

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16460

研究課題名（和文）新たな痛み治療薬の開発に向けた機械性痛覚過敏を惹起する痛み関連分子の探索

研究課題名（英文）Exploring for pain-related molecules that induce mechanical hyperalgesia for the development of new pain therapeutics

研究代表者

谷奥 匡（Tadashi, Tanioku）

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50554656

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：機械性痛覚過敏発生に重要な未知の痛み関連分子を探索することを目的として本研究を計画した。申請者は先行研究から小型のIB4結合神経は炎症によって惹起される機械性痛覚過敏を選択的に伝達することを確認していた。本研究ではIB4結合神経上に発現するTmem45bを解析対象とし発現解析および機能解析を実施した。

Tmem45bは中枢神経にはほとんど発現を認めず小型の末梢神経特異的に発現する分子であることを確認した。そのTmem45bノックアウトマウスを用いた機能解析では、Tmem45bが生理的状态における痛み伝達には関与しないが炎症によって惹起される機械性痛覚過敏の発生に選択的に関与している事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

手術後、外傷後、がんなどの炎症性病態では機械刺激による痛みが増幅される機械性痛覚過敏が生じ患者を苦痛に陥れる。機械性痛覚過敏が発生する分子メカニズムは不明であり新たな鎮痛薬の開発は進んでいない。本研究では、炎症によって惹起される機械性痛覚過敏の責任分子としてTmem45bを同定した。また、Tmem45bは中枢神経にはほとんど発現せず末梢神経特異的に発現するという特徴を有することを確認した。現在鎮痛薬として用いられているオピオイドは中枢神経に作用することに起因する副作用が問題となっている。もしTmem45bをターゲットした新薬が開発されるならば中枢性副作用を有しない画期的な鎮痛薬となり得る。

研究成果の概要（英文）：The present study was designed to search for unknown pain-related molecules that are important for the generation of mechanical hyperalgesia. In this study, we analyzed Tmem45b, which is expressed on the IB4 binding neuron, and found that the IB4 junctional nerve selectively transmits mechanical hyperalgesia induced by inflammation. In this study, we analyzed the expression and function of Tmem45b, which is expressed on IB4 binding neurons. In this study, we analyzed the expression and function of Tmem45b, which is expressed on the IB4 binding neuron, and confirmed that Tmem45b is a small peripheral nerve-specific molecule with little expression in the central nervous system. Functional analysis using Tmem45b knockout mice revealed that Tmem45b is not involved in pain transmission in physiological conditions, but is selectively involved in the development of mechanical hyperalgesia induced by inflammation.

研究分野：痛み

キーワード：機械性痛覚過敏

### 1. 研究開始当初の背景

「痛み」はヒトが持つ重要な生体防御システムの一部である。しかし、時に過剰な痛みは身体活動や精神活動を制限し生活の質を低下させることがあり、日常臨床においても経験される事が多い。特に、手術後やリウマチなどの炎症性疾患では、体動やガーゼ交換などの軽微な機械刺激によって痛みが増幅される機械性痛覚過敏を生じることが問題となる。これらの病態に対して現在、オピオイドによる薬物療法や、神経ブロック療法が行なわれているが、患者の痛みを十分に除去できていないのが現状である。オピオイドは嘔気・呼吸抑制などの重篤な中枢神経性の副作用に悩まされることが多いだけでなく、オピオイド依存症の危険性を有するという問題を抱えている (Nora D et al. NEJM 2017.)。さらに、オピオイドは機械刺激による痛みは得意としていないため、機械性痛覚過敏を十分に軽減することはできない (Ian G et al. Pain 2005.)。また神経ブロック療法は、技術的に習熟した医療者が実施する必要があり、施行可能な施設が限局されるという欠点がある。つまり、体動時に生じる機械性痛覚過敏に対する安全かつ有効な治療法は現時点では存在しない。そもそも、機械性痛覚過敏が生じるメカニズム自体が解明されていないため、新たな痛み治療薬の開発は進んでいない。機械性痛覚過敏が生じるメカニズムの解明、および副作用の少ない痛み治療薬の開発が望まれている。

申請者はある化学的性質を持つ末梢神経 (IB4 結合神経) が、炎症や皮膚切開によって惹起される機械性痛覚過敏の発生に選択的に寄与することを見出した。この結果は、炎症や皮膚切開による機械性痛覚過敏の発生に重要な未知の痛み関連分子が、IB4 結合神経に選択的に発現することを示す。次に申請者は、網羅的解析により IB4 結合神経で発現量が多い遺伝子のリストを作製した。

### 2. 研究の目的

新しい痛み治療薬の開発に向けて、機械性痛覚過敏発生のカギとなる痛み関連分子を同定すること

### 3. 研究の方法

#### 実験 1 候補遺伝子の末梢神経における発現分布解析

In situ ハイブリダイゼーション法および免疫染色にて末梢神経における候補遺伝子の発現分布を解析した。候補遺伝子の中から、IB4 結合神経に選択的な発現するものを探索した。解析対象として選定した分子を対象に、定量 PCR 法により臓器発現を解析した。続いて、免疫染色法にて末梢神経における発現分布を解析した。

#### 実験 2 ノックアウトマウスを用いた候補遺伝子の機能解析

マウスの足底に炎症性物質 CFA を投与し炎症モデルマウスを作成した。行動解析試験は、熱刺激に対する逃避潜時、von Frey filament を用いた機械刺激に対する逃避閾値を測定記録した。戻し交配前のマウスを用いて得た予備実験の結果を確認することを目的とした。

### 4. 研究成果

#### 実験 1 候補遺伝子の末梢神経における発現分布解析

候補遺伝子を標識する cRNA プローブを合成し、in situ ハイブリダイゼーションを実施した。そして、IB4 結合神経に選択的に発現する分子として Tmem45b を同定した。臓器発現解析により Tmem45b は主に大動脈や管腔臓器に発現している事が明らかになった。また神経系においては、中枢神経にはほとんど発現を認めず末梢神経選択的に発現していた (図 1)。

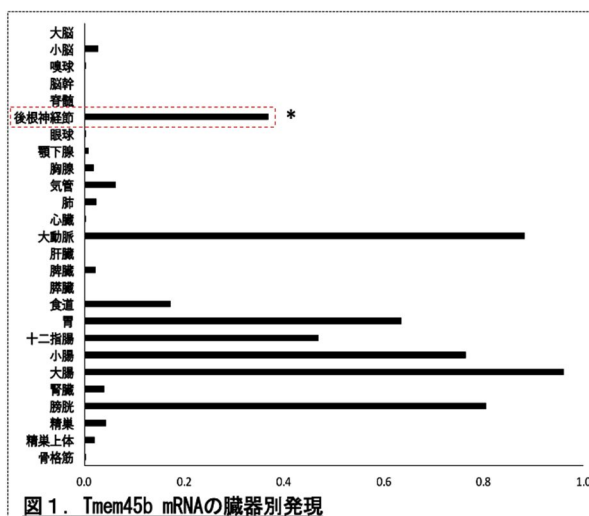


図 1. Tmem45b mRNA の臓器別発現

Tmem45b に特異的な抗体を作製し、発現分布解析を行なった。Tmem45b は小型の神経細胞に選択的に発現を認めた ( 図 2 )。

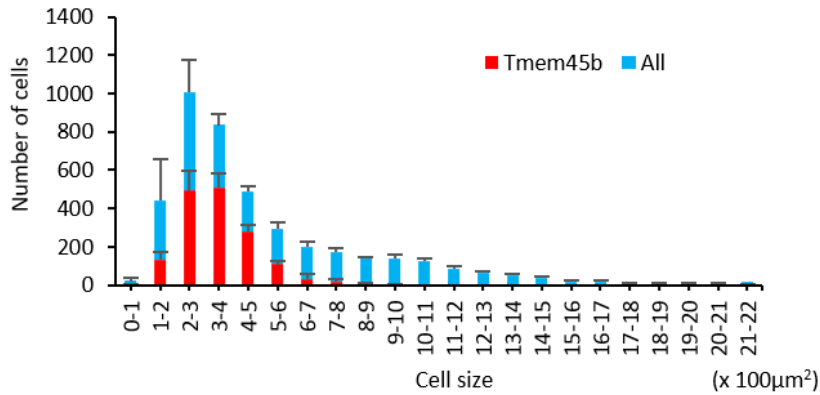


図 2. Tmem45bの発現分布

### 実験 2 ノックアウトマウスを用いた候補遺伝子の機能解析

CRISPR-Cas9 法にて Tmem45b ノックアウトマウスを作製した。生理的状态において Tmem45b ノックアウトマウスの侵害機械刺激に対する逃避閾値および侵害熱刺激に対する逃避潜時は野生型マウスと有意差はなかった ( 図 3 )。CFA 誘起炎症痛モデルでは、Tmem45b ノックアウトマウスでは、野生型マウスと同様に熱性痛覚過敏となったが、機械性痛覚過敏にはならなかった。これらのことから、Tmem45b は、CFA 誘起炎症痛モデルにおいて機械性痛覚過敏のみに関与することが明らかになった。

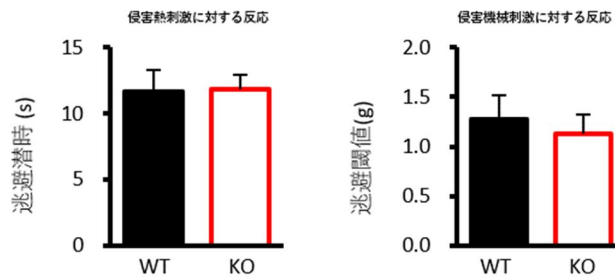


図 3. 生理的状态における痛み関連行動

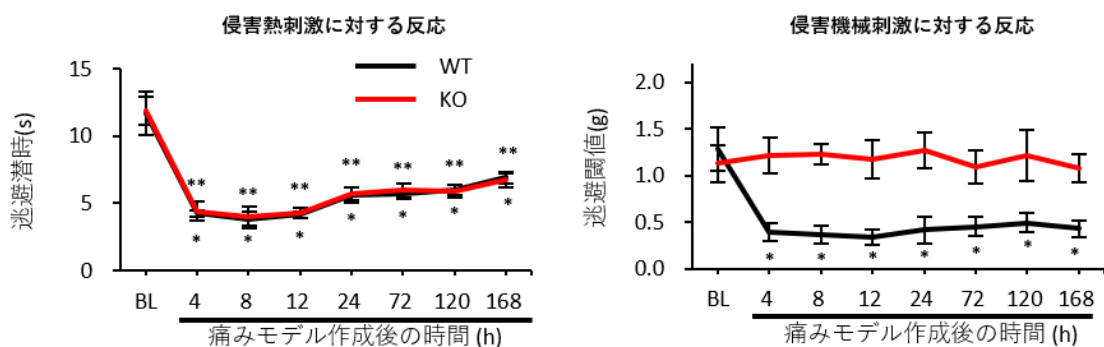


図 4. 炎症痛モデルにおける痛み関連行動

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷奥 匡
2. 発表標題 炎症性痛モデルにおける機械性痛覚過敏はTmem45bによって維持される
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回大会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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