

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791400

研究課題名（和文）

ブラジキニン B 1 受容体-ルシフェラーゼマウスを用いた慢性疼痛のライブイメージング

研究課題名（英文）

In vivo imaging of neuropathic pain using novel transgenic Bdkrb1-ffLuc mice

研究代表者

辻 収彦 (TSUJI OSAHIKO)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：70424166

研究成果の概要（和文）：ブラジキニン B1 受容体（以下 Bdkrb1）のプロモータ下に新規蛍光発光レポーター遺伝子を発現する新規遺伝子改変マウス(Bdkrb1-ffLuc マウス)を作製し、慢性疼痛刺激状態下において傷害側にルシフェラーゼ発光が認められることを報告し、新たな神経因性疼痛のイメージング方法を構築した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we generated a novel transgenic mouse expressing ffLuc, a novel reporter gene, which could express both fluorescent and luminescent proteins (a variant of YFP and Luc2), under the control of the Bdkrb1 promoter (Bdkrb1-ffLuc). In this novel mouse, we made well known neuropathic pain models. First, we performed the Seltzer model, partial sciatic nerve ligation model. At 2 weeks post-injury, a robust luminescent signal was detected on the injured side, whereas a mild signal was also detected on the contralateral side. Furthermore, the luminescent signal was shifted from ipsilateral to contralateral side at 4 weeks post-injury.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：ブラジキニン B1 受容体、ルシフェラーゼ発光、神経障害性疼痛モデル

1. 研究開始当初の背景

動物研究レベルにおいても、脊髄損傷モデル動物は確立されているが、脊髄損傷後の知覚障害に対する治療及び評価法は未だ発展途上であるのが現状である。また、末梢神経損傷に伴う慢性疼痛動物モデルは種々存在し古くから研究が行われているが、その痛みを可視化して定量的に評価する系は皆無であると言っても過言ではない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、新規に作製したトランスジェニックマウス（Bradykinin Receptor B1-Luciferase マウス；以下 Bdkrb1-Luc マウス）を用いた、慢性疼痛を可視化させ定量的評価を可能にする新たなモデルを確立することである。

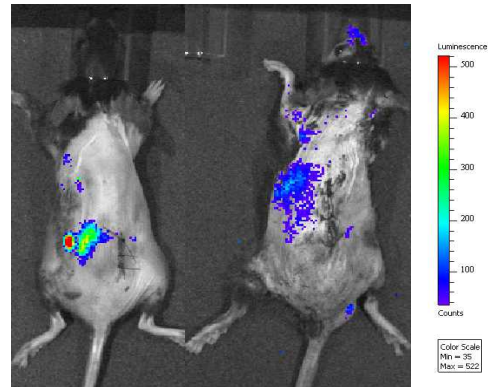
3. 研究の方法

ブラジキニン B1 受容体（以下 Bdkrb1）のプロモータ下に新規蛍光発光レポーター遺伝子 ffLuc を発現する新規遺伝子改変マウス（Bdkrb1-ffLuc マウス）を BAC clone を用いて作製した。このマウスを用いて、慢性疼痛モデルを作製した。

4. 研究成果

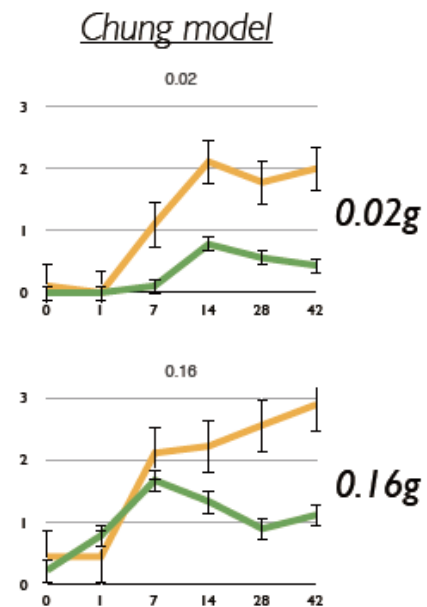
成体 Bdkrb1-ffLuc マウスに吸入麻酔下に慢性疼痛モデル(modified Chungモデル)を左後肢に作製し、損傷後経時的に動物を生きのまま発光ライブイメージングを行ったところ、慢性疼痛刺激状態下において傷害側にルシフェラーゼ発光が認められることを発光イメージ

ングシステム (IVIS200) にて動物を生きのまま確認した(図1)。



(図1)

Chungモデル作製側においては、術後4日の時点で損傷側後肢近位部に強い発光が認められ、術後7日目まで発光は持続し、損傷後2週では発光は検出レベル以下へと減弱していた。von Freyテスト・Paw withdrawalテストによる後感覚機能評価においては、損傷側で痛覚過敏となっており、allodyniaを呈していた(図2)。



(図2)

損傷後1週・2週の時点で組織学的検討を行ったところ、ffLucの緑色蛍光が主にDRGにおいて強く認められ、Bradykinin B1受容体と二重陽性となっており、脊髄後角においても小型球形細胞においてffLucの発現が認められた。これらの結果より、マウスmodified Chungモデルにおいては、ラットの場合と異なり、術後1週をピークに発光が損傷側DRGにおいて強く認められた。これらのデータを解析し、現在論文執筆中である。

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0件)

[学会発表](計6件)

1. Osahiko Tsuji, Tsunehiko Konomi, Kanehiro Fujiyoshi, Akimasa Yasuda, Morio Matsumoto, Kazuhiro Chiba, Yoshiaki Toyama, Hirotaka James Okano, Hideyuki Okano, Masaya Nakamura.
in vivo imaging of neuropathic pain using novel transgenic mice.
(Poster) Neuroscience meeting 2011, Washington DC, USA, 2011/11/12 -16
2. 辻収彦、許斐恒彦、藤吉兼浩、岡野James洋尚、安田明正、海苔聡、松本守雄、千葉一裕、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也
「ルシフェラーゼ発光による慢性疼痛のライブイメージング」
(シンポジウム査読有) 第26回日本整形外科学会基礎学術集会 2011/10/20 -21 前橋
3. 辻収彦、許斐恒彦、藤吉兼浩、原央子、岡野James洋尚、安田明正、松本守雄、千葉一裕、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也
「ルシフェラーゼ発光による神経因性疼痛のライブイメージング 【第2報】」
(口頭発表査読有) 第40回日本脊椎脊髄病学会 2011/4/21 -23 東京
4. Osahiko Tsuji, Hirotaka James Okano, Kanehiro Fujiyoshi, Yoshiaki Toyama, Hideyuki Okano, and Masaya Nakamura.
In vivo imaging of neuropathic pain using novel transgenic mice
The 16th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience
東京、2010年12月1 -2日 ポスター発表 査読有
5. 辻収彦、岡野ジェームス洋尚、神吉浩明、原央子、藤吉兼浩、許斐恒彦、安田明正、石井賢、松本守雄、千葉一裕、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也
新規遺伝子改変マウスを用いた神経因性疼痛のライブイメージング 【第1報】
(口頭発表 査読有)第25回日本整形外科学会基礎学術集会 2010/10/14 -15 京都
6. 辻収彦、岡野James洋尚、神吉浩明、原央子、藤吉兼浩、安田明正、渡辺航太、辻崇、石井賢、松本守雄、千葉一裕、岡野栄之、戸山芳昭、中村雅也
「神経因性疼痛のライブイメージング 【第1報】」
(口頭発表) 第39回日本脊椎脊髄病学会 2010/4/21 -23 高知

〔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
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻 収彦 (TSUJI OSAHIKO)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：70424166