

令和 3 年 5 月 14 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16473

研究課題名(和文) 低酸素虚血脳障害に対する小胞体ストレスの関与

研究課題名(英文) Involvement of endoplasmic reticulum stress in hypoxic ischemic encephalopathy

研究代表者

國分 宙(kokubun, hiroschi)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50782695

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：当初の計画とは異なるが、野生型マウスにレミフェンタニルを間欠的に投与することによって、疼痛過敏モデルマウスを作製し、オピオイド誘発性疼痛過敏(opioid induced hyperalgesia:OIH)に対する小胞体ストレスの影響について実験を行った。疼痛過敏モデルマウスに、Sodium phenylbutyrate (4-PBA)やTauroursodeoxycholic acid (TUDCA)といった化学シャペロンを投与することによって、疼痛過敏を抑制する可能性が示唆された。また、吸入麻酔薬による神経保護作用および神経毒性と小胞体ストレスについても研究を行い、論文として公表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オピオイドはがん疼痛などに非常に有用な鎮痛薬であるが、乱用による中毒や副作用が問題となることもある。オピオイド投与によって誘発される疼痛過敏(opioid induced hyperalgesia:OIH)は、まだメカニズムが不明な部分も多く、治療法も確立されていない。我々の研究は、OIHと小胞体ストレス反応の関連を明らかにし、化学シャペロンの投与によってOIHが抑制される可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Although different from the original plan, we created a pain-sensitive model mouse by intermittently administering remifentanyl to wild-type mice, and examined the effect of endoplasmic reticulum stress on opioid-induced hyperalgesia (OIH). An experiment was conducted. It was suggested that administration of chemical chaperones such as Sodium phenylbutyrate (4-PBA) and Tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) to pain-sensitive model mice may suppress pain-sensitivity. We also studied the neuroprotective effect of inhalational anesthetics, neurotoxicity, and endoplasmic reticulum stress, and published it as a paper.

研究分野：麻酔科学

キーワード：オピオイド 痛覚過敏 小胞体ストレス 吸入麻酔薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

モルヒネを始めとするオピオイドは優れた鎮痛薬であるが、慢性疼痛疾患への連用では耐性や痛覚過敏性(opioid induced hyperalgesia: OIH)の形成が問題となり得る。一方、難治性疼痛疾患である線維筋痛症ではオピオイドが効き難く、疼痛閾値が低下している。こうした病態の背景にはオピオイドが重要な役割を果たす全身的な鎮痛機構と下行性疼痛抑制系の機能不全が存在する。ミューオピオイド受容体は複雑な構造を持ち、その立体構造の形成、細胞表面への輸送には小胞体機能が深く関与している。外因性のオピオイドの連用や、慢性的な疼痛刺激による内因性オピオイドペプチドの過剰分泌によってミューオピオイド受容体の内在化、分解が促進され、神経細胞表面に発現する機能的なミューオピオイド受容体が減少する。また、小胞体機能不全によって細胞内情報伝達の異常を惹起し、下行性疼痛抑制系の機能不全が生じる可能性がある。小胞体機能を補完する小胞体化学シヤペロンの投与は小胞体ストレス反応の抑制と小胞体での機能的なミューオピオイド受容体の立体構造の形成、細胞表面への輸送の促進を通じてオピオイド鎮痛系と下行性疼痛抑制系の機能不全を改善する可能性がある。

2. 研究の目的

オピオイド投与による痛覚過敏と小胞体ストレス反応との関連を明らかにする。
レミフェentanil簡潔投与による痛覚過敏モデルマウスを用いて、4-phenyl butyric acid(PBA), dasatinib, dantrolene の投与効果を検証する。

3. 研究の方法

○animal model

マウス C57BL/6J オス 10~15w Wild type

○protocol

0 min : NS / PBA /Dantrolene /dasatinib i.p. + NS / remifentanil s.c.

30min: NS / remifentanil s.c.

60min: NS / remifentanil s.c.

90min: NS / remifentanil s.c.

Remifentanil の 1 回投与量は 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$

PBA・dantrolene・dasatinib は以下の 5 群に分けて投与

・ PBA

NS(i.p.) + NS (s.c.)

NS(i.p.) + remi(s.c.)

PBA0.1g/kg(i.p.)+remi(s.c.)

PBA0.25g/kg(i.p.)+remi(s.c.)

PBA0.5g/kg(i.p.)+remi(s.c.)

・ dantrolene

NS(i.p.) + NS (s.c.)

NS(i.p.) + remi(s.c.)

Dantrolene 3mg/kg(i.p.)+remi(s.c.)

Dantrolene 10mg/kg(i.p.)+remi(s.c.)

Dantrolene 30mg/kg(i.p.)+remi(s.c.)

・ dasatinib(src inhibitor)

NS(i.p.) + NS (s.c.)

NS(i.p.) + remi(s.c.)

Dasatinib 1mg/kg(i.p.)+remi(s.c.)

Dasatinib 5mg/kg(i.p.)+remi(s.c)

Dasatinib 20mg/kg(i.p.)+remi(s.c)

○hyperalgesia 評価方法

以下の 2 つの test を薬剤投与前・投与終了後・投与 2 時間後・投与 4 時間後の計 4 回測定する。

・ Mechanical hyperalgesia

Hind paw に対する Von frey test(0.1g フィラメント)にて pain score 測定

(2 点：足をなめる・振る 1 点：足を持ち上げる 0 点：反応なし 計 6 回刺激し合計点を pain score とする)

・ Thermal hyperalgesia

PLANTER TEST(UGO BASILE®)を用いて、熱刺激にて退避反応を示すまでの時間を測定 30 秒でカットオフ

4 . 研究成果

PBA、dasatinib の投与によって、有意に pain score の減少が認められ,0IH と小胞体ストレス反応との関連が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kokubun Hiroshi, Jin Hisayo, Aoe Tomohiko	4. 巻 20
2. 論文標題 Pathogenic Effects of Impaired Retrieval between the Endoplasmic Reticulum and Golgi Complex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5614 ~ 5614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20225614	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 Kokubun Hiroshi, Jin Hisayo, Komita Mari, Aoe Tomohiko	4. 巻 21
2. 論文標題 Conflicting Actions of Inhalational Anesthetics, Neurotoxicity and Neuroprotection, Mediated by the Unfolded Protein Response	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 450 ~ 450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21020450	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 -

〔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 國分宙 小見田真理 神久予 青江知彦
2. 発表標題 吸入麻酔薬による神経障害と神経保護という相反する作用に対する小胞体ストレス反応の関与
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
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
---------	---------