

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09334

研究課題名（和文）新しい痛み治療薬の開発に向けた炎症性内臓痛発現メカニズムの解明

研究課題名（英文）Study on the Mechanism of Inflammatory Visceral Pain Development for the development of New Pain Therapeutics

研究代表者

中田 亮子（Nakata, Ryouko）

和歌山県立医科大学・医学部・客員研究員

研究者番号：00405474

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）：炎症性腸疾患に伴う内臓痛におけるTmem45bの役割を解明することを目的として本研究を計画した。発現分布解析では、Tmem45bを発現する神経は大腸へほとんど分布しないことが明らかとなった。一方で大腸において上皮細胞に選択的に発現することを確認した。炎症性腸疾患モデルマウスを用いた行動解析試験により、Tmem45bは内臓痛には関与しない可能性が示唆された。また、Tmem45bノックアウトマウスは炎症性腸疾患モデルにおける炎症が重傷化することが組織学解析により明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炎症性腸疾患の発生機序や、付随する内臓痛に対する有効な治療薬が存在しない。本研究では、炎症性内臓痛発生におけるTmem45bの役割を解析したが、Tmem45bが内臓痛に関与している事を示唆する結果は得られなかった。一方でTmem45bが炎症性腸疾患の増悪に寄与している知見を得た。もし炎症性腸疾患の増悪の抑制を目的としてTmem45bをターゲットとした新薬が開発されるならば、炎症性腸疾患に罹患する患者のQOLを改善する画期的な治療薬となり得る。

研究成果の概要（英文）：This study was designed to elucidate the role of Tmem45b in visceral pain associated with inflammatory bowel disease. The expression distribution analysis revealed that Tmem45b-expressing nerves are rarely distributed in the colon. On the other hand, Tmem45b is selectively expressed on epithelial cells in the colon. Behavioral analysis studies using mouse models of inflammatory bowel disease suggested that Tmem45b may not be involved in visceral pain. Histological analysis also revealed that Tmem45b knockout mice have severe inflammation in the inflammatory bowel disease model.

研究分野：疼痛

キーワード：痛覚過敏 炎症性腸疾患 内臓痛

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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、潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患では、慢性炎症に伴う内臓痛のみならず、精神的・社会的な苦痛をもたらし、長期に渡り患者の QOL を著しく低下させる。炎症性腸疾患に対して現在、有用な根治療法はなく、種々の症状に対して対処療法を施すことのみである。炎症性内臓痛に対して、現在、非ステロイド性抗炎症薬やアセトアミノフェンによる薬物療法が行なわれているが、患者の身体的苦痛を十分に除去できていないのが現状である。非ステロイド性抗炎症薬は継続した服用により消化性潰瘍や消化管粘膜障害などの副作用を引き起こすだけでなく、炎症性腸疾患の再燃率が高いという問題点を抱えている (Ashwin NA et al. Ann Intern Med 2012.)。またアセトアミノフェンによる薬物療法は、過量投与により肝障害が生じるという問題を抱えており長期使用はできない (Lancaster EM et al. Arch Toxicol 2015.)。オピオイドは消化管蠕動運動を抑制してしまう。つまり、慢性炎症性腸疾患に伴う内臓痛に対して安全かつ有効な治療法は現時点では明らかになっていない。そもそも、慢性炎症に伴う内臓痛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。慢性炎症に伴う内臓痛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。

2. 研究の目的

慢性炎症性腸疾患に伴う内臓痛における Tmem45b の役割を解明し、新しい痛み治療薬開発のシードを呈示すること。

3. 研究の方法

実験 1 Tmem45b の発現解析

後根神経節において大腸に投射している神経細胞の解析を行う。逆行性神経トレーサーを大腸に投与することで後根神経節から大腸へ投射している神経細胞を可視化する。また、大腸における Tmem45b の局在を蛍光免疫染色確認する。

実験 2 Tmem45b 遺伝子欠損マウスを用いた Tmem45b の機能解析 (CRD テスト)

大腸の痛覚過敏に対する Tmem45b の関与を明らかにするために、大腸の伸展刺激に対する腹壁の筋収縮を筋電図で記録し解析する。全身麻酔下に外腹斜筋へ記録電極を留置する。大腸へ挿入したバルーンの内圧を変化させ、筋電図を測定する。Tmem45b 遺伝子欠損マウスで炎症性腸疾患モデルを作製し、対照マウスと比較検討する。

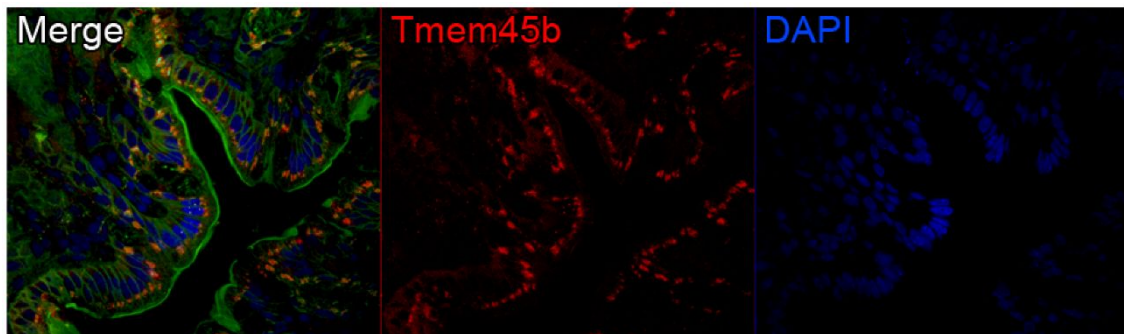
実験 3 炎症の重症度と Tmem45b の関係

DSS により作製した炎症性腸疾患モデルにおける腸炎の重症度を組織学的に解析する。大腸組織パラフィン切片を作製し、HE 染色を実施した。

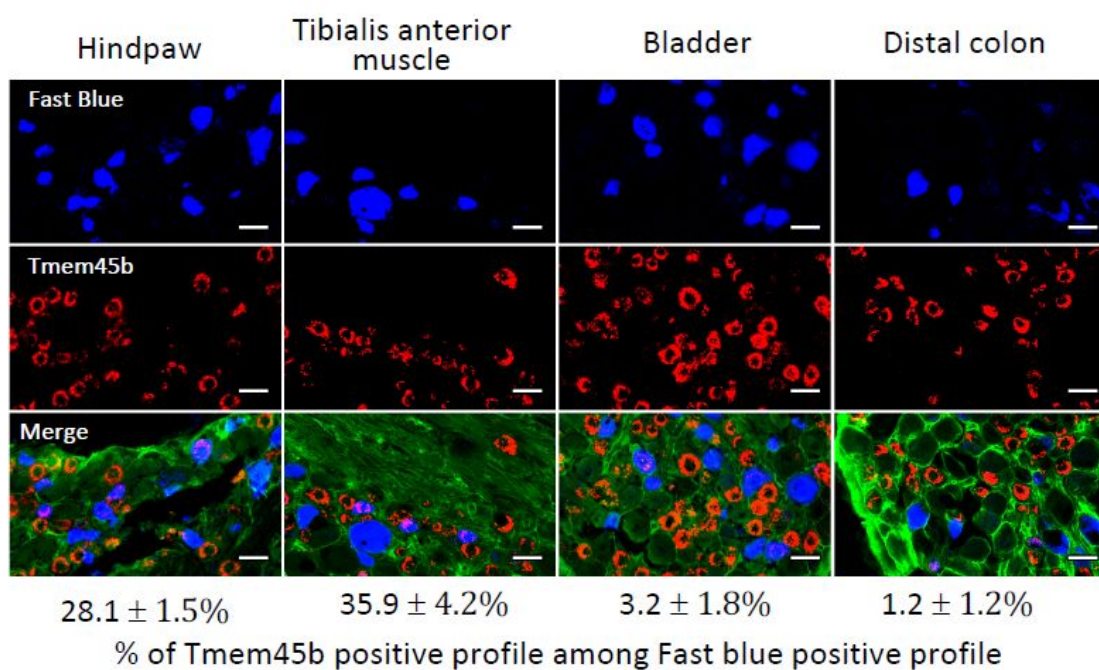
4. 研究成果

実験1 Tmem45b の発現解析

大腸組織において末梢神経の自由終末に Tmem45b の発現を確認できなかった。筋層間神経叢や粘膜下神経叢においても同様に Tmem45b の免疫陽性を確認できなかった。大腸組織において Tmem45b は上皮細胞に選択的に局在することを確認した。

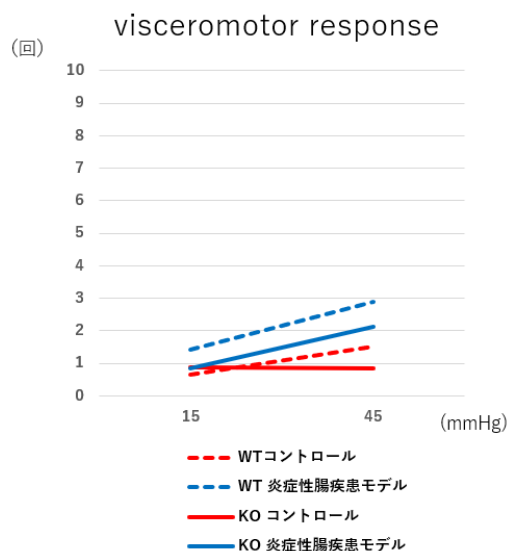


また、各種臓器に逆行性神経トレーサーFastblue を投与し、後根神経節において Tmem45b と二重染色を行った。Tmem45b 陽性の末梢神経は足底の皮膚や前脛骨筋に多く投射することを確認した（それぞれ $28.1 \pm 1.5\%$ 、 $35.9 \pm 4.2\%$ ）。一方、結腸や膀胱などの内臓への投射は少ない事が確認された（それぞれ $1.2 \pm 1.2\%$ 、 $3.2 \pm 1.8\%$ ）。



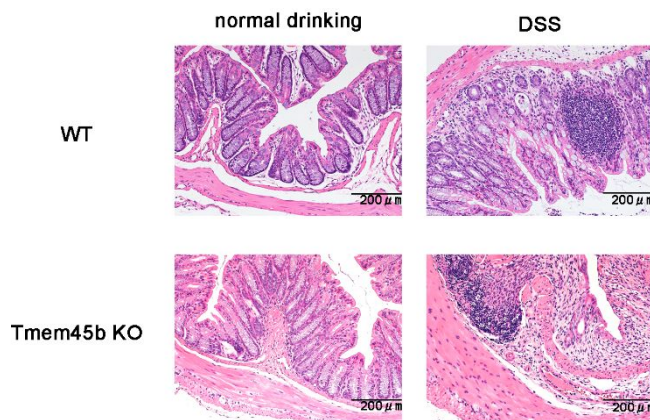
実験2 Tmem45b 遺伝子欠損マウスを用いた Tmem45b の機能解析 (CRD テスト)

バルーンによる大腸拡張に対する VMR (visceromotor response) を測定した。バルーン内圧は 15mmHg と 45mmHg とした。野生型マウスでは先行文献と同様に、コントロールと比較し炎症性腸疾患モデルにおいて VMR が上昇し痛覚過敏であることを確認した。一方 Tmem45b ノックアウトマウスを用いた実験では、Tmem45b が痛覚過敏の形成に關与することを示す結果は得られなかった。



実験 3 炎症の重症度と Tmem45b の関係

DSS 飲用により炎症性腸疾患モデルを作製する。Tmem45b ノックアウトマウスは DSS 飲用により炎症細胞の浸潤が増加するだけでなく、炎症に伴って組織構造が変成することを確認した。Tmem45b が炎症性腸疾患モデルの重症化に寄与する可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	谷奥 匡 (Tanioku Tadashi) (50554656)	和歌山県立医科大学・医学部・助教 (24701)	
研究分担者	吉田 朱里 (Yoshida Akari) (40584777)	和歌山県立医科大学・医学部・助教 (24701)	
研究分担者	川股 知之 (Kawamata Tomoyuki) (80336388)	和歌山県立医科大学・医学部・教授 (24701)	

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