

平成 22 年 5 月 6 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19591791

研究課題名（和文）神経因性疼痛モデルにおけるセロトニン受容体（5HT-2C）の RNA 編集の効果

研究課題名（英文）The role of serotonin 2C receptor RNA editing in the neuropathic pain model

研究代表者 高階 雅紀 (Takashina Masaki)

大阪大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30221352

研究成果の概要（和文）：私たちはラットの脊髄坐滅モデルにおいて、セロトニン 2C 受容体の RNA 編集の効果について調べた。脊髄においてサブクローニングを行った後ダイレクトシーケンズでそのフェノタイプを明らかにする方法で RNA 編集の割合を解析した。我々の研究の成果は、脊髄の下行性疼痛抑制系におけるセロトニンの作用が増強する方向に RNA 編集による調節を受けていることが明らかになった。その変化は痛み刺激に対する適応性変化である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects on 5HT2C receptor RNA editing efficiency of contusive SCI. Using cloning followed by sequence analysis on spinal cord samples takes, we compared mRNA editing. Our results might be evidence of functional adaptation mechanism in which increased expression of 5HT2C mRNA isoforms that encode receptors more sensitive to serotonin works to activate brainstem-spinal descending 5HT systems to, in effect, suppress transmission of nociceptive signals from primary afferent neurons to the spinal dorsal horn.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：セロトニン 2C 受容体、RNA 編集、神経因性疼痛モデル、脊髄障害性モデル、脊髄障害性疼痛

1. 研究開始当初の背景

セロトニンは神経伝達物質であり、脳においてはうつ状態における欠乏、脊髄においては下行性疼痛抑制系に關与する。さらに、セロトニン 2C 受容体は RNA 編集が起こることが知られている。この変化が痛みのモデルでどのようになっているか、さらに、既に明らかにされているうつ状態における変化も同時にとらえることが出来たら高次脳機能への役割が明らかになる画期的な研究であると考え着想に至った。

2. 研究の目的

研究の目的は神経障害性モデルの脊髄において RNA 編集がどのような役割を担っているか明らかにすること、さらに、神経障害性疼痛モデルにおけるうつ状態の惹起が捉えられることを目標とした。

3. 研究の方法

(1) 動物

大阪大学の倫理規定に従い動物実験を行った。

①6 週の SD ラットのオスに対し、脊髄坐滅モデルを 10cm の高さから 10g の錘を落とすことにより作成した。

②その疼痛行動を von Frey Filament を用いて測定した。

(2) 解析

①術後 2 週間で組織の取り出しを行い RNA 抽出、cDNA 変換を行った。

②リアルタイム PCR を用いてセロトニン 2C 受容体の発現定量を行った。

③サブクローニング法を用いて RNA 編集割合の測定を行った。

4. 研究成果

(1) 脊髄坐滅モデルにおいてセロトニン 2C 受容体は障害部位より尾側においては発現の抑制が起こっている

(2) 脊髄障害性疼痛において、セロトニン 2C 受容体 RNA 編集がおり、セロトニン伝達をスムーズに行うための適応性変化の役割を担っていることが示唆された。

(3) 脊髄坐滅モデルにおける前頭葉のサンプルを解析したが、有意な変化が得られなかった。ラットにおいて短期間でうつ状態を引き起こさない可能性が考えられた。

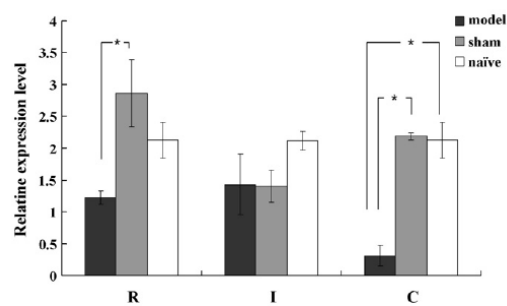


Fig. 1. Different 5HT2C receptor expression in spinal cord samples from site of injury and from sites above and below injury. Data (mean \pm S.E.M.) were compared with Kruskal-Wallis-test followed by Holm's correction ($p < 0.05$). * $p < 0.05$; SCI: spinal cord injury; I: injury site; R: rostral to injury; C: caudal to injury.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

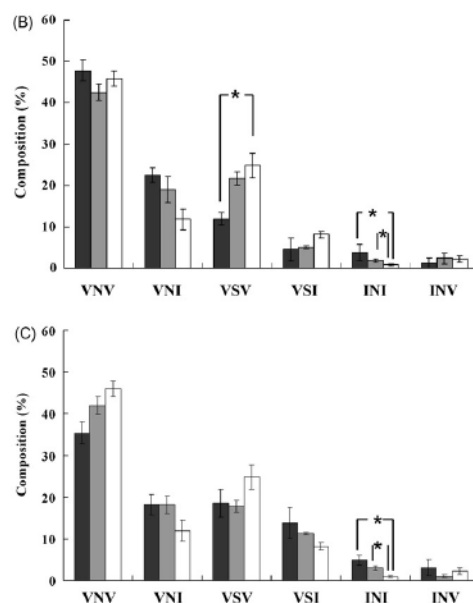


Fig. 3. Proportions of the major 5HT2C receptor isoforms present in spinal cord. A: samples from the rostral site; B: samples from the injury site; C: samples from the caudal site. Data (mean \pm S.E.M.) were compared with Kruskal-Wallis-test followed by Holm's correction (* $p < 0.05$).

〔雑誌論文〕 (計 7 件)

- 1] Kunihiro Nakai, Aya Nakae, Sosuke Oba, Masahiko Shibata, Takashi Mashimo, Koichi Ueda. The role of snoRNA RBII-52 to the serotonin2C receptor in the rat oro-facial neuropathic pain model. Neuroscience 2009 abstract
- 2] Aya Nakae, Kunihiro Nakai, Tatsuya Tanaka, Mari Yoshida, Akiko Mikami, Masaki Takashina, Satoshi Hagihira, Masahiko Shibata, Koichi Ueda, Takashi Mashimo. The snoRNA RBII-52 regulates alternative splicing of serotonin 2C receptor in the rat oro-facial neuropathic pain model. Neuroscience 2009 abstract
- 3] A.Nakae, K.Nakai, T.Tanaka, S.Hagihira, T.Mashimo. The role of snoRNA(RBII-52) in a rat model of oro-facial neuropathic pain. European Journal of Anesthesiology 26(Supple45): 14AP4-2,2009
- 4] K.C.Murray, A.Nakae, T.Ballou, R.Vavrek, K.Fouad, M.M.Rank, M.Stephens, R.Anelli, P.J.Harvey, C.Heckman, D.J.Bennett. Role of constitutively active 5HT2C receptors following spinal cord injury in rats. Neuroscience 2008 Abstract
- 5] Aya Nakae, Kunihiro Nakai, Tatsuya Tanaka, Satoshi Hagihira, Masahiko Shibata, Koichi Ueda, Takashi Mashimo. The role of RNA editing of the serotonin 2C receptor in a rat model of oro-facial neuropathic pain. The European Journal of Neuroscience 27(9):2373-9,2008
- 6] Aya Nakae, Kunihiro Nakai, Tatsuya Tanaka, Satoshi Hagihira, Masahiko Shibata, Koichi Ueda, Takashi Mashimo. Serotonin 2C receptor mRNA editing in neuropathic pain model. Neuroscience Research 60(2):228-231, 2008
- 7] A.Nakae, K.Nakai, T.Tanaka, K.Miyake, S.Hagihira, M.Shibata, K.Ueda,T.Mashimo The role of RNA editing of serotonin2C receptor in a rat model of oro-facial neuropathic pain. Neuroscience 2007 Abstract.

〔学会発表〕 (計 12 件)

- 1] 吉田真理、田中達哉、石田葉子、中江文、中井國博、三上晶子、大場創介、柴田政彦、眞下節、上田晃一、核小体RNA、RBII-52 の神経因性疼痛でのセロトニン2C受容体に対する役割、第32回日本分子生物学会年会、

横浜、12月9日～12日、2009

- 2] 三上晶子、田中達哉、石田葉子、中江文、中井國博、吉田真理、柴田政彦、上田晃一、眞下節、核小体RNAのRBII-52 によるラット顔面神経因性疼痛モデルにおけるセロトニン2Cレセプターのスプライスバリエーションの制御、第32回日本分子生物学会年会、横浜、12月9日～12日、2009.
- 3] Kunihiro Nakai, Aya Nakae, Sosuke Oba, Masahiko Shibata, Takashi Mashimo, Koichi Ueda. The role of snoRNA RBII-52 to the serotonin2C receptor in the rat oro-facial neuropathic pain model. Neuroscience 2009, Chicago, Illinois, Oct.17-21, 2009
- 4] Aya Nakae, Kunihiro Nakai, Tatsuya Tanaka, Mari Yoshida, Akiko Mikami, Masaki Takashina, Satoshi Hagihira, Masahiko Shibata, Koichi Ueda, Takashi Mashimo. The snoRNA RBII-52 regulates alternative splicing of serotonin 2C receptor in the rat oro-facial neuropathic pain model. Neuroscience 2009, Chicago, Illinois, Oct.17-21, 2009
- 5] 中江文、中井國博、柴田政彦、上田幸一、眞下節、眼窩下神経絞扼モデルにおける核小体RNA (RBII-52) の関わり、第31回日本疼痛学会、名古屋、7月17日-18日、2009
- 6] Aya Nakae, Kunihiro Nakai, Tatsuya Tanaka, Satoshi Hagihira, Takashi Mashimo. The role of snoRNA in a rat model of oro-facial neuropathic pain. Euroanaesthesia 2009, Milano, Italy, June6-9,2009
- 7] Kunihiro Nakai, Aya Nakae, Sosuke Oba, Takashi Mashimo, Koichi Ueda. The role of GABAergic tonic inhibition in rat oro-facial neuropathic pain model. 5th World Congress World Institute of Pain, New York, NY, March 13-16,2009
- 8] Aya Nakae, Kunihiro Nakai, Tatsuya Tanaka, Koichi Ueda, Takashi Mashimo. Correlation between peripheral P2X4 receptor expression and nerve injury in rat oro-facial neuropathic pain model.5th World Congress World Institute of Pain, New York, NY, March 13-16,2009
- 9] 中江文、柴田政彦、高階雅紀、萩平哲、眞下節、脊髄におけるセロトニン2C受容体のRNA編集とその病態へのかかわり、平

成 20 年度生理学研究所研究会「筋・骨格系と内臓の痛み研究会」、岡崎、1 月 22 日－23 日、2009

- 10] K.C.Murray,A.Nakae,T.Ballou,R.Vavrek, K.Fouad, M.M.Rank, M.Stephens, R.Anelli, P.J.Harvey, C.Heckman, D.J.Bennett. Role of constitutively active 5HT_{2C} receptors following spinal cord injury in rats. Neuroscience 2008, Washington, DC, Nov.15-19,2008
- 11] A.Nakae, K.Nakai, T.Tanaka, K.Miyake, S.Hagihira, M.Shibata, K.Ueda,T.Mashimo The role of RNA editing of serotonin_{2C} receptor in a rat model of oro-facial neuropathic pain. Neuroscience 2007, San Diego, CA, Nov.3-7, 2007
- 12] 中江文、田中達哉、高階雅紀、上山博史、萩平哲、眞下節、神経因性疼痛におけるセロトニン_{2C}受容体の関与、日本麻酔科学会第 54 回学術集会、札幌、5 月 31 日－6 月 2 日、2007

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高階 雅紀 (Takashina Masaki)

大阪大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30221352

(2) 研究分担者

萩平 哲 (Satoshi Hagihira)

大阪大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90243229

中江 文 (Nakae Aya)

大阪大学・医学部附属病院・特任准教授 (常勤)

研究者番号：60379170

(3) 連携研究者

()

研究者番号：