

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 16 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791450

研究課題名（和文） 痛覚過敏における $\beta 2$ アドレナリン受容体の細胞内シグナリングのメカニズム解明

研究課題名（英文） Advances in the understanding of mechanisms of intracellular signaling via beta2 adrenergic receptor in the hypersensitivity state

研究代表者

高取 真由美 (TAKATORI MAYUMI)

京都府立医科大学・医学部附属病院・専攻医

研究者番号：00515281

研究成果の概要（和文）：

神経障害性疼痛モデルである SNL モデルラットの一次知覚神経において $\beta 2$ アドレナリン受容体の発現量増加が認められた。SNL モデルラットに $\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬を投与し、痛覚閾値の変化を検討した結果、痛覚閾値低下を抑制する傾向が見られた。SNL モデルラットに投与された $\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬は熱刺激、機械刺激の両方の痛覚閾値の低下を抑制する傾向を示したものの、その細胞内シグナリングまでは明らかに出来なかった。

研究成果の概要（英文）：

We found out an increase in beta2 adrenergic receptor expression in the primary sensory neurons after peripheral nerve injury. The efficacy of beta2 adrenergic blocker to reduce pain was investigated. We found out the tendency to suppress the decrease of the thresholds to pain after beta2 adrenergic blocker was administered to SNL model rats. Although we found out the tendency to suppress the decrease of the thresholds to painful stimuli both thermal and mechanical, we couldn't bring out the intracellular signaling via beta2 adrenergic receptor in the hypersensitivity state.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
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・麻酔・蘇生学

キーワード：痛覚過敏、 $\beta 2$ アドレナリン受容体、細胞内シグナリング

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛(neuropathic pain)は神経

系の病気であり、その原因は神経損傷や感染など多岐にわたる。また炎症と痛覚過敏には密接な関係があり、そのメカニズムは解明されつつあるが、未だ不明な点も多い。神経障害性疼痛や炎症性疼痛にアドレナリン受容体が関与するという報告があるが、その多くは α アドレナリン受容体に関する研究である。近年、 $\beta 2$ アドレナリン受容体が OIH (Opioid Induced Hyperalgesia)や抗うつ薬の鎮痛作用と関係があるという報告が散見され、そのメカニズムが少しずつ解明されてきたが、不明な点も多い。過去の報告によるとエピネフリンによる痛覚過敏 (Epinephrine induced hyperalgesia)に ERK (Extracellular signal-related kinase)1/2 が関与し、Gi/o-Ras-ERK1/2 pathway が Epinephrine Induced Hyperalgesia に重要な役割を果たしている。また $\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬により、このGi/o-Ras-ERK1/2 pathway が阻害され、痛覚過敏が抑制されるという報告もある。更に、 $\beta 2$ アドレナリン受容体のノックアウトマウスを用いた研究では、神経障害性疼痛モデルにおける抗うつ薬の鎮痛作用に $\beta 2$ アドレナリン受容体が重要であることを示している。またOIHに関して $\beta 2$ アドレナリン受容体の遺伝子多型性が痛覚過敏の程度と関係しており、 $\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬の投与により痛覚過敏が抑制されることが報告されている。また、神経損傷後の傷害側後根神経節での $\alpha 1b$ 、 $\alpha 2a$ 、 $\alpha 2d$ 、 $\beta 2$ アドレナリン受容体の mRNA 量が増加しており、これらの受容体が神経損傷後の痛覚過敏に関与しているという報告もある。このように痛覚過敏において $\beta 2$ アドレナリン受容体は非常に重要な役割を果たしているにもかかわらず、そのメカニズムはあまり分かっていない。

2. 研究の目的

神経障害性疼痛モデル及び炎症性疼痛モデルにおける痛覚過敏と $\beta 2$ アドレナリン受容体の関係を調査した研究は少なく、神経損傷後の傷害側後根神経節において $\beta 2$ アドレナリン受容体 mRNA の発現が増加していることから神経障害性疼痛モデル及び炎症性疼痛モデルにおける痛覚過敏と $\beta 2$ アドレナリン受容体の関係を解析し、 $\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬の痛覚過敏抑制効果を調査する。

3. 研究の方法

炎症性疼痛モデルを作成するため、ラット(200g)をイソフルランによる全身麻酔後、開腹し、盲腸を露出させる。絹糸で結紮し、針で結紮した末梢側の盲腸に孔を開け、CLP (Cecal Ligation and Puncture)モデルを作成した。

神経障害性疼痛モデルを作成するため、ラット(200g)をイソフルランによる全身麻酔後、脊髄神経 L4, L5 を露出させる。その後 L5 脊髄神経を絹糸で結紮することで Spinal Nerve Ligation (SNL)モデルを作成した。

SNL モデル作成後、痛覚閾値の変化を SNL モデル作成後 1, 3, 5, 7, 10, 14 日目に行動解析法により定量評価した。

行動解析法は以下の通りである。熱刺激に対する痛覚閾値の定量評価には 50℃に熱した鉄板の上に載せ、逃避行動までの時間を計測した (Hot Plate 法)。また機械刺激に対する痛覚閾値の定量評価には von Frey Filament を用いた (von Frey 法)。

$\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬は SNL モデルラットの神経結紮部位近傍に浸透圧ポンプを用いて投与した。

一次知覚神経における $\beta 2$ アドレナリン受容体の発現解析はSNLモデルラットより採取した組織より凍結切片を作成し、免疫組織化学染色により発現解析を行った。

一次知覚神経における $\beta 2$ アドレナリン受容体タンパク質量を測定するため、一次知覚神経よりタンパク質を抽出する。

4. 研究成果

$\beta 2$ アドレナリン受容体の発現解析

$\beta 2$ アドレナリン受容体は対照群ラットの一次知覚神経においても発現している。その発現は主に一次知覚神経の小型神経細胞に発現していた。SNLモデル作成後、神経損傷により一次知覚神経における大型神経細胞での発現が増加していることが示唆された。

以上のことから一次知覚神経において神経損傷により発現が増加した $\beta 2$ アドレナリン受容体が痛覚過敏に関与している可能性がある。

$\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬の痛覚過敏抑制効果の検討

$\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬をSNLモデルラットの神経損傷部位に投与した。低容量の $\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬は熱刺激および機械刺激における痛覚閾値の低下を抑制する傾向が認められた。しかしながら、高容量の $\beta 2$ アドレナリン受容体遮断薬では熱刺激および機械刺激に対する痛覚閾値の低下を抑制することができなかった。

以上のことから一次知覚神経において神経損傷後に発現増加していた $\beta 2$ アドレナリン受容体を遮断することで痛覚閾値の低下を抑制することができる可能性があるが、高容量では痛覚閾値の低下を抑制できないことから投与する $\beta 2$ アドレナリン受容体をよ

り低用量にして検討する必要がある。

$\beta 2$ アドレナリン受容体タンパク質の定量的評価

免疫組織化学染色により発現量増加が示唆された $\beta 2$ アドレナリン受容体について、定量的評価する必要がある。一次知覚神経における $\beta 2$ アドレナリン受容体タンパク質量を定量的評価するため、一次知覚神経よりタンパク質を抽出した。

炎症性疼痛モデルにおける疼痛閾値の検討

炎症性疼痛モデルにCLP (Cecal Ligation and Puncture)モデルを用いた。しかしながらCLPモデルラットの死亡率が高く、生存率を上げることに難渋した。更にCLPモデルラットの活動性低下が著しく、痛覚閾値を評価することが困難であった。したがって本研究では神経障害性疼痛モデルであるSNLモデルのみの検討となった。

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1件)

Ueda K, Hirose M, Murata E, Takatori M, Ueda M, Ikeda H, Shigemi K. Local administration of synthetic cell-penetrating peptide antagonizing Trk A function suppresses inflammatory pain in rats. J Pharmacol Sci 2010;112(4):438-43.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高取 真由美 (TAKATORI MAYUMI)

京都府立医科大学・医学部附属病院・専攻
医

研究者番号：00515281