において認められた機械的刺激に対する痛覚過敏反応は DHA の処置によって有意に抑制され、またこの作用は GW1100 によって有意に拮抗された。

4-3. プロテオーム解析を用いた BCAA 後の脊髄および坐骨神経におけるタンパク質変動の網羅的解析

BCAO 後の疼痛発現に関与する因子をプロテオーム解析によって網羅的に解析し、関与する可能性のある 4 つの因子 ($\text{N}^{(\text{G})}$, $\text{N}^{(\text{G})}$ -dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1, dihydropyrimidinase-related protein-2 or -3, myosin regulatory light chain-2) の同定に成功した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Wataru Matsuura, Shinichi Harada, Shogo

- Tokuyama, Effects of adjuvant analgesics on cerebral ischemia-induced mechanical allodynia, *Biol. Pharm. Bull.*, 39, 856-862, 2016. (査読あり)
2. Shinichi Harada, Wataru Matsuura, Masaoki Takano, Shogo Tokuyama, Proteomic profiling in the spinal cord and sciatic nerve in a global cerebral ischemia-induced mechanical allodynia mouse model, *Biol. Pharm. Bull.*, 39, 230-238, 2016. (査読あり)
 3. Shinichi Harada, Yuka Haruna, Fuka Aizawa, Wataru Matsuura, Kazuo Nakamoto, Takuya Yamashita, Fumiyo Kasuya, Shogo Tokuyama, Involvement of GPR40, a long-chain free fatty acid receptor, in the production of central post-stroke pain after global cerebral ischemia, *Eur. J. Pharmacol.*, 744, 115-123, 2014. (査読有り)
 4. Shigeyuki Tamiya, Yuki Yoshida, Shinichi Harada, Kazuo Nakamoto, Shogo Tokuyama, Establishment of a central post-stroke pain model using global cerebral ischemic mice, *J. Pharm. Pharmacol.*, 65, 615-620, 2013. (査読有り)
 5. 原田慎一, 中本賀寿夫, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛に対する治療戦略の現状とモデル動物確立の必要性, *緩和医療薬学雑誌*, 6, 51-56, 2013. (査読有り)

〔学会発表〕(計 13 件)

1. 松浦涉, 景山絵理香, 原田慎一, 劉克約, 西堀正洋, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛における脊髄部位での high mobility group box-1 の関与, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 27-29 日(横浜)
2. 原田慎一, 松浦涉, 劉克約, 西堀正洋, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛の発現に対する脊髄 high mobility group box-1 の関与, 痛み研究会 2015, 2015 年 12 月 17-18 日(名古屋)
3. 原田慎一, 松浦涉, 劉克約, 西堀正洋, 徳山尚吾, High mobility group box-1 が全脳虚血誘導性痛覚過敏に及ぼす影響, 第 127 回日本薬理学会近畿部会, 2015 年 11 月 20 日(大阪)
4. 原田慎一, 景山絵理香, 松浦涉, 徳山尚吾, 全脳虚血誘導性機械的痛覚過敏に対する各種鎮痛補助薬の影響, 第 9 回緩和医療薬学会年会, 2015 年 10 月 3-4 日(横浜)
5. 松浦涉, 原田慎一, 劉克約, 西堀正洋, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛における High mobility group box - 1 (HMGB1) の役割とその痛覚異常に対する各種鎮痛補助薬の効果, 第 26 回霧島神経薬理フォーラム, 2015 年 8 月 16-18 日(鹿児島)
6. 松浦涉, 春名柚佳, 原田慎一, 劉克約, 西堀正洋, 徳山尚吾, 全脳虚血誘導性痛覚過敏に対する high mobility group box-1 の関与, 日本薬学会第 135 年会, 2015 年 3 月 26 日-28 日(神戸)
7. 景山絵理香, 松浦涉, 原田慎一, 徳山尚吾, 全脳虚血誘導性痛覚過敏に対する各種神経障害性疼痛治療薬の影響, 日本薬学会第 135 年会, 2015 年 3 月 26 日-28 日(神戸)
8. 原田慎一, 春名柚佳, 中本賀寿夫, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛に対する長鎖脂肪酸受容体 GPR40/アストロサイトの関与, 第 34 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム, 2014 年 9 月 4 日-5 日(東京)
9. 春名柚佳, 原田慎一, 中本賀寿夫, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛制御機構における長鎖脂肪酸受容体 GPR40 の関与, 生体機能と創薬シンポジウム 2014, 2014 年 8 月 28 日-29 日(大阪)
10. 春名柚佳, 松浦涉, 原田慎一, 中本賀寿夫, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛に対する長鎖脂肪酸受容体 GPR40 およびアストロサイトの関与, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 28-30 日(熊本)
11. 春名柚佳, 原田慎一, 中本賀寿夫, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛に対する長鎖脂肪酸受容体 GPR40 の関与, 第 7 回日本薬局学会学術総会, 2013 年 11 月 23 日-24 日(大阪)
12. 原田慎一, 春名柚佳, 中本賀寿夫, 徳山尚吾, 脳卒中後疼痛に対する長鎖脂肪酸受容体 GPR40/アストロサイトの役割, 第 33 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム, 2013 年 9 月 6 日-7 日(神戸)
13. 春名柚佳, 原田慎一, 中本賀寿夫, 徳山尚吾, 長鎖脂肪酸受容体 GPR40 を介した脳卒中後疼痛制御機構の解明, 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2013, 2013 年 8 月 31 日(熊本)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

徳山 尚吾 (TOKUYAMA Shogo)
神戸学院大学・薬学部・教授
研究者番号：70225358

(2)研究分担者

中本 賀寿夫 (NAKAMOTO Kazuo)
神戸学院大学・薬学部・講師
研究者番号：30432636

原田 慎一 (HARADA Shinichi)
神戸学院大学・薬学部・講師
研究者番号：60633443

(3)連携研究者

()

研究者番号：