

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03026

研究課題名(和文) 新規鎮痛因子GRK2インタラクトームとミトコンドリア連関による慢性痛治療の確立

研究課題名(英文) Interaction between GRK2 interactome and mitochondrial dysfunction for the development of chronic pain

研究代表者

天谷 文昌 (Fumimasa, Amaya)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60347466

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：慢性痛の成立に対するGタンパク受容体キナーゼ(GRK)2とミトコンドリアの関与について調査した。一次知覚神経においてGRK2が制御する分子(GRK2インタラクトーム)を同定するべく、タンパクリン酸化の網羅的解析を行い、GRK2によりリン酸化される候補タンパクを複数同定した。疼痛が慢性化するモデルとして、オピオイド誘発性術後慢性痛モデルを開発し、ミトコンドリア機能とGRK2の活性について調査し、双方の機能が変化することを明らかにした。これらの所見から、慢性痛成立時にGRK2活性が変化して細胞内分子の機能に変調をきたすことでミトコンドリアの機能低下が生じている可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性疼痛は頻度の高い疾患であり、患者の社会的経済的負担は大きい。有効な治療法は確立しておらず、病態メカニズムに則った新しい治療法が必要である。我々はGRK2の機能に鎮痛作用があること、慢性痛の成立に神経のミトコンドリア機能不全が関与する事を示している。本研究では、慢性痛成立時にGRK2の機能低下とミトコンドリア機能不全の双方が関与することを明らかにした。このことにより、GRK2やミトコンドリアの機能を改善する治療法が慢性疼痛の治療として有効である可能性が示されている。

研究成果の概要(英文)：The role of G-protein receptor kinase (GRK) 2 and mitochondria in the pathophysiology of chronic pain was investigated. To identify molecules regulated by GRK2 in primary sensory neurons, a Phosphoproteomic analysis was conducted and identified several candidate molecules which were phosphorylated by GRK2. As a model of chronic pain, an opioid-induced postoperative chronic pain model was developed to investigate mitochondrial dysfunction and GRK2 activity. Both of the mitochondrial function and GRK2 activity was dysregulated in the chronic pain model. These findings indicate that mitochondrial dysfunction may be caused by altered GRK2 activity and modulation of the intracellular molecule's function during the establishment of chronic pain.

研究分野：麻酔科学

キーワード：ミトコンドリア GRK2 慢性疼痛

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国において慢性痛は高い有病率を示し、莫大な経済コストが大きな社会問題となっている。慢性痛の多くは難治性であり、新たな治療法の確立が急務である。

Gタンパク質共役型受容体キナーゼ (GRK)2 はさまざまな組織において細胞内情報伝達機構に関わるタンパクキナーゼの一種である。我々は、GRK2 が一次知覚神経に発現し、ラット足底切開モデルにおける創傷治癒期に GRK2 阻害剤を投与することで術後痛が再燃し、慢性化する現象を観察している。一次知覚神経における GRK2 の発現は創傷治癒期に増加しており、GRK2 による鎮痛作用の増大で術後痛の慢性化が抑止される。このことは、GRK2 が内因性鎮痛機構の起点として働くことを示唆する。ミトコンドリアは細胞機能の基盤を担う小器官である。細胞内外の環境変化はミトコンドリアへの負荷となり、その機能低下はさまざまな慢性疾患の原因となる (ミトコンドリアストレス)。我々は、慢性痛モデルにおいて一次知覚神経にミトコンドリアストレスが生じることを報じている。ミトコンドリアストレスは GRK2 を含む細胞内情報伝達系の機能変化をもたらすが、一次知覚神経における両者の関連は知られていなかった。

2. 研究の目的

本研究では GRK2 とその下流において GRK2 に制御されるシグナル因子の一群 (GRK2 インタラクトーム) と慢性痛の関連についてミトコンドリアストレスと関連して解析をすすめ、慢性痛治療戦略に新たな視点を提供する。

3. 研究の方法

3.1. GRK2 インタラクトームの網羅的解析

我々は術後痛モデルの疼痛消退時に知覚神経の GRK2 機能が亢進することを明らかにしている。ラット術後痛モデルを作成、GRK2 阻害剤を投与した群と投与しなかった群から後根神経節を採取、網羅的リン酸化解析を二次元電気泳動法ならびにリン酸化タンパク染色により実施した。

3.2.

オピオイド誘発性術後慢性痛モデルの開発

オピオイド内服患者では術後痛が遷延しやすいことが疫学調査で知られている。その神経学的機序を解析するため、オピオイド誘発性術後慢性痛モデルを開発した。モルヒネを連日皮下投与し、7 日後に術後痛モデルを作成、行動解析を行った。モデル動物から後根神経節を採取し、GRK2 の発現とミトコンドリア機能の測定を行った。

4. 研究成果

4.1. GRK2 インタラクトームの網羅的解析

GRK2 阻害剤の有無によりリン酸化の程度が異なるタンパクを複数同定した。タンパクには抗炎症作用や受容体機能を持つ分子などが含まれており、今後詳細を調査する。

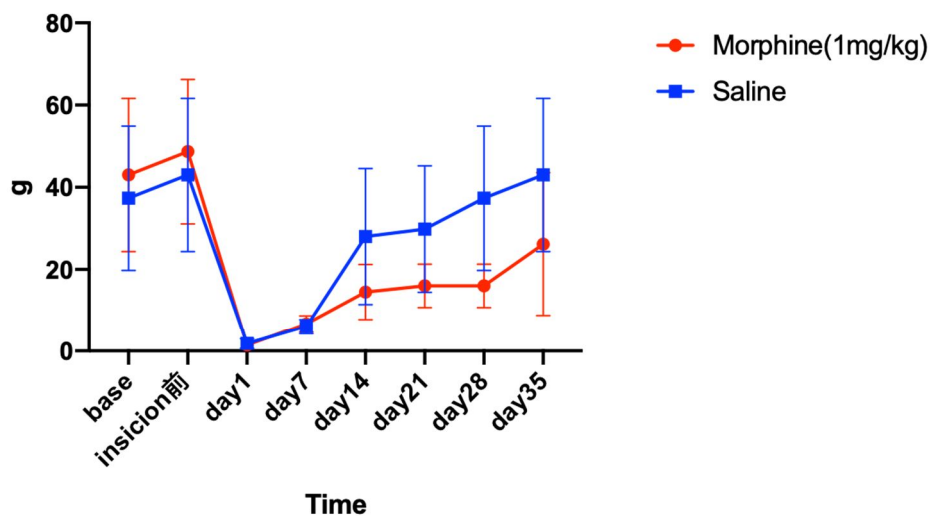
4.2. オピオイド誘発性術後慢性痛モデルの開発

モルヒネ前処置により術後痛モデルにおける機械痛覚過敏は遷延した。一方、熱痛覚過敏には影響を認めなかった。

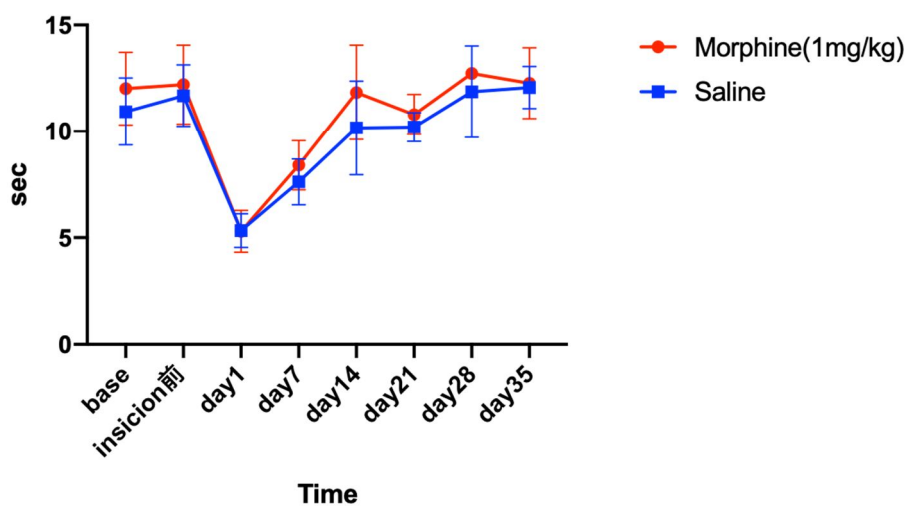
Group ID	Vehicle			GRK2 inhibitor			Sum of %Volume (Vehicle + GRK2 inhibitor: SYPRO Ruby)	Difference of D/S ratio
	Pro-Q Diamond (%Volume)	SYPRO Ruby (%Volume)	D/S ratio	Pro-Q Diamond (%Volume)	SYPRO Ruby (%Volume)	D/S ratio		
1082	0.152	0.070	2.168	N.D	0.090	N/A	0.160	N/A
2626	0.892	0.105	8.495	N.D	0.033	N/A	0.138	N/A
1729	0.120	0.067	1.804	N.D	0.034	N/A	0.101	N/A
1733	0.098	0.154	0.635	N.D	0.133	N/A	0.287	N/A
666	0.093	0.176	0.528	N.D	0.159	N/A	0.334	N/A
2204	0.062	0.051	1.204	N.D	0.045	N/A	0.096	N/A
1820	0.191	0.047	4.098	0.063	0.044	1.428	0.091	0.348
1892	0.050	0.029	1.726	0.026	0.033	0.794	0.062	0.460
879	0.126	0.063	1.982	0.154	0.169	0.912	0.233	0.460
1702	0.088	0.040	2.235	0.054	0.044	1.227	0.084	0.549
1534	0.049	0.061	0.808	0.044	0.100	0.444	0.161	0.550
2095	0.227	0.051	4.464	0.128	0.051	2.498	0.102	0.560
1761	0.276	0.063	4.396	0.143	0.056	2.558	0.119	0.582
627	0.720	0.101	7.107	0.438	0.103	4.252	0.204	0.598
1821	0.198	0.035	5.631	0.112	0.033	3.382	0.068	0.601
1878	0.501	0.079	6.322	0.529	0.138	3.838	0.217	0.607
1515	0.048	0.056	0.853	0.030	0.055	0.542	0.111	0.636
1380	0.082	0.033	2.467	0.037	0.023	1.575	0.057	0.638
629	0.967	0.080	12.115	0.863	0.110	7.812	0.190	0.645
2225	0.183	0.059	3.115	0.106	0.051	2.069	0.110	0.664

Group ID	Vehicle			GRK2 inhibitor			Sum of % Volume (Vehicle + GRK2 inhibitor: SYPRO Ruby)	Difference of D/S ratio
	Pro-Q Diamond (%Volume)	SYPRO Ruby (%Volume)	D/S ratio	Pro-Q Diamond (%Volume)	SYPRO Ruby (%Volume)	D/S ratio		
721	N.D	0.105	N/A	0.159	0.099	1.607	0.204	N/A
2286	0.026	0.039	0.672	0.070	0.034	2.063	0.073	3.070
2302	0.028	0.034	0.840	0.061	0.027	2.311	0.060	2.752
851	0.056	0.022	2.626	0.204	0.029	6.959	0.051	2.650
2476	0.054	0.036	1.518	0.082	0.020	4.017	0.056	2.647
941	0.040	0.031	1.294	0.089	0.032	2.779	0.063	2.147
815	0.040	0.034	1.172	0.094	0.038	2.463	0.073	2.101
1120	0.135	0.060	2.244	0.363	0.079	4.608	0.139	2.054
1339	0.037	0.039	0.950	0.071	0.038	1.874	0.077	1.973
2133	0.034	0.036	0.949	0.056	0.030	1.853	0.066	1.952
2003	0.075	0.519	0.144	0.155	0.598	0.259	1.117	1.793
2036	0.024	0.029	0.810	0.030	0.021	1.424	0.050	1.758
632	0.089	0.073	1.214	0.170	0.080	2.128	0.153	1.753
2125	0.021	0.030	0.706	0.029	0.023	1.236	0.053	1.750
865	0.084	0.311	0.270	0.151	0.322	0.467	0.633	1.726
1861	0.086	0.054	1.583	0.121	0.045	2.685	0.099	1.696
1345	0.042	0.055	0.754	0.066	0.052	1.273	0.107	1.688
1812	0.032	0.053	0.608	0.048	0.047	1.021	0.101	1.681
2461	0.017	0.026	0.679	0.097	0.085	1.137	0.111	1.674
1444	0.025	0.045	0.565	0.041	0.046	0.883	0.091	1.562
2232	0.053	0.135	0.393	0.073	0.122	0.595	0.257	1.514
1633	0.098	0.036	2.754	0.126	0.030	4.150	0.066	1.507

Morphine priming(Mechanical)



Thermal



モデル動物から採取した後根神経節を用いて、ミトコンドリア機能とGRK2の発現を解析したところ、ミトコンドリア機能の低下とGRK2発現の現象が明らかとなった。両者の機能の関連性について、今後さらに解析をすすめる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shiraishi Makoto, Sowa Yoshihiro, Kodama Takuya, Numajiri Toshiaki, Taguchi Tetsuya, Amaya Fumimasa	4. 巻 88
2. 論文標題 Localization of Chronic Pain in Postmastectomy Patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Plastic Surgery	6. 最初と最後の頁 490 ~ 495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SAP.0000000000003146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshii Ryogo, Sawa Teiji, Kawajiri Hidetake, Amaya Fumimasa, Tanaka Kenichi A., Ogawa Satoru	4. 巻 12
2. 論文標題 A comparison of the ClotPro system with rotational thromboelastometry in cardiac surgery: a prospective observational study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-22119-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Amaya Fumimasa	4. 巻 29
2. 論文標題 Sedation, analgesia and withdrawal syndrome in critical care settings	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Japanese Society of Intensive Care Medicine	6. 最初と最後の頁 269 ~ 270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3918/jsicm.29_269	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 松岡 豊、天谷 文昌	4. 巻 29
2. 論文標題 デュロキセチン内服中に褐色細胞腫との鑑別を要する高血圧が生じた1症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本ペインクリニック学会誌	6. 最初と最後の頁 27 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11321/jjspc.21-0018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueno Hiroshi, Kakita Mari, Amaya Fumimasa, Mikami Yasuo	4. 巻 59
2. 論文標題 Diabetic Neuropathy and Rehabilitation Treatment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine	6. 最初と最後の頁 1222 ~ 1230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2490/jjrmc.59.1222	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大屋(堀江) 里奈、天谷 文昌	4. 巻 29
2. 論文標題 別冊秋号 オピオイド PART1 臨床編 6 術前オピオイド使用患者の術後鎮痛	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 LiSA 別冊	6. 最初と最後の頁 37 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.3104200288	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 谷口 彩乃、天谷 文昌	4. 巻 65
2. 論文標題 特集 末梢神経-Current Concept in 2022 .最近の話題 神経障害性疼痛のメカニズムと治療における最近のトピックス	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 整形・災害外科	6. 最初と最後の頁 715 ~ 723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18888/se.0000002144	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takemura Hitomi, Kushimoto Kohsuke, Horii Yasuhiko, Fujita Daisuke, Matsuda Megumi, Sawa Teiji, Amaya Fumimasa	4. 巻 177
2. 論文標題 IGF1-driven induction of GPCR kinase 2 in the primary afferent neuron promotes resolution of acute hyperalgesia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Research Bulletin	6. 最初と最後の頁 305 ~ 315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainresbull.2021.10.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山北 俊介 天谷 文昌
2. 発表標題 若手研究者から痛み治療への提言 オピオイド痛覚過敏の末梢メカニズム(後根神経節)
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 天谷 文昌
2. 発表標題 慢性痛の末梢神経における発生メカニズム
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔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	中川 貴之 (Nakagawa Takayuki) (30303845)	和歌山県立医科大学・薬学部・教授 (24701)	
研究分担者	大橋 憲太郎 (Oh-hashii Kentaro) (50332953)	岐阜大学・工学部・教授 (13701)	

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
---------	---------