

令和 3 年 6 月 20 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08878

研究課題名(和文) 疼痛の神経メカニズムにおけるERK細胞内情報伝達機構の役割に関する包括的研究

研究課題名(英文) The role of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in pathological pain

研究代表者

川口 慎憲 (Masanori, Kawaguchi)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・病院 麻酔科・助教)

研究者番号：60614633

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：細胞外シグナル伝達キナーゼ(ERK)は脊髄において疼痛シグナルの修飾に重要な役割を担っている。しかしながら詳細なメカニズムは未だに不明な点が多い。本研究ではCre-loxPシステムを用いて中枢神経特異的にERK2またはERK5を欠損したマウスを作出し、疼痛のシグナル伝達における役割を解析した。ホルマリンを足底に投与したところ、ERK2またはERK5を欠損したマウスではどちらも疼痛行動が野生型マウスに比べて減少した。さらにERK2及びERK5を同時に欠損したマウスでは疼痛行動が相加的に減少したことから、ERK2とERK5は独立したメカニズムで炎症性疼痛のシグナル修飾に関わっていることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、脊髄においてERK2またはERK5の働きを抑えると炎症性疼痛が慢性痛へ移行することを大幅に抑制できることが解った。さらにERK2とERK5の働きを同時に抑えると慢性痛への移行はほぼ完全に消失することが解った。重要なのはERK2とERK5の働きを抑えても痛覚そのものが変化するのではなく、慢性痛への移行のみが抑えられる点である。痛みは本来、生体の警報システムとして重要な役割があるため、痛覚そのものは変化しないのが望ましい。一方、慢性痛は原因である炎症が消失しても痛みだけが残るため生理的な意味を持たない疾病であり、慢性痛への移行のみを抑えることができれば画期的な治療法となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Nervous systems are designed to become extra sensitive to afferent nociceptive stimuli under certain circumstances such as inflammation and nerve injury. Central sensitization represents enhanced pain sensitivity due to increased neural signaling within the central nervous system (CNS). Extracellular signal-regulated kinases (Erks) have received attention as key molecules in central sensitization. Here we show that Erk5 and Erk2 in the CNS play redundant and/or distinct roles in central sensitization, depending on the plasticity context (cell types, pain types, time, etc.). We used mice with Erk5 deletion specifically in the CNS and found that Erk5 plays important roles in central sensitization in a formalin-induced inflammatory pain model. Additionally, deletion of both Erk2 and Erk5 leads to greater attenuation of central sensitization in this model, compared to deletion of either isoform alone. These results suggest the elaborate mechanisms of Erk signaling in central sensitization.

研究分野：麻酔・蘇生医学

キーワード：ERK2 ERK5 ERK 疼痛 中枢性感作 ノックアウトマウス

## 1. 研究開始当初の背景

日常臨床上、「痛み」は患者の訴えの中で最も多い。我が国において慢性疼痛（\*）に悩まされている患者は1000万人を超えと言われ、社会生産性や経済的な面からも大きな損失と考えられている。慢性疼痛は薬物療法、神経ブロック療法、理学療法、作業療法などを組み合わせて治療にあたっているが、難治性であり、副作用や合併症から積極的な治療が困難である場合も多い。痛みは病気や怪我など、体の異変を警告するシステムであり、安全に生きるために必要なものである。持続する痛みはしばしば中枢神経系の可塑的变化を引き起こして慢性疼痛に移行する。通常、病気や怪我の治癒過程で痛みも鎮まっていくが、治癒しても痛みだけが残る状態が慢性疼痛である。慢性疼痛では痛みは生理学的な意味を持たず、苦痛としてだけの痛みが残るため疾病といえる。中枢神経系の可塑的变化は中枢性感作ともよばれ、そのメカニズム解明は慢性疼痛の治療法開発に重要であると考えられる。末梢神経上の侵害受容器が興奮すると脊髄を経て脳に伝達され痛みとして認識される。この痛みの伝達経路は脊髄後角で修飾を受ける。動物を用いた疼痛モデルにおいて脊髄後角における細胞外シグナル制御キナーゼ(Extracellular Signal-Regulated Kinase: Erk)1/2が中枢性感作のメカニズムに大きく関与していると言われている。ERKはMAPKファミリーに属するセリン・スレオニンキナーゼである。特にERK2とERK5が疼痛シグナルの修飾に重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。しかしながら詳細なメカニズムは未だに不明な点が多い。

(\*)国際疼痛学会(IASP)で「治療に要すると期待される時間の枠を超えて持続する痛み、あるいは進行性の非がん性疼痛に基づく痛み」と定義される(IASP Press, 209-14, 1994)。

## 2. 研究の目的

本研究ではCre-LoxPシステムを用い、脊髄を含む中枢神経で特異的にERKアイソフォームを欠損させたマウスを作出した。さらにそれらのマウスを用いて疼痛モデルを作製し、包括的かつ系統的に比較することによって中枢性感作におけるERKの役割の全体像を明らかにするため、以下の2つについて明らかにすることを目的とした。

(1)遺伝子改変マウスや阻害剤を用いて、中枢性感作における脊髄のERK2及びERK5の役割を明らかにする。

(2)中枢性感作においてERK2及びERK5がそれぞれ独立して機能しているのか、それとも重複して機能しているかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1)Erk2およびErk5遺伝子もしくはErk2とErk5の両方の遺伝子が脊髄を含む中枢神経特異的に欠損したマウス( $Erk2^{CKO(Nestin)}$ マウス、 $Erk5^{CKO(Nestin)}$ マウス、 $Erk2/5^{DCKO(Nestin)}$ マウス)の作出は $Erk2^{flox}$ マウス、 $Erk5^{flox}$ マウス、 $Erk2/5^{flox}$ マウスと、Cre recombinaseの発現がNestinプロモータによって誘導されるNestin-creトランスジェニックマウスとの掛け合わせによって達成した。

(2)痛みは侵害受容器を介する侵害受容性疼痛と侵害受容器を介さない神経障害に起因する神経障害性疼痛に大別することができる。侵害受容性疼痛はホルマリンテストで、神経障害性疼痛は坐骨神経部分結紮モデルを作製し、アロディニア(触覚刺激によって痛みを感じる異常)をvon Freyテスト、痛覚過敏をplantarテストで評価した。

## 4. 研究成果

ホルマリンテストでは $Erk2^{CKO(Nestin)}$ マウス、 $Erk5^{CKO(Nestin)}$ マウスは野生型マウスと比較して中枢性感作の指標である第2相反応が有意に抑制されていた。さらに $Erk2/5^{DCKO(Nestin)}$ マウスでは疼痛行動が相加的に減少した。このことから、中枢神経におけるERK2とERK5は独立したメカニズムで中枢性感作に関わっていることが示された(図1)。また $Erk2/5^{DCKO(Nestin)}$ マウスは第2相反応だけではなく第1相反応も抑制されていた。第1相反応を詳しく見たときに、ホルマリン投与後2分までは野生型マウスと $Erk2/5^{DCKO(Nestin)}$ マウスで差を認めなかったが、その後 $Erk2/5^{DCKO(Nestin)}$ マウスでは急速に疼痛反応が减弱していた。ホルマリンテストの第1相は直接的な侵害刺激と考えられていたが、今回の結果より第1相の後半は部分的に中枢性感作が関与している可能性がある。またこの第1相反応中の中枢性感作においてはErk2

と Erk5 の役割に関して冗長性を有していると考えられる。また、*Erk5<sup>CKO(Nestin)</sup>* マウスに Erk2 のリン酸化を阻害する薬剤である SL327 を投与しても *Erk2/5<sup>DCKO(Nestin)</sup>* マウスと同様なホルマリンテストの結果となった。

Von Frey テストでは *Erk5<sup>CKO(Nestin)</sup>* マウスは野生型マウスと比べて優位な差は見られなかった。*Erk2<sup>CKO(Nestin)</sup>* マウス、*Erk2/5<sup>DCKO(Nestin)</sup>* マウスは結紮側において疼痛閾値の低下は見られたが、野生型マウスと比べて有意に抑制されていた。*Erk2<sup>CKO(Nestin)</sup>* マウスと *Erk2/5<sup>DCKO(Nestin)</sup>* マウスの間には有意な差は見られなかった。Plantar テストでは *Erk2<sup>CKO(Nestin)</sup>* マウス、*Erk5<sup>CKO(Nestin)</sup>* マウス、*Erk2/5<sup>DCKO(Nestin)</sup>* マウス共に野生型マウスと比べて差は見られなかった。以上の結果から ERK2 と ERK5 では痛みシグナルの制御において各々のアイソフォームに特異的な役割があり、痛みの種類や炎症、神経障害の状況などに応じて複雑に調節されていることが明らかになった。

## Central Sensitization

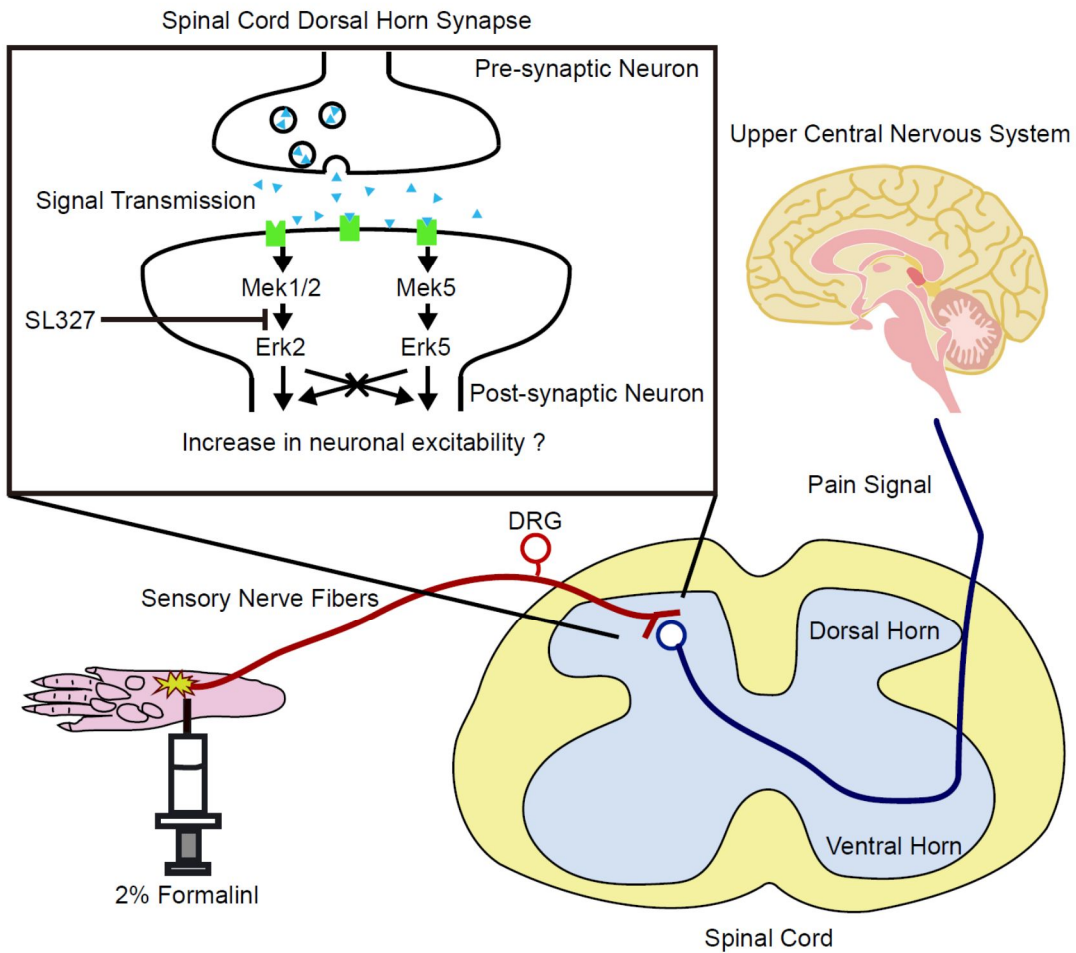


図1 中枢性感作における Erk2 と Erk5 の関係

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsuura Fumihiro, Satoh Yasushi, Itakura Sayako, Morohashi Toru, Kawaguchi Masanori, Takahashi Tetsuya, Iwanaga Koji, Terashima Hayato, Kobayashi Yasushi, Wang Xin, Ishizuka Toshiaki, Endo Shogo, Ikeda Takehiko	4. 巻 99
2. 論文標題 Extracellular signal regulated kinases 2 (Erk2) and Erk5 in the central nervous system differentially contribute to central sensitization in male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 1666 ~ 1688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jnr.24827	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤泰司
2. 発表標題 疼痛におけるERK経路の役割
3. 学会等名 第8回北関東・甲信越ペインクリニック学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松浦史博 板倉紗也子 川口慎憲 遠藤昌吾 佐藤泰司 池田健彦
2. 発表標題 細胞外シグナル制御キナーゼ(ERK) 5の疼痛シグナル制御における役割
3. 学会等名 第8回北関東・甲信越ペインクリニック学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 結城充正 渡邊智美 松浦史博 遠藤昌吾 佐藤泰司 池田健彦
2. 発表標題 細胞外シグナル伝達キナーゼ(ERK)5が疼痛シグナル伝達経路に及ぼす影響
3. 学会等名 第66回日本麻酔科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumihiro Matsuura , Yasushi Satoh, Masanori Kawaguchi, Xin Wang, Shogo Endo, Takehiko Ikeda
2. 発表標題 The role of extracellular signal-regulated kinase (ERK) 5 in spinal cord on pathological pain in mice
3. 学会等名 Euroanaesthesia 2020
4. 発表年 2020年

〔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	池田 健彦 (Takehiko Ikeda)  (10262817)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・麻酔科・教授)  (82406)	
研究分担者	佐藤 泰司 (Yasushi Satoh)  (10505267)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・生化学・教授)  (82406)	
研究分担者	遠藤 昌吾 (Shogo Endo)  (60192514)	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長  (82674)	

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		
英国	The University of Manchester		