#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 3 年 6 月 1 8 日現在

機関番号: 24303 研究種目: 若手研究(B) 研究期間: 2017~2020

課題番号: 17K16746

研究課題名(和文)ストレス性高カテコラミン血症が術後遷延痛を引き起こすメカニズムの解明

研究課題名(英文)Contribution of stress-induced hypercatecholamine state for the development of postoperative chronic pain

### 研究代表者

山崎 正記 (Yamasaki, Masaki)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号:20771520

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3.100,000円

研究成果の概要(和文):カテコラミン分解酵素COMT阻害剤を腹腔内投与し、カテコラミン濃度が上昇していることを確認した。行動解析の結果、高カテコラミン血症モデルでは痛覚過敏が発現することを確認した。beta2アドレナリン受容体は後根神経節の小型神経細胞に発現し、高カテコラミン血症モデルでは発現が上昇した。beta2アドレナリン受容体拮抗薬は高カテコラミン血症による痛覚過敏に対し明らかな影響を生じなかった。受 容体シグナル制御に関与するGRK2は高カテコラミン血症モデルにおいて増加する傾向を示したが、統計学的に有意な変化は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義慢性ストレスは放置すると慢性痛を引き起こしやすく、ストレス誘引性の慢性痛は原因が明らかでなく難治性である。持続的な高カテコラミン血症は慢性ストレス疾患によく観察される症状の一つである。本研究において、高カテコラミン血症が痛覚閾値に影響をあたえ痛覚過敏を誘発することが示された結果、ストレス誘引性慢性痛の治療法に新しい視点をで表えることができた。今後、高カテコラミン血症が痛覚過敏を引き起こす分子メカニ ズムの解明を行う予定である。

研究成果の概要(英文): Catecholamine-degrading enzyme COMT inhibitor was administered intraperitoneally. Behavioral analysis showed that hyperalgesia developed in the hypercatecholaminergic model. beta2 adrenergic receptors are expressed in small neurons of the dorsal root ganglia and their expression was increased in the hypercatecholaminergic model. The beta2 adrenergic receptor antagonists had no apparent effect on hyperalgesia caused by hypercatecholaminemia. GRK2, which is involved in the regulation of receptor signaling, tended to increase in the hypercatecholaminergic model, but the change was not statistically significant.

研究分野: 疼痛治療学

キーワード: 高カテコラミン血症

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、研究者個人に帰属します。

## 1.研究開始当初の背景

ストレス環境に暴露されると交感神経が興奮し 高カテコラミン血症となる。カテコラミン濃度が持続的に高い状態が続くことは、心不全、糖尿病などを惹起するだけでなく、ガンの発症にも影響を及ぼすことが示唆されている。

一次知覚神経にも beta アドレナリン受容体が発現し、beta アドレナリン受容体刺激薬の局所投与によって痛覚過敏が誘発されるなど、さまざまな形でカテコラミンが痛覚伝達に影響を及ぼすことが示唆されている、しかしながら、持続する高カテコラミン血症が痛覚伝達に及ぼす影響は十分に解明されていない。

# 2.研究の目的

本研究は高カテコラミン血症における一次知覚神経のアドレナリン受容体の働きを解明することを目的とした。

このため、ラット高カテコラミン血症モデルを作成し、行動解析法により、その痛覚閾値を測定して痛覚過敏の有無を観察しつつ、一次知覚神経におけるアドレナリン受容体の発現変化を調査する。 さらには、アドレナリン受容体拮抗薬の痛覚閾値に与える影響を解析した

# 3.研究の方法

# (1)高カテコラミン血症モデルの作成

雄性 SD ラットを実験に用いた。血中カテコラミン濃度を上昇させるため、カテコラミン分解酵素である COMT の阻害剤を腹腔内投与したのちに、カテコラミン血中濃度を ELISA によって測定した。

同時に、行動解析を行い、von Frey フィラメントによる機械刺激に対し逃避反応を示す閾値と radiant heat 刺激に対し逃避反応を示すまでの潜時を測定、痛覚閾値を決定することでモデル 動物における痛覚過敏の有無を評価した。

(2)知覚神経におけるアドレナリン受容体の発現

免疫組織化学法とウェスタンブロッティング法により、beta2 アドレナリン受容体の一次知覚神経における発現を解析し、高カテコラミン血症モデルラットにおける beta2 アドレナリン受容体の発現変化を解析した。

(3)アドレナリン受容体拮抗薬による痛覚閾値の変化

高カテコラミン血症モデルに対して beta2 アドレナリン受容体拮抗薬を投与し、行動解析によって機械痛覚過敏、熱痛覚過敏の変化を観察した。

(4) G タンパク受容体キナーゼ(GRK)2 の発現変化

beta アドレナリン受容体の下流で受容体シグナル制御に関与する GRK2 の後根神経節における 発現を免疫組織化学法ならびにウェスタンブロッティング法を用いて調査するとともに、高カ テコラミン血症モデルラットの後根神経節における GRK2 の発現変化を観察した。

# 4. 研究成果

# (1)高カテコラミン血症モデルの作成

カテコラミン分解酵素である COMT の阻害剤を腹腔内投与し、血液を採取してカテコラミン血中濃度を測定したところ、阻害剤投与群においてノルアドレナリンなどのカテコラミン濃度が上昇していることが観察され、高カテコラミン血症モデルの確立が確認できた。

行動解析の結果、高カテコラミン血症モデルでは機械刺激に対する逃避反応閾値の低下と、熱刺激に対する逃避潜時の短縮を認め、機械痛覚過敏と熱痛覚過敏が発現することを確認した。

これらの結果から、COMT 阻害剤投与モデルは高カテコラミン血症に伴う痛覚過敏モデルとして使用することができることを確認した。

(2)知覚神経におけるアドレナリン受容体の発現

ラット後根神経節を採取し、免疫組織化学法により beta2 アドレナリン受容体の発現を確認した。beta2 アドレナリン受容体は後根神経節の小型神経細胞に発現しており、痛覚伝達との関連性が示唆された。免疫組織化学法、ウェスタンブロッティング法による beta2 アドレナリン受容体の発現定量により、高カテコラミン血症モデルでは beta2 アドレナリン受容体の発現が上昇していることを観察した。

(3)アドレナリン受容体拮抗薬による痛覚閾値の変化

高カテコラミン血症モデルラットに beta2 アドレナリン受容体拮抗薬を投与し、痛覚閾値の変化を観察した。高カテコラミン血症による痛覚過敏に対して、受容体拮抗薬は明らかな変化を生じなかった。

(4)GRK2 の発現変化

免疫組織化学法により GRK2 が後根神経節の神経細胞に発現することを確認した。免疫組織化学法、ウェスタンブロッティング法により GRK2 の定量により、その発現は高カテコラミン血症モデルにおいて増加する傾向を示したが、統計学的に有意な変化は認めなかった。これらの研究結果から、持続的な高カテコラミン血症は痛覚過敏を引き起こすことが示された。高カテコラミン血症モデルでは beta2 アドレナリン受容体の一次知覚神経における発現は増加したが、受容体拮抗薬の投与では痛覚過敏は抑制されず、痛覚過敏の分子メカニズムの解明についてはさらなる検討が必要であることがわかった。

# 5 . 主な発表論文等

「雑誌論文 〕 計2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)

「(雑誌論又」 T2件(つら宜読刊論又 1件/つら国除共者 U1+/つらオーノンアクセス 11+)		
1.著者名 Shimizu Masaru、Amaya Fumimasa、Kinoshita Mao、Yamasaki Masaki、Yokota Isao、Sawa Teiji	4.巻	
2.論文標題 Reduction of the rocuronium-induced withdrawal reflex by MR13A10A, a generic rocuronium with a novel solution: A randomized, controlled study	5.発行年 2019年	
3.雑誌名 PLOS ONE	6.最初と最後の頁 e0223947	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0223947	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	

1 . 著者名 Okamoto Akiko、Yamasaki Masaki、Yokota Isao、Mori Maiko、Matsuda Megumi、Yamaguchi Yosuke、 Yamakita Shunsuke、Ueno Hiroshi、Sawa Teiji、Taguchi Tetsuya、Hosokawa Toyoshi、Amaya Fumimasa	4.巻 Volume 11
<ul> <li>2.論文標題         Classification of acute pain trajectory after breast cancer surgery identifies patients at risk for persistent pain: a prospective observational study</li> <li>3.雑誌名         Journal of Pain Research</li> </ul>	5 . 発行年 2018年 6 . 最初と最後の頁 2197~2206
掲載論文のDOI (デジタルオプジェクト識別子) 10.2147/JPR.S171680	査読の有無無
│ オープンアクセス │	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

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