

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：32622  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23790099  
 研究課題名（和文）末梢性顔面神経麻痺の重症化における膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素（mPGES-1）の関与の解析  
 研究課題名（英文）Analysis of Microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) in the facial nerve regeneration.  
 研究代表者  
 亀井 大輔（KAMEI DAISUKE）  
 昭和大学・薬学部・講師  
 研究者番号：80515651

研究成果の概要（和文）：末梢性顔面神経麻痺の重症化には効果的な治療法が確立されていない。本研究は、生理活性脂質プロスタグランジン(PG)E<sub>2</sub>とその最終合成酵素である膜結合型 PGE 合成酵素(mPGES-1)に着目し、本疾患に対し新たな治療法の基盤の確立を目指した。マウス顔面神経麻痺モデルを中心に解析した結果、麻痺後の顔面神経の再生過程に PGE<sub>2</sub>と mPGES-1 の寄与が明らかになった。本研究により PGE<sub>2</sub>の阻害が、末梢性顔面神経麻痺の新たな治療法として有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：An effective therapy is not established for aggravation of the peripheral facial nerve palsy. Microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) is a stimulus-inducible enzyme that functions downstream of cyclooxygenase in the prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)-biosynthetic pathway. In this study, we examined the in vivo role of mPGES-1 in the facial nerve regeneration using a mouse model of facial nerve crush injury. In vivo studies showed that contribution of PGE<sub>2</sub> and mPGES-1 was found in the process of regeneration of facial nerve after crush injury. This study suggested that inhibition of PGE<sub>2</sub> was useful as a new therapy for peripheral facial nerve palsy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学（薬理学）

キーワード：脂質、薬理学、プロスタグランジン、顔面神経麻痺、末梢神経

## 1. 研究開始当初の背景

末梢性顔面神経麻痺は脳神経麻痺の中で最も頻度の高い疾患であり、難治化した際は、顔面表情筋の運動障害などの非対称な顔貌が後遺症として残るため、患者への苦痛が大きい疾患である。本疾患の病因は、潜伏感染していたヘルペスウイルスや水痘疱疹ウイルスの再活性化に起因した顔面神経の炎症による神経障害説が有力であるが、その詳細な発症メカニズムは明らかになっていない。近年の研究成果において、顔面神経内のウイルス性神経炎による神経障害で、炎症性刺激

による脱髄や軸索変性が認められており、ウイルス性神経炎による神経障害の悪化に多くの炎症性メディエーターが関与している可能性を示唆しているが、本疾患の神経障害部位における様々な炎症性メディエーターの関与については分かっていない。

臨床における顔面神経麻痺の治療法は、難治化した後の麻痺の完治が非常に困難であるゆえ、急性期における治療が重要視されている。現在、急性期に施行されているステロイド療法は、顔面神経麻痺における急性期のウイルス性神経炎に対し、炎症による神経浮

腫や浮腫による神経の絞扼麻痺、血流障害などの改善を目的に投与されているが、一方で、ステロイドの副作用である免疫系の抑制作用により、ウイルスの再活性化を助長する可能性もあり問題点が多い。また、重症化した顔面神経麻痺への治療戦略に関してエビデンスに乏しく、ゆえに重症化及び慢性期に対する治療法は確立されていない。

## 2. 研究の目的

本研究は、様々な神経障害部位で産生される炎症性脂質メディエーターの1つであるプロスタグランジン(PG) $E_2$ とその最終合成酵素である膜結合型 PGE 合成酵素(mPGES-1)に着目し、末梢性顔面神経麻痺の神経損傷部位での神経再生にPGE $_2$ やmPGES-1の関与を証明し、これらをターゲットとした新たな治療法の基盤の確立を目的とした。

PGE $_2$ は、多くの組織・細胞で産生され、炎症、発熱、発痛、骨代謝、がん、組織保護などの様々な生理的・病理的現象に関与する生理活性脂質である。PGE $_2$ の生合成経路は、(i) PLA $_2$ による膜リン脂質からのアラキドン酸の遊離、(ii) シクロオキシゲナーゼ(COX)によるアラキドン酸のPGH $_2$ (各種生理活性PGsの共通前駆体)への変換、(iii) PGH $_2$ からPGE $_2$ への異性化、の三段階の酵素反応からなり、(iii)を担うPGESには、細胞質型のcPGESと膜結合型のmPGES-1とmPGES-2の計3種の酵素が同定されている。このうちmPGES-1は、多くの炎症性疾患において増悪因子として機能しており、またmPGES-1阻害による抗炎症作用は、ステロイドや非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)のように全てのPG類を一括遮断することがないため、重大な副作用を認めないこと予想される。そこで、本研究ではmPGES-1/PGE $_2$ 経路が、顔面神経内の神経炎症に対し、症状の増悪化に関与している可能性を想定し、mPGES-1を標的分子とした治療戦略が、ステロイド療法より副作用の少ない、より有用な治療法となる可能性を秘めていると作業仮説をたてた。

## 3. 研究の方法

本研究では、末梢性顔面神経麻痺の神経損傷部位においてmPGES-1/PGE $_2$ 経路が、症状の増悪化に関与していることを作業仮説とし、以下の方法で研究を実施した。

### (1) 顔面神経麻痺の発症と回復過程に関わるPGsの産生とPGES分子種の同定の解析

Balb/c系マウス(5~7週令、雄)に麻酔下でマウス右耳下を開創し、右側頭骨外顔面神経を剖出した後、顔面神経本幹をMosquito止血鉗子(幅1mm)で30秒圧迫し(圧迫圧4-8MPa)、圧迫控滅することでマウス顔面神経麻痺モデルを樹立した。麻痺の評価には、顔面

神経麻痺の臨床スコア(瞬きと髭の動き)と鼻周辺の弛緩率を因子とし、顔面神経麻痺の回復過程を17日間、連日評価した。また圧迫控滅後、3、7、14日後に固体を安楽死処理し、顔面神経組織サンプルを摘出し、PGsの含有量と各PGESのmRNA発現量を解析した。

### (2) mPGES-1遺伝子改変マウスを用いた顔面神経麻痺モデルの解析

申請者がすでに樹立し保持しているmPGES-1遺伝子欠損(KO)マウスと各対照マウスを用いて、上述と同様の解析を行い、mPGES-1欠損時での顔面神経麻痺の障害や回復過程を対照マウスと比較検討した。

### (3) NSAIDs投与による顔面神経麻痺の回復過程に与える影響の解析

常法に従い顔面神経麻痺を発症させたBalb/c系マウス(5~7週齢)に対し、NSAIDs投与群としてインドメタシン5mg/kgまたは0.5mg/kgを術前及び3日おきに継続投与し、麻痺側の臨床スコアと鼻周辺の弛緩面積を指標に麻痺の回復過程を対照群(生理食塩水投与群)と比較検討した。

### (4) NSAIDs投与による顔面神経麻痺の回復過程において神経再生に関わる因子の発現検討

常法に従い顔面神経麻痺を発症させたBalb/c系マウス(5~7週齢)に対し、NSAIDs投与群としてインドメタシン5mg/kgを術前及び3日おきに継続投与し、施術後7、14日目における圧迫控滅した神経組織中の神経再生に関わる各種因子の発現を比較検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 顔面神経麻痺の発症と回復過程に関わるPGsの産生とPGES分子種の同定の解析結果

Balb/c系マウスの右側頭骨外顔面神経本幹を圧迫控滅し顔面神経麻痺を発症させ、麻痺側の臨床スコアと鼻周辺の弛緩面積を指標にして麻痺の回復過程を対照群と比較検討した。その結果、圧迫控滅処理群の右顔面片麻痺は術後3日目より回復傾向を示し、術後14日目には完全な回復を認めた。また施術後3、7、14日目でPGE $_2$ とPGF $_{2\alpha}$ の有意な産生亢進が観察され、その産生変動は麻痺の回復過程と相関した(図1)。さらに圧迫控滅した神経組織中ではCOX-2及びmPGES-1 mRNAの発現亢進が認められ、その他の関連酵素の発現変動はみられなかった。以上より、圧迫控滅後の顔面神経の再生過程にCOX-2/mPGES-1経路により産生されたPGE $_2$ またはPGF $_{2\alpha}$ の寄与が示唆された。

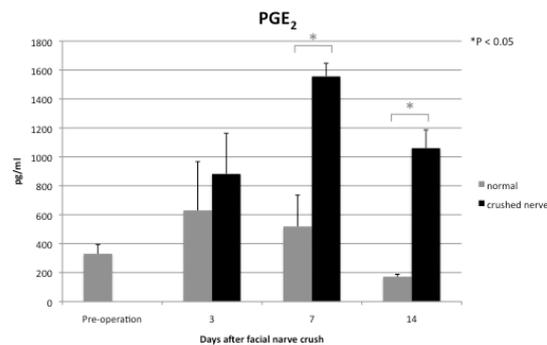


図1 圧迫挫滅後の神経組織におけるPGE<sub>2</sub>産生の亢進

#### (2) mPGES-1 遺伝子欠損マウスを用いた顔面神経麻痺モデルの解析結果

申請者がすでに樹立し保持している mPGES-1 遺伝子欠損 (KO) マウスと対照マウス (WT) を用いて、顔面神経本幹の圧迫挫滅後の麻痺の回復過程を比較検討した結果、麻痺側の臨床スコアと鼻周辺の弛緩面積の両指標において、両マウス群で顕著な違いは観察されなかった。

#### (3) NSAIDs 投与による顔面神経麻痺の回復過程に与える影響の解析結果

NSAIDs 投与群は、対照群と比較して、麻痺の臨床スコアと鼻周辺の弛緩面積のどちらの指標においても、麻痺からの回復が亢進する傾向が認められた。なお、鼻周辺の弛緩面積の指標においては、NSAIDs の投与量 5 mg/kg と 0.5 mg/kg で麻痺の回復亢進に対し、濃度依存性も認められた。(図 2)

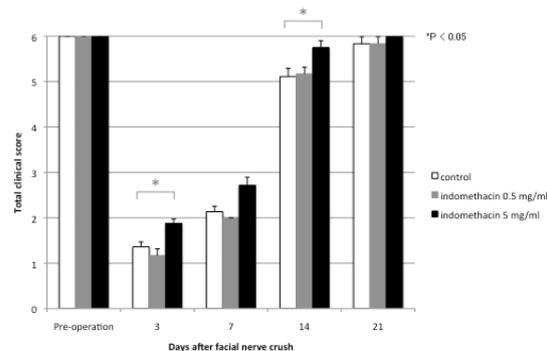


図2 NSAIDs投与による顔面神経麻痺の回復の亢進

#### (4) NSAIDs 投与による顔面神経麻痺の回復過程において神経再生に関わる因子の発現検討の結果

圧迫挫滅した神経組織中での神経再生に関わる因子の mRNA 発現をリアルタイム RT-PCR で検討した結果、施術後 14 日において、NSAIDs 投与群では、対照群と比較して、脳由来神経栄養因子 (BDNF) と神経栄養因子 Neurotrophin 3 (NT3) の mRNA 発現亢進が認められた。一方、施術後 7 日においては、BDNF mRNA の発現亢進傾向は認めるものの、NT3 mRNA 発現については両群で顕著な差は認め

られなかった。

以上より、末梢性顔面神経麻痺の回復過程において、神経炎症に起因する PGE<sub>2</sub> 産生を NSAIDs 投与により抑制することで、顔面神経の回復に重要な BDNF または NT3 の産生が増大し、顔面神経麻痺の回復が亢進する可能性が強く示唆された。

本研究成果により、顔面神経麻痺の重症化を防ぐために重要な急性期の治療において、今後、PGE<sub>2</sub> 阻害を標的とした新たな治療戦略が、ステロイド療法より副作用の少ない、より有用な治療法となることが期待される。

#### 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 6 件)

(1) Akitake Y, Nakatani Y, Kamei D, Hosokawa M, Akatsu H, Uematsu S, Akira S, Kudo I, Hara S, Takahashi M. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is induced in alzheimer's disease and its deletion mitigates alzheimer's disease-like pathology in a mouse model. *J Neurosci Res*. (2013) 29. doi: 10.1002/jnr.23217. (査読有り)

(2) Kiuchi Y, Masuda Y, Kamei D, Kogo M, Nakamura A. Advanced curriculum for clinical assessment and skill in new age pharmacist education. *Yakugaku Zasshi*. (2013) ;133(2):231-41. Japanese. (査読有り)

(3) Kuroki Y, Sasaki Y, Kamei D, Akitake Y, Takahashi M, Uematsu S, Akira S, Nakatani Y, Kudo I, Hara S. Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 protects neuronal cells from cytotoxic effects of  $\beta$ -amyloid peptide fragment 31-35. *Biochem Biophys Res Commun*. (2012) 3:424(3):409-13. doi:10.1016/j.bbrc.2012.06.121. (査読有り)

(4) Sasaki Y, Kamei D, Ishikawa Y, Ishii T, Uematsu S, Akira S, Murakami M, Hara S. Microsomal prostaglandin E synthase-1 is involved in multiple steps of colon carcinogenesis. *Oncogene*. (2012) 14:31(24):2943-52. doi:10.1038/onc.2011.472. (査読有り)

(5) H. Sato, Y. Isogai, S. Masuda, Y. Taketomi, Y. Miki, D. Kamei, S. Hara, T. Kobayashi, Y. Ishikawa, T. Ishii, K. Ikeda,

R. Taguchi, Y. Ishimoto, N. Suzuki, Y. Yokota, K. Hanasaki, T. Suzuki-Yamamoto, K. Yamamoto, M. Murakami. Physiological roles of group X-secreted phospholipase A2 in reproduction, gastrointestinal phospholipid digestion, and neuronal function. *J Biol Chem.* (2011) 286: 1632-11648. (査読有り)

(6) N. Ueno, Y. Taketomi, K. Yamamoto, T. Hirabayashi, **D. Kamei**, Y. Kita, T. Shimizu, K. Shinzawa, Y. Tsujimoto, K. Ikeda, R. Taguchi, M. Murakami. Analysis of two major intracellular phospholipase A2s in mast cells reveals crucial contribution of cPLA2{alpha}, not iPLA2{beta}, to lipid mobilization in proximal mast cells and distal fibroblasts. *J Biol Chem.* (2011) 286 : 37249-37263. (査読有り)

[学会発表] (計5件)

(1) 竹本伊織、**亀井大輔**、佐久間莉乃、丸山梨詠、江崎伸一、村上信吾、小島章嗣、岩井信市、増田豊、末梢性顔面神経麻痺の重症化における神経炎症の影響、第56回日本薬学会 関東支部大会 2012年10月、東京

(2) 佐久間莉乃、**亀井大輔**、竹本伊織、丸山梨詠、江崎伸一、村上信吾、増田豊、NSAIDs投与によるマウス顔面神経麻痺モデル回復過程の解析、日本薬学会 第132年会 2012年3月、札幌

(3) 竹本伊織、**亀井大輔**、佐久間莉乃、丸山梨詠、江崎伸一、村上信吾、増田豊、マウス末梢性顔面神経麻痺モデルの樹立と解析、日本薬学会 第132年会 2012年3月、札幌

(4) **亀井大輔**、膜結合型プロスタグランジンE合成酵素をターゲットとした新たな消炎鎮痛薬の可能性、第9回 昭和ペインクリニックシンポジウム 2011年10月、東京

(5) 佐々木由香、**亀井大輔**、松本このみ、田村夏紀、上山修平、原俊太郎、プロスタグランジン最終合成酵素、mPGES-1 およびPGIS二重欠損マウスの性状解析、日本脂質生化学会 第53年会 2011年5月、東京

[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

亀井 大輔 (KAMEI DAISUKE)  
昭和大学・薬学部・講師  
研究者番号：80515651

(2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号：