

平成 23 年 6 月 14 日現在

機関番号 : 24303
研究種目 : 基盤研究 (C)
研究期間 : 2008~2010
課題番号 : 20591841
研究課題名 (和文) 知覚神経における疼痛関連遺伝子の転写活性制御の解析と疼痛治療への応用
研究課題名 (英文) Transcriptional gene regulation in the sensory nerve during chronic pain status.
研究代表者
天谷 文昌 (Amaya Fumimasa)
京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究者番号 : 60347466

研究成果の概要 (和文) : 転写因子 NF-IL6 と HMGB-1 の一次知覚神経における発現が慢性疼痛状態において増加することを明らかにされた。また、両者の働きを阻害することで疼痛は緩和し、両者の活性化が慢性疼痛の一因であることを証明した。

研究成果の概要 (英文) : Expression of NF-IL6 and HMGB-1 was increased in the DRG in animal model of chronic pain. Inhibition of each of NF-IL6 or HMGB-1 alleviated pain hypersensitivity in chronic pain models suggesting that they are crucial for the development of chronic pain.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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 : 痛覚過敏

1. 研究開始当初の背景

慢性疼痛はしばしば難治性であり、有効な治療法の確立が必要とされる。慢性疼痛の発症には知覚神経の機能亢進、すなわち知覚神経感作が関与すると言われている。そのメカニズムは蛋白リン酸化による各種受容体・神経伝達物質の活性化に加え、種々の遺伝子の発現が増加することによっても生じる。遺伝子の発現量は転写因子の誘導とクロマチン構造の変化との相互作用によって制御されるが、一次知覚神経において疼痛関連遺伝子の転写活性を制御する転写因子は特定されていない。NF-IL6 や HMGB-1 はサイトカイン等の刺激により活性化する転写因子であるが、知覚神経における役割は不明である。転写活性の制御には転写因子の誘導とともにクロマチンの構造変化が生じる必要がある。DNA はヒストンに巻き付く形で核内に収納されているが、遺伝子の転写開始に際しては転写開始領域の DNA がヒストンから解離する必要がある。DNA とヒストンの結合に影響を与える因子がヒストンの修飾であり、なかでもヒストンのアセチル化・脱アセチル化は遺伝子転写を制御する因子として重要である。NF-IL6 をはじめとする転写因子が DNA 上の転写開始領域と結合するためにはこのようなクロマチン構造の変化が生じる必要があるが、知覚神経におけるクロマチン構造変化の役割は不明である。

2. 研究の目的

転写因子 NF-IL6、HMGB-1 の一次知覚神経における発現変化を解析し、行動解析法によりそれらの機能を調査する。また、一次知覚神経のヒストンのアセチル化状態を調査し、一次知覚神経の活性にクロマチン構造の変化が関

与するか否かを検討する。

3. 研究の方法

慢性疼痛モデルとして我々が作成した炎症性神経炎モデルである periganglionic inflammation model (PGI) と Complete Freund adjuvant を足底に投与する末梢組織炎症モデル (CFA) ならびに神経絞扼モデル (spinal nerve ligation: SNL) モデルを使用した。NF-IL6 と HMGB-1 の定量には免疫組織化学法、リアルタイム PCR 法およびウェスタンブロッティング法をもちいた。ヒストンのアセチル化状態を調べるためには免疫組織化学法を用いた。また、行動解析法として、熱刺激に対する逃避時間、機械刺激に対する反応閾値を測定した。

4. 研究成果

慢性疼痛に関連する転写因子として NF-IL6 と HMGB-1 に焦点をあて機能解析を行った。

NF-IL6の機能解析

免疫組織化学の結果、PGIならびにSNLモデルの一次知覚神経においてNF-IL6陽性ニューロン数は増加した。リアルタイムPCRではNF-IL6 mRNAの発現量は処置前後で変化せず、NF-IL6陽性ニューロンの発現増加は転写後調節をうけて行われるものであることが示唆された。脊髄ニューロンにおいてはいずれのモデルにおいてもNF-IL6の発現は増加しなかった。NF-IL6のノックアウトマウスを用いた行動解析では、NF-IL6ノックアウトマウスは、野生型マウスと比較して熱刺激に対する痛覚閾値の低下（熱性痛覚過敏）が減弱していた。

HMGB-1の発現解析

一次知覚神経を摘出し、免疫組織化学およびウェスタンブロッティングによりHMGB-1の発現を解析した。その結果、HMGB-1が神経損傷によって一次知覚神経および周囲のグリア細胞に強く発現することが示された。抗HMGB-1抗体を一次知覚神経周囲に投与して行動解析を行ったところ、HMGB-1抗体投与群では機械刺激に対する疼痛閾値が上昇しており、HMGB-1を阻害することにより痛覚過敏は減弱した。これらの結果から、神経損傷に伴い一次知覚神経に誘導されるHMGB-1が神経障害性疼痛の成立に関与する可能性が示された。

一次知覚神経ならびに脊髄後角におけるヒストンのアセチル化状態の検索

疼痛モデルラットから一次知覚神経および脊髄を摘出し、ヒストンアセチル化状態を検討した。抗アセチル化ヒストンH3抗体を用いた検討では、DRGおよび脊髄後角ニューロンに一致してヒストンのアセチル化が認められた。疼痛モデルと対象群の比較ではヒストンアセチル化の亢進は認めなかった。

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 4 件)

- ① Shibasaki M, Sasaki M, Miura M, Mizukoshi K, Ueno H, Hashimoto S, Tanaka Y, Amaya F. Induction of high mobility group box-1 in dorsal root ganglion contributes to pain hypersensitivity after peripheral nerve injury. Pain. 2010 149(3):514-21.
- ② Amaya F, Samad TA, Barrett L, Broom DC, Woolf CJ. Periganglionic inflammation elicits a distally radiating pain

hypersensitivity by promoting COX-2 induction in the dorsal root ganglion. Pain. 2009 Mar;142(1-2):59-67.

- ③ Binshtok AM, Wang H, Zimmermann K, Amaya F, Vardeh D, Shi L, Brenner GJ, Ji RR, Bean BP, Woolf CJ, Samad TA. Nociceptors are interleukin-1beta sensors. J Neurosci. 2008 Dec 24;28(52):14062-73.
- ④ Kohno T, Wang H, Amaya F, Brenner GJ, Cheng JK, Ji RR, Woolf CJ. Bradykinin enhances AMPA and NMDA receptor activity in spinal cord dorsal horn neurons by activating multiple kinases to produce pain hypersensitivity. J Neurosci. 2008 Apr 23;28(17):4533-40.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 天谷文昌, 局所麻酔薬の近未来: 選択的 Na チャネル阻害薬が拓く夢の鎮痛法, 第 56 回日本麻酔科学会学術集会, 2009 年 8 月 17 日, 神戸
- ② 天谷文昌, 術後痛の基礎: 末梢組織および一次知覚神経, 日本ペインクリニック学会, 2010 年 7 月 10 日, 京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

天谷 文昌 (Amaya Fumimasa)
京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究者番号: 60347466

(2) 研究分担者

田中 雅樹 (Tanaka Masaki)
京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号 : 80264753

橋本 悟 (Hashimoto Satoru)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号 : 90167578