

令和元年6月13日現在

機関番号：34509

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10988

研究課題名(和文) 脳卒中後疼痛の発症機序における HMGB1-RAGE 系の関与

研究課題名(英文) The involvement of HMGB1-RAGE on the development of central post-stroke pain

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) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、これまでに申請者が確立したCPSPを模倣する全脳虚血モデルを用いて、CPSPに対するHMGB1-RAGE系の関与について検討した。BCAO後に生じる機械的アロディニアは、脊髄においてHMGB1がTLR4およびRAGEを介してNOS機構を制御することによって発現することが示唆された。しかしながら、HMGB1/TLR4機構にはグリア細胞が関与しているが、HMGB1/RAGE機構にはその関与は低いことも明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳卒中後疼痛は、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が、現在それに対する有益な薬物療法は確立されていない。本研究結果から、BCAO後に生じる機械的アロディニアの発症機構に、脊髄HMGB1の増加が関与していることを明らかにした。脳虚血領域ではない脊髄レベルにおいて、このような変化が生じ疼痛の惹起に関与しているとの研究成果は、脳卒中後疼痛の新たな治療戦略の一助となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated whether the interaction between spinal glial cells and HMGB1 signaling is directly involved in the induction of CPSP. Spinal HMGB1 expression increased on day 3 after bilateral carotid artery occlusion (BCAO). Intrathecal (i.t.) injection of LPS-RS and LMWH significantly blocked mechanical allodynia on day 3 after BCAO. BCAO-induced activation of spinal microglia and astrocyte were suppressed by i.t. anti-HMGB1 monoclonal antibody (mAb) and LPS-RS administration. In addition, i.t. injection of a nonselective nitric oxide synthetase (NOS) inhibitor significantly blocked mechanical allodynia on day 3 after BCAO and i.t. administration of anti-HMGB1 mAb, LPS-RS, and LMWH significantly inhibited the increase of NOS activity in the spinal cord on day 3 after BCAO. These results showed that the interaction between spinal glial cells and HMGB1/TLR4/NOS or HMGB1/RAGE/NOS is directly involved in the induction of CPSP.

研究分野：疼痛

キーワード：脳卒中後疼痛 HMGB1 脳虚血

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脳卒中後疼痛 (central post-stroke pain: 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。しかしながら、現在それに対する有益な薬物療法は確立されていない。最近、核内 DNA 結合タンパク質である high mobility group box-1 (HMGB1) およびその受容体の一つである receptor for advanced glycation end products (RAGE) が神経障害性疼痛の発症に関わる重要な因子の一つであることが見出された。HMGB1 は、さまざまな炎症性疾患に関与することが知られているが、CPSP に対する作用は未だ不明である。そこで本研究は、これまでに申請者が確立した CPSP を模倣する全脳虚血モデルを用いて、CPSP に対する HMGB1-RAGE 系の関与について検討した。

### 2. 研究の目的

脳卒中後疼痛に対する HMGB1 および RAGE の関与:脳虚血モデルの作成には、すでに我々が確立している全脳虚血法を用い、脳虚血ストレス負荷後において、抗 HMGB1 中和抗体または RAGE のアンタゴニストを脳室内、または尾静脈内投与し、機械的または熱的刺激による疼痛への影響を、行動薬理的に解析した。

脳虚血ストレス負荷後の HMGB1 および RAGE の発現変化の解析:疼痛発症に関連する中枢領域 (中脳、延髄、脊髄) 末梢領域 (坐骨神経) あるいは、血清中における HMGB1 および RAGE の定量的解析を western blot 法および ELISA 法によって解析した。さらに、各組織の凍結切片を作成し、蛍光組織染色法を用いて、量的変化を視覚的に評価した。

脳卒中後疼痛の発症に対する HMGB1 / RAGE シグナル系の関与を明らかにするため、各種阻害剤を用い、HMGB1 / RAGE シグナル系の活性化によって変化する下流シグナルについて検討した。

脳卒中疼痛発現における脳・脊髄におけるグリア細胞と炎症性サイトカインの関与を明らかにするため、脳虚血モデルマウスにおいて、脳、脊髄レベルでのグリア細胞 (アストロサイト、ミクログリア) の活性変化を組織化学的に解析した。

### 3. 研究の方法

#### 3-1. 実験動物

5週齢 (体重 25-30 g) の ddY 系雄性マウス (日本 SLC、静岡、日本) を購入し、温度 24 °C、湿度 55±5% の環境下において明暗サイクルが 12 時間 (AM 8:00 点灯、PM 8:00 消灯) の室内にて各プラスチックケージで飼育した。なお、固形飼料 (オリエンタル酵母、東京、日本) と水は自由に摂取させ、体重が 25-30 g になったものを実験に供した。全ての実験は、日本薬理学会が策定する動物実験に関する指針に従い、また、神戸学院大学動物委員会の承認を得て行った (承認番号: A16-10)。

#### 3-2. 一過性全脳虚血モデルマウスの作製

一過性全脳虚血モデルマウスの作成は、Kim らの方法に従い、これを改変して行った。具体的には、pentobarbital (64.8 mg/kg; 共立製薬株式会社、東京、日本) を生理食塩水 (大塚、大阪、日本) で使用直前に 60 mg/kg に希釈し、腹腔内投与による全身麻酔下にて、両側総頸動脈結紮法 (bilateral carotid arteries occlusion; BCAA) を用いて作製した。Pentobarbital によって麻酔したマウスの前歯に固定板の糸をかけ、仰臥位に固定した。頸部を正中線で切開し、組織を丁寧に剥離し両体側頸部の筋肉を外に引き出し、動脈クレンメで固定した。次に、両側の総頸動脈 (common carotid artery; CCA) を迷走神経と剥離し、杉田式動脈瘤クリップ (保持圧 150 g) を用いて閉塞した (虚血)。虚血 30 分後、杉田式動脈瘤クリップを取り外し総頸動脈に血流を回復させ (再灌流)、これを脳虚血ストレス負荷とした。頸部の切開部を 3 針縫合し、マウスをホームケージに戻した。偽手術 (sham surgery; sham) は杉田式動脈瘤クリップを用いて両側の CCA を閉塞しないものとし、その他は BCAA モデルマウス作製時と同様に行った。

#### 3-3. 機械的アロディニアの評価: von Frey filament test (機械的刺激)

機械的刺激に対する痛覚閾値の測定は、Takami らの方法に従った。マウスを金属メッシュの上に置き、透明プラスチックケースをかぶせた状態で 60 分間アダプテーションさせた。自発運動の消失を確認後、touch test filament (Semmes-Weinstein von Frey Anesthesiometer, 室町機械株式会社、東京、日本) のうち、0.4 g の filament を用いた。マウスの後肢腹側中心部に、各 filament を少し曲がるまで垂直に押し当て、6 秒間の刺激に対する、後肢を上げる、後肢を

舐めるなどの逃避反応を観察した。具体的には、filament で刺激を与える操作を 10 回繰り返して、逃避反応を記録した。なお、機械的アロディニアの評価は、脳虚血ストレス負荷 3 日後に実施した。

#### 3-4. 試薬および投与方法

BCAO 3 日後に lipopolysaccharides from *Rhodobacter sphaeroides* (LPS-RS (5 and 10  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}/\text{mouse}$ ), a TLR4 antagonist, InvivoGen, San Diego., CA., USA), low-molecular-weight heparin (LMWH ((20, 40, and 70  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}/\text{mouse}$ ), a RAGE antagonist, Kissei pharmaceutical, Nagano, Japan), anti-HMGB1 monoclonal antibody (mAb) (20  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}/\text{mouse}$ ) or IgG2a, 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 薬理学教室の教授 西堀正洋先生より分与していただいた), NG-nitro-L-arginine methyl ester [a nonselective nitric oxide synthetase (NOS) inhibitor (100 and 300  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}/\text{mouse}$ )] (Sigma-Aldrich, MO, USA) を脊髄腔内投与 (intrathecal administration, 以下 i.t. とする) し、10, 20, 30 または 60 分後の機械的刺激に対する疼痛評価を行った。

#### 3-5. 脊髄および脳各組織抽出液の調製

マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、後脊柱を摘出し、氷冷下で脳領域である中脳、延髄をそれぞれ採取した。Homogenize buffer [20 mM Tris-HCl (pH 7.5), 120 mM NaCl, 4% tween-20, 2 mM  $\beta$ -mercaptoethanol, 1 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 5 mM benzamidine, 20 mM NaF, 1 mM p-nitrophenyl phosphate, 5 mM imidazole] に 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  trypsin inhibitor, 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  leupeptin, 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  aprotinin, 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  pepstatin, 1mM phenylmethanesulfonyl fluoride を添加し、採取した延髄、中脳は、それぞれ 100  $\mu\text{l}$  中で破碎し、均質化した (25 ストロークモホジナイズ)。懸濁液を遠心分離 (15,000 g, 4、5 min) し、得られた上清を回収した。

中脳、延髄より得られた上清から 2  $\mu\text{l}$  を分取し、それに対して滅菌水 98  $\mu\text{l}$  を加えて 50 倍希釈し、Lowry 法 (DC protein Assay kit、BIO-RAD、CA、U.S.A.) によりタンパク質量を測定した。また、残りの上清から 80  $\mu\text{l}$  を分取し、2  $\times$  sodium dodecyl sulfate (SDS) sample buffer [0.1 M Tris-HCl (pH 6.8), 4% SDS, 12%  $\beta$ -mercaptoethanol, 20% glycerol, 0.004% bromophenol blue] 80  $\mu\text{l}$  を混合した。さらに、タンパク質量で得られた結果をもとに、その混合したものが 10  $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$  (1 mg/mL) となるように 1  $\times$  SDS sample buffer で調製し、これを 97、3 分間加温し、速やかに氷冷したものを western blot 用サンプルとした。

#### 3-6. Western blot 法によるタンパク質発現量の解析

中脳および延髄から採取したタンパク質は、7.5% ポリアクリルアミドゲルを用いて、SDS-polyacrylamide gel electrophoresis により分離した。泳動条件として、120 V、80 分とし、マーカーとして Precision Plus Protein Standards Kaleidoscope (BIO-RAD) を用いた。電気泳動後、タンパク質は semi-dry transfer 法によって nitrocellulose 膜に転写した。転写条件として、15 V、50 分で行った。TLR 4 および glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH; 37 kDa) の検出には blocking buffer [TBS 20 mL, 0.1% tween 20, 5% blocking reagent (和光純薬工業株式会社、大阪、日本) 1.0 g] 中で 1 時間室温において振盪させた。その後、TLR4 抗体は mouse TLR4 monoclonal antibody (1:500; Abcam, California, USA)、および GAPDH (37 kDa) は mouse anti-GAPDH monoclonal antibody (1:20,000; Chemicon, CA, U.S.A.) を 4 で一晩反応させた。その後、TLR 4 と GAPDH (37 kDa) は、TBS-T (TBS, 0.1% tween 20) で 3 分ごとの洗浄を 10 回行った。続いて、二次抗体として、TLR 4 は horseradish peroxidase (HRP) -labeled affinity purified antibody to mouse IgG+IgM (H+L) (1:1,000; Kirkegaard and Perry Laboratories, Guildford, UK) を、GAPDH は HRP-labeled affinity purified antibody to mouse IgG+IgM (H+L) (1:10,000; Kirkegaard and Perry Laboratories) を室温で 1 時間反応させたのち、TBS-T (TBS 20 mL, 0.1% tween 20) で 3 分ごとの洗浄を 10 回行った。その後、二次抗体に結合した HRP と反応する化学発光増強基質 (ECL<sup>TM</sup>, GE Healthcare, Buckinghamshire, England) の No.1 液と No.2 液を等量混合した液を加えて室温で TAP4 または GAPDH は 1 分間反応させた。免疫活性バンド検出は、Light-Capture (ATTO, 東京、日本) により行った。検出されたバンドは Cs-Analyzer (ver. 3.0, ATTO) により解析した。得られた TLR4 のバンドの強度は GAPDH (37 kDa) のバンドにて補正した。なお、脊髄での TLR4 の発現変動の解析は、脳虚血ストレス負荷 3 日後に実施した。

#### 3-7. 脊髄切片作製

BCAO 3 日後の脊髄は、4% パラホルムアルデヒド溶液 (SIGMA-ALDRICH) を用いて組織を固定した。10%、20% スクロース (ナカライテスク株式会社、京都、日本) に置換後、ドライアイスを含むアセトン (SIGMA-ALDRIC) 溶液下にて OCT コンパウンド (サクラテックジャ

パン、東京、日本)を用いて包埋した。凍結切片の作製にはクリオスタット (CM1860、Leica Microsystems、東京、日本)を用いて脊髄は 15  $\mu\text{m}$ 、に薄切し、組織標本とした。

### 3-8. 蛍光免疫組織染色

蛍光二重免疫組織染色は、中本らの蛍光免疫染色法を参考にプロトコールを作製し、プロトコールに従って行った<sup>13)</sup>。凍結保存した切片を室温にて 10~20 分間風乾した後、4% ホルマリン溶液 (Wako) にて 15 分間の後固定を行った。後固定後、PBST [(PBS; phosphate buffered saline、pH 7.2) + 0.1% Tween20] を用いて5 分ごとの洗浄を 3 回行った。続いて組織の周りを撥水ペン (Dako pen、ダコ・ジャパン株式会社、東京、日本) で囲い、3% BSA (bovine serum albumin、SIGMA-ALDRICH、東京、日本) にて 1 時間ブロッキングを行った。ブロッキング後、一次抗体を添加した。一次抗体としては、HMGB1 (anti-rat HMGB1 monoclonal antibody; 1:200; supplied from Dr. Nishibori, Okayama University, anti-mouse HMGB1 monoclonal antibody; 1:50; R&D Systems Inc., Minneapolis, MN), NeuN (anti-mouse NeuN monoclonal antibody; 1:1000; EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA), GFAP (anti-mouse GFAP monoclonal antibody; 1:1000; EMD Millipore Corporation), and Iba1 (anti-rabbit Iba1 polyclonal antibody; 1:1000; Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) を用いた。それぞれの一次抗体、二次抗体は 1% BSA (SIGMA-ALDRICH) を含む PBS 溶液中にてそれぞれ希釈した。抗体添加後、4  $^{\circ}\text{C}$  で 1 日間オーバーナイトし、その後、60 分間室温に置き、PBST で5 分ごとの洗浄を 3 回行った。洗浄後、二次抗体 (1:200、Alexa fluoro 488; donkey polyclonal anti-rabbit IgG, Life Technologies, Alexa Fluor 594 (donkey polyclonal anti-rat IgG, goat polyclonal anti-mouse IgG; 1:200; Life Technologies Corporation) を添加し、遮光下、室温にて 2 時間インキュベートを行った。続いて、遮光下にてPBST で 5 分ごとの洗浄を 3 回行った。核染色は、DAPI (doubling dilution; Cosmo Bio Co., Ltd., Tokyo, Japan) を使用した。洗浄後、Fluoromount/Plus (Dianostic Biosystems, Pleasanton, Canada) と MAS-coated glass slide (S9115、Matsunami Glass、大阪、日本) を用いて封入を行った。その後、4  $^{\circ}\text{C}$  で 1 日風乾させた後、共焦点レーザー顕微鏡 (FV1000、OLYMPUS、東京、日本) を用いて観察を行った。

### 3-8. NOS 活性

NOS の活性化は、BCAO3 日後の脊髄 L4-L6 のサンプルを使用し、Ultrasensitive Colorimetric Nitric oxide synthase assay kit (Oxford Biomedical Research, MI, U.S.A.) を用いた。

### 3-9. 統計学的処理

機械的刺激に対する逃避行動回数に対する反応性の評価には、ANOVA、Tukey-test を用いて統計学的解析を行った。脳各部位の western blot 法によるタンパク質発現量の評価には、F 検定、Student's *t*-test を用いて統計学的解析を行った。いずれも有意差は、危険率 5% を基準とし、平均  $\pm$  標準誤差 (standard error of the mean: S.E.M.) として表した。

## 4. 研究成果

BCAO 3 日後の機械的刺激に対する逃避行動回数は、sham 群と比べて、有意に増加した。この条件下、BCAO の脊髄 HMGB1 の蛋白質発現は sham 群と比較して有意に増加した。これらの結果から、BCAO 後に生じる機械的アロディニアに、脊髄における HMGB1 が関与している可能性が示唆された。

同条件下、抗 HMGB1 中和抗体の脊髄腔内投与は、有意に BCAO による機械的刺激に対する逃避行動回数の増加を抑制した。同様に、TLR4 アンタゴニスト lipopolysaccharide from the photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides* (LPS-RS)、RAGE アンタゴニスト low-molecular weight heparin (LMWH) または、非選択的 NOS 阻害剤  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) の脊髄腔内投与によっても、BCAO 3 日後に認められていた逃避行動回数の増加は、有意に減少した。これらの結果から、BCAO 後によって生じる機械的アロディニアに、脊髄における TLR4 や RAGE および NOS が少なくとも一部関与していることが示された。

さらに、BCAO 3 日目の脊髄では、アストロサイトマーカーの GFAP およびミクログリアマーカーの Iba-1 が sham 群と比較して有意に増加していることを明らかにした。BCAO 3 日後の脊髄において認められたグリア細胞の活性化は、抗 HMGB1 抗体 および LPS-RS の脊髄腔内投与によって、有意に抑制されたが、LMWH の脊髄腔内投与では抑制されなかった。これらの結果は、BCAO 後の脊髄において認められるグリア細胞の活性化には、HMGB1/TLR4 機構が関与しているが、HMGB1/RAGE 機構の関与は低いことを示している。

BCAO 3 日後の脊髄において、NOS 活性が sham 群と比べて有意に上昇した。この活性の増加は、抗 HMGB1 抗体、LPS-RS または、LMWH の脊髄腔内投与によって、有意に抑制されたことから、BCAO 後の脊髄において認められる NOS 活性の上昇は、HMGB1/TLR4 および HMGB1/RAGE 機構が関与していることが考えられた。

以上の結果から、BCAO 後に生じる機械的アロディニアは、脊髄において HMGB1 が TLR4 および RAGE を介して NOS 機構を制御することによって発現することが示唆された。しかしながら、HMGB1/TLR4 機構にはグリア細胞が関与しているが、HMGB1/RAGE 機構にはその関与は低いことも明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- 1) Wataru Matsuura, Shinichi Harada, Katsuyaku Liu, Masahiro Nishibori, Shogo Tokuyama, Evidence of a role for spinal HMGB1 in ischemic stress-induced mechanical allodynia in mice, Brain Res., 1687, 1-10, 2018.

〔学会発表〕(計 13 件)

(国内)

- 1) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脊髄における high mobility group box-1 が全脳虚血誘導性機械的アロディニアに及ぼす影響」, 『第 46 回日本精神神経薬理学会年会』, ソウル, 2016 年 7 月 2 日-3 日 (ポスター)
- 2) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「全脳虚血誘導性機械的アロディニアに対する脊髄 High mobility group box - 1 の関与」, 『第 36 回鎮痛薬オピオイドペプチドシンポジウム』, 北海道, 2016 年 8 月 19-20 日 (口頭・ポスター)
- 3) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脳卒中後疼痛に対する脊髄での high mobility group box-1 の関与」, 『第 3 回包括的緩和医療科学学術研究会・第 4 回 Tokyo 疼痛緩和次世代研究会』, 東京, 2016 年 8 月 28 日 (口頭)
- 4) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脊髄 high mobility group box-1 (HMGB1) を介した脳卒中後疼痛発症機序における脊髄 HMGB1 関連受容体とグリア細胞の関与」, 『痛み研究会 2016』, 愛知, 2017 年 1 月 30-31 日 (口頭)
- 5) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脳卒中後疼痛発現時の脊髄での high mobility group box-1 関連受容体の役割とその機序におけるグリア細胞の関与」, 『第 90 回日本薬理学会年会』, 長崎, 2017 年 3 月 15-17 日 (口頭)
- 6) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脳卒中後疼痛における脊髄の high mobility group box-1/nitric oxide synthetase シグナルの関与」, 『第 131 回日本薬理学会近畿部会』, 名古屋, 2017 年 6 月 30 日 (口頭)
- 7) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脳卒中後疼痛における脊髄の high mobility group box-1/nitric oxide synthetase シグナル変動の関与」, 『第 4 回包括的緩和医療科学学術研究会・第 5 回 Tokyo 疼痛緩和次世代研究会』, 東京, 2017 年 8 月 27 日 (ポスター)
- 8) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脳卒中後疼痛に対する脊髄 HMGB1 関連受容体シグナルおよびグリア細胞の関与」, 『第 132 回日本薬理学会近畿部会』, 大阪, 2017 年 11 月 24 日 (口頭)
- 9) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脳卒中後疼痛に対する脊髄 HMGB1 関連受容体シグナルおよびグリア細胞の関与」, 『第 138 回日本薬理学会関東部会』, 東京, 2018 年 3 月 10 日 (口頭)
- 10) 松浦 渉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学 ) 「脳卒中後疼痛に対する脊髄 HMGB1 およびその関連受容体の関与」, 『第 133 回日本薬理学会近畿部会』, 広島, 2018 年 6 月 1 日 (口頭)
- 11) 松浦 渉<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医

歯薬・薬理学)「脳卒中後疼痛の発現に対する脊髄 HMGB1 シグナル系の関与」、『第 5 回包括的緩和医療科学学術研究会・第 6 回 Tokyo 疼痛緩和次世代研究会』、東京、2018 年 8 月 26 日 (口頭)

(国外)

- 1) 松浦 涉<sup>1</sup>, 原田 慎一<sup>1</sup>, 劉 克約<sup>2</sup>, 西堀 正洋<sup>2</sup>, 徳山 尚吾<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>神戸学院大薬・臨床薬学, <sup>2</sup>岡山大院医歯薬・薬理学)「Involvement of spinal high mobility group box-1 on the central post-stroke pain」、『第 30 回国際神経精神薬理学会ソウル大会 (The International College of Neuropsychopharmacology (CINP) 』、ソウル、2016 年 7 月 3 日-5 日 (ポスター)
- 2) Wataru Matsuura<sup>1</sup>, Keyue Liu<sup>2</sup>, Masahiro Nishibori<sup>2</sup>, Shogo Tokuyama<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>Dept. Clinic. Pharm., Sch. Pharmaceu. Sci., Kobegakuin Univ., <sup>2</sup>Dept. Pharmacol. Okayama Univ. Grad. Sch. Med., Dent. Pharmacol. Sci. )「Specific action mediated by spinal HMGB1 signaling in the ischemic stress-induced mechanical allodynia in mice」、『SFN2018』、San Diego、2018 年 11 月 3 日-7 日 (ポスター)

〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：中本賀寿夫  
ローマ字氏名：NAKAMOTO KAZUO  
所属研究機関名：神戸学院大学  
部局名：薬学部  
職名：講師  
研究者番号 (8 桁)：30432636

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。