

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19603001

研究課題名 (和文) 痛覚過敏病態形成における脂質シグナル分子の役割の解明

研究課題名 (英文) Role of lipid mediator in pathological mechanism of hyperalgesia

研究代表者

伊藤 伸子 (ITO NOBUKO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80332609

研究成果の概要 (和文)：強力な白血球活性化作用を持つロイコトリエン B4 (LTB4) とその高親和性受容体 BLT1 が、炎症性疼痛及び組織傷害性疼痛に対し、どのように関与しているのか BLT1 遺伝子欠損マウスを用いて研究した。BLT1 遺伝子欠損マウスは野生型マウスと比較し、ホルマリン及びカプサイシン足底注入による炎症性疼痛モデルで疼痛行動の抑制が認められた。組織傷害モデルとして足底筋切開による術後痛モデルを作成し、機械的刺激に対する疼痛行動の変化を経時的に観察した。BLT1 受容体欠損マウスにおいて有意な疼痛行動の低下が認められた。LTB4-BLT1 シグナルが急性疼痛の病態形成に関与していることがわかった。

研究成果の概要 (英文)：Leukotriene B4 (LTB4) is a potent lipid mediator enhancing recruitment and activation of neutrophil, which is a common feature of inflammation. To elucidate the role of LTB4 in inflammatory pain, we use BLT1 (LTB4 receptor 1) deficiency mice and compared the acute pain behavior with wild type mice using intraplantarly injection of formalin or capsaicin. Compared with wild type mice, BLT1 deficiency mice exhibit attenuated pain behaviors in this model. These results indicate that BLT1 has a crucial role in the modulation of inflammatory pain. We investigate the role of LTB4 in postoperative incisional pain as a tissue injury-induced pain model. Compared with wild-type mice, BLT1 deficiency mice displayed attenuated allodynia in incised hind-paw. Our results suggest that BLT1 may play an important role in pain after tissue injury.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2007年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2008年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2009年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：時限

科研費の分科・細目：疼痛学

キーワード：脂質、神経科学、炎症

1. 研究開始当初の背景

組織傷害や炎症による刺激に応じてホスホリパーゼ A2 が活性化され、細胞膜アラキドン酸が放出され、遊離アラキドン酸がシクロキシゲナーゼによりプロスタグランジン E2 (PGE2)、プロスタグランジン I2 が産生され、リポキシゲナーゼにより LTB4 が産生され様々な生理作用を修飾することがわかっている。なかでも PGE2 はその受容体欠損マウスによる解析や PGE2 合成酵素欠損マウスの解析から、様々な神経活動で産生され、炎症性疼痛に深くかかわっていることが分かっている。一方、LTB4 については好中球走化性や脱顆粒といった強力な白血球活性か作用を持つ性質から、喘息や関節リウマチの病態形成への関与が BLT1 欠損マウスでの実験から解明されている。しかし、炎症性疼痛における役割は明らかでなく、BLT1 欠損マウスで炎症性疼痛反応が果たして減弱するのか、解明を試みた。

2. 研究の目的

活性化白血球による痛覚過敏が神経系の脊髄レベル、末梢レベルでどのような変化をもたらすのか解明し、新たな疼痛治療法を開発する。BLT1 欠損マウスとその野生型マウスを用い、炎症性疼痛モデル、神経損傷モデルを作成し、行動学的、組織学的解析を行い、LTB4 受容体 BLT1 の関与を解明する。

3. 研究の方法

(1) 炎症性疼痛モデルでの行動解析

①ホルマリンテスト

BLT1 欠損マウス (12~14 週令雄性マウス, n=5, 以下 BLT1KO 群) 及び、野生型マウス (12~14 週令雄性マウス, n=5, 以下 WT 群) の右足底皮下に 30G 針を用いて 5%ホルマリン溶液 10 μ l を投与した。ホルマリン投与後 30 分間にわたって観察し、右後肢への licking を疼痛反応の指標とした。licking time の持続時間をストップウォッチを用いて測定し、ANOVA test にて BLT1KO 群と WT 群との比較を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

②カプサイシンテスト

BLT1 欠損マウス (12~14 週令雄性マウス, n=6, 以下 BLT1KO 群) 及び、野生型マウス (12~14 週令雄性マウス, n=6, 以下 WT 群) の右足底皮下に 30G 針を用いてカプサイシン 20 μ l (1.6 μ g) を投与した。投与直後から 5 分間の右後肢への licking あるいは biting を疼痛反応の指標とした。licking/biting の持続時間をストップウォッチを用いて計測した。Unpaired-t test にて BLT1KO 群と WT 群との比較を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(2) 組織傷害性疼痛 (術後痛) での行動解析
BLT1 欠損マウス (12~14 週令雄性マウス, n=16, 以下 BLT1KO 群) 及び野生型マウス (12~14 週令雄性マウス, n=16, 以下 WT 群) を用いて、Pogatzki (2003) らの方法に従い右足底の皮膚・筋肉に切開を加え、術後痛モデルを作製した。疼痛行動の評価として、von frey test を手術前、手術 2 時間後、手術 1, 2, 3, 4, 5, 7 日後に施行した。von frey test は up-down method により行い、50% 閾値を算出した。Unpaired-t test にて BLT1KO 群と WT 群との比較を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

4. 研究成果

(1) 炎症性疼痛モデルでの行動解析

①ホルマリンテスト

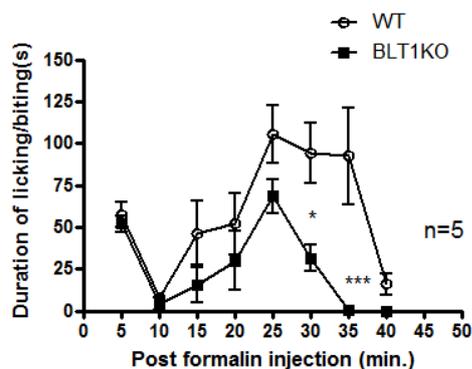


図1 WT 群及び BLT1KO 群の licking time (数値は平均値 \pm 標準偏差)

* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs. WT

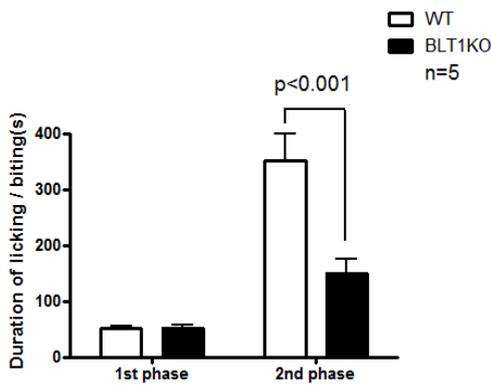


図2 WT マウス群及びBLT1KO 群の第1・2相における疼痛反応(数値は平均値±標準偏差)
BLT1KO 群では、野生型マウス群に比し第2相の疼痛反応が有意に抑制された。

②カプサイシンテスト

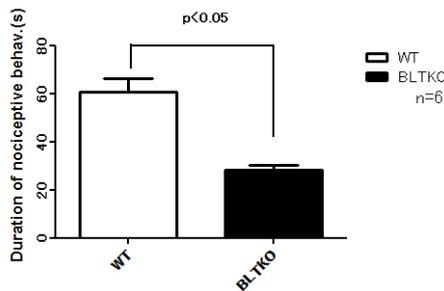


図3 BLT1KO 群とWT 群のカプサイシン投与後の疼痛反応の比較
BLT1KO 群では、WT 群に比し nociceptive behavior(licking /biting)の有意な減少が認められた。

(2)組織傷害性疼痛(術後痛)での行動解析

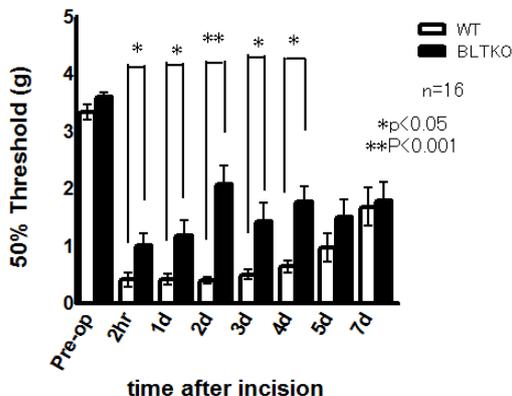


図4 BLT1KO 群とWT 群の術後痛モデルにお

ける機械的痛覚過敏の程度の比較(手術側足底)

BLT1KO 群では、WT 群に比し、手術2時間後、1日後、2日後、3日後、4日後、5日後における手術側肢の機械的痛覚過敏の程度が有意に低値であった。

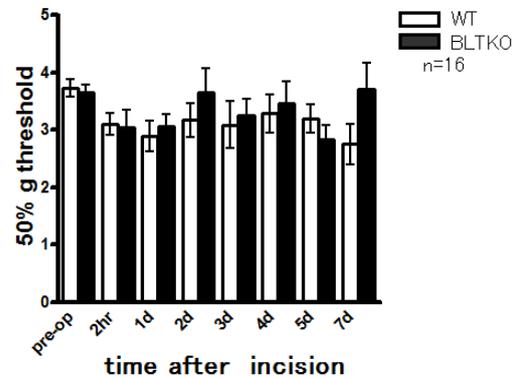


図5 BLT1KO 群とWT 群の術後痛モデルにおける機械的痛覚過敏の程度の比較(対側足底)

BLT1KO 群とWT 群との間で、非手術側肢の機械的痛覚過敏の程度に有意差はなかった。

本研究の結果、BLT1 欠損マウスの炎症性疼痛モデルあるいは術後痛モデルにおいて、疼痛関連行動の有意な減少が認められた。炎症性疼痛や術後痛の発症機序に BLT1 が関与している可能性が示唆された。

今後は、手術侵襲に伴う組織損傷に起因する、末梢神経から脊髄・脳への疼痛情報伝達機構に、BLT1 受容体がどのように関与しているのか、更に研究を進めていきたいと考えている。

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)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計5件)

- ① 伊藤伸子、マウス下肢虚血再灌流後の肝障害におけるロイコトリエン B4 受容体の役割、日本生化学会、2007年12月13日、横浜
- ② 伊藤伸子、マウス下肢虚血再灌流後の肝障害における白血球活性化因子ロイコトリエン B4 の役割-受容体欠損マウス2種の比較、第55回日本麻酔科学会、2008年6月12日、横浜
- ③ 伊藤伸子、CFA による持続性疼痛モデルの行動学的解析においてロイコトリエン B4 は主たる役割を担っていない、第

4 2回日本ペインクリニック学会、2008年7月19日、福岡

- ④ 伊藤伸子、虚血再灌流病態形成におけるロイコトリエン B4 受容体の役割の解明
日本救急医学会、2008年10月14日、札幌
- ⑤ 浅原美保、伊藤伸子 マウス術後痛モデルおよび炎症性疼痛モデルにおけるロイコトリエン B4 の役割 第3回痛みのメカニズムを語る会、2009年3月13日、東京

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 伸子 (ITO NOBUKO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 80332609

(2) 研究分担者

張 京浩 (TYOU KYOUHIRO)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 50302708

浅原 美保 (ASAHARA MIHO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 60529155

室屋 充明 (MUROYA MITSUAKI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 90431866

(3) 連携研究者

なし