

平成 22 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19791076

研究課題名（和文） 骨がん性疼痛に対する遺伝子治療の開発

研究課題名（英文） Development of gene therapy for bone cancer pain

研究代表者

新山 幸俊（NIIYAMA YUKITOSHI）

札幌医科大学医学部 講師

研究者番号：90423764

研究成果の概要（和文）：

われわれはこれまでに、骨がん疼痛状態では endothelin-1 などの生理活性物質により transient receptor vanilloid subfamily 1 (TRPV1) の機能が亢進するとともに TRPV1 発現が末梢神経レベルで増加していることを明らかにしてきた。しかし、TRPV1 発現増加の機序は明らかではない。そこで、末梢知覚神経細胞に発現する転写制御因子 runt-related transcription factor 1 (Runx1) に注目し、TRPV1 発現増加機序を検討した。

研究成果の概要（英文）：

I have reported that cancer-related chemical mediators including endothelin-1 sensitize transient receptor vanilloid subfamily 1 (TRPV1), and the expression of TRPV1 in the peripheral neurons is increased, leading to bone cancer pain. However, the mechanisms underlying up-regulation of TRPV1 has been elucidated. Here, I focused on a transcriptional factor runt-related transcription factor 1 (Runx1), which was expressed in the peripheral neurons, to clarify the mechanisms of up-regulation of TRPV1 in the bone cancer condition.

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	0	1,800,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,200,000	420,000	3,620,000

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：transient receptor vanilloid subfamily 1, runt-related transcription factor 1, 骨がん, 後根神経節, 疼痛

1. 研究開始当初の背景

研究代表者はこれまでに骨がん疼痛状態では末梢神経において transient receptor vanilloid subfamily 1 (TRPV1) の発現が mRNA およびタンパクレベルで増加することを見出した。しかしながら、なぜ TRPV1 発現が増加するのかの機序は不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は骨がん疼痛状態における TRPV1 発現の機序を解明することである。

3. 研究の方法

Mantyh らの報告に従い、雄性 C3H/HeJ マウス (20-25g) を用いて骨がん疼痛モデルマウスを作製した。イソフルレンによる全身麻酔下に左大腿骨遠位端に培養骨がん細胞 (NCTC 2472) を投与した (図 1)。対照マウスには培養液のみを投与しました。投与後、骨がん細胞が骨外に漏出しないように歯科治療用アマルガムで投与部位を被覆した。対照マウスには骨がん細胞の培養液のみを投与した。



図 1

感覚性の神経細胞に発現する転写因子 runt-related transcription factor 1 (Runx1) に注目し、骨がんモデルマウスと対照マウスで TRPV1 発現増加機序を免疫組織学的に検討した。

4. 研究成果

骨がん細胞を投与してから 2 週間後に研究を行った。骨がん疼痛モデルマウスでは正常骨髄細胞は骨がん細胞に置き換えられており (図 2)、疼痛関連行動も出現しており、モデルとして成立していた。

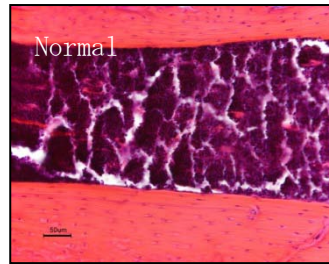
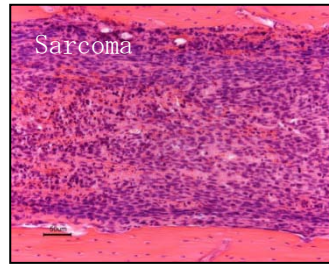


図 2

対照マウスに比べ、骨がん疼痛モデルマウスでは後根神経節細胞 dorsal root ganglion (DRG) において TRPV1 陽性細胞の有意な増加を認めた (図 3, 表 1)。

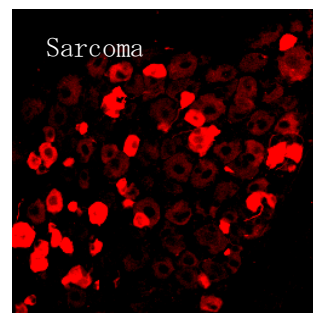
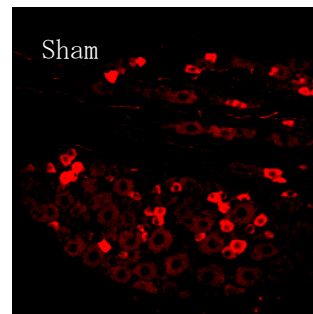


図 3

表 1

	Sham	Sarcoma
TRPV1 (n=8)	24.3 ± 1.3	31.2 ± 1.3

また、Runx1 陽性細胞も有意な増加を認めた。

対照マウスの DRG 細胞では TRPV1 は小型細胞に主に発現しており、有髄神経 (大型細胞) のマーカーである neurofilament

200kD(NF200)とはほとんど共存は認められなかった。骨がん疼痛モデルマウス DRG では小型細胞のみならず一部中型～大型細胞に発現が観察された。陽性細胞数を計測したところ、対照マウスより 5%程度増加していた。神経マーカーとの多重染色では無髄神経(小～中型細胞)の中でペプチド含有侵害受容神経細胞のマーカーである calcitonin gene-related peptide(CGRP)との共存が約 85%に増加するとともに、一部の NF200 陽性神経にも TRPV1 発現が観察された(図 4)。

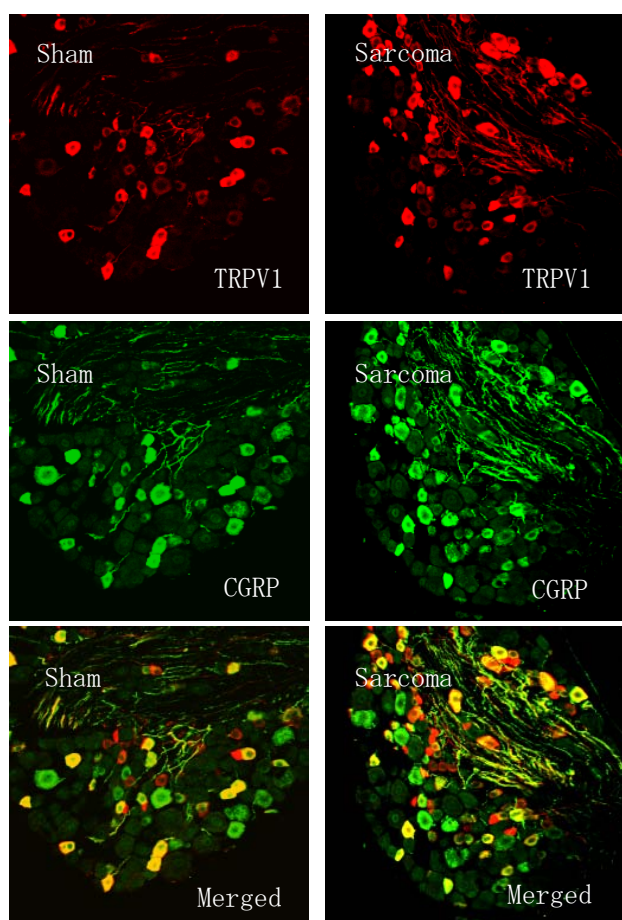


図 4

一方、Runx1 は対照マウス DRG では小型細胞の核に特異的に発現した。神経マーカーとの多重染色では Runx1 は無髄神経(小～中型細胞)の中でペプチド含有侵害受容神経細胞のマーカーである isolectin B4(IB4) と共存し、TRPV1 との共存はほとんど観察されなかった。一方、がん疼痛モデルマウス DRG では小型細胞のみならず一部中型～大型細胞に発現が観察された。陽性細胞数を計測したところ、対照マウスより 7%程度増加していた。さらに

TRPV1 と Runx1 の共存を検討したところ、対照マウス DRG ではほとんど観察されなかったが、骨がん疼痛モデルマウスでは TRPV1 陽性細胞の約 3%が Runx1 陽性であった。特に、中型～大型細胞に TRPV1 と Runx1 の共存が観察された。したがって、TRPV1 の発現増加に Runx1 が関与する可能性ある。今後、Runx1 の遺伝子発現制限モデルもしくは Runx1 の薬理的機能抑制により TRPV1 の発現がどのように変化するかの検討する予定である。

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 5 件)

①Kawamata T, Niiyama Y, Yamamoto J, Furuse S. Reduction of bone cancer pain by CB1 activation and TRPV1 inhibition. J Anesth 2010;24 : 328-332. (査読あり)

②Furuse S, Kawamata T, Yamamoto J, Niiyama Y, Omote K, Watanabe M, Namiki A. Reduction of bone cancer pain by activation of spinal cannabinoid receptor 1 and its expression in the superficial dorsal horn of the spinal cord in a murine model of bone cancer pain. Anesthesiology 2009; 111: 173-186. (査読あり)

③Niiyama Y, Kawamata T, Yamamoto J, Furuse S, Namiki A. SB366791, a TRPV1 antagonist, potentiates analgesic effects of systemic morphine in a murine model of bone cancer pain. Brit J Anaesth 2009; 102: 251-258. (査読あり)

④Kawamata T, Wenjin J, Yamamoto J, Niiyama Y, Furuse S, Omote K, Namiki A. Involvement of TRPV1 in endothelin-1-induced pain-like behavior. Neuroreport. 2009; 20: 233-237. (査読あり)

⑤Niiyama Y, Kawamata T, Yamamoto J, Omote K, Namiki A: Bone cancer increases transient receptor potential vanilloid subfamily 1 expression within distinct subpopulations of dorsal root ganglion. neuroscience 2007; 148:560-72. (査読あり)

[学会発表] (計 4 件)

①新山幸俊, 川股知之, 古瀬晋吾, 山本 純,

並木昭義骨がん疼痛におけるモルヒネおよび TRPV1 拮抗薬 (SB366971) の効果. 日本麻酔科学会第 56 回大会 (神戸) 2009. 08. 16-18

② Niiyama Y, Kawamata T, Furuse S, Namiki A:
Analgesic effects of novel TRPV1 antagonist and its interaction with morphine in bone cancer pain. 12th World Congress of PAIN, Grasmow, Scotland, UK. Aug. 17-22, 2008.

③ Niiyama Y, Kawamata T, Furuse S, Namiki A: Analgesic effects of a novel TRPV1 antagonist and its interaction with morphine in bone cancer pain. The 2007 ASA Annual Meeting, San Francisco, CA, USA. Oct. 13-7, 2007.

④ 新山幸俊, 川股知之, 山本 純, 表 圭一, 並木昭義: 骨がん性疼痛における TRPV1 の関与. 日本麻酔科学会第 54 回大会 (札幌) 2007. 05. 31-06. 02

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新山 幸俊 (NIIYAMA YUKITOSHI)
札幌医科大学医学部 講師
研究者番号 : 90423764