

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592339

研究課題名(和文)BDNFエクソンをターゲットとする痛みの評価と遺伝子療法

研究課題名(英文)Pain evaluation and gene therapy for BDNF exon

研究代表者

横山 正尚(YOKOYAMA, Masataka)

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：20158380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の主眼は、痛みのニューロモジュレーターとして機能する脳由来神経栄養因子(BDNF)を痛みのマーカーとして利用し、BDNFをターゲットとした痛みの遺伝子療法を目指すものであった。

本研究を通じて、以下の点が明らかとなった。脊髄レベルでのBDNF発現介入による鎮痛効果は限界があり、ターゲットを「脳レベル」に絞ることで鎮痛効果を得る可能性を示した。さらに、脳内のBDNF発現介入はうつ様行動を変化させ、神経障害性疼痛における臨床応用の可能性を示した。また、鼻腔からのBDNF投与は脳内BDNF発現を効率よく変化させた。

研究成果の概要(英文)：The principal objective of this study was to aim at the gene therapy for pain by target of BDNF exon, which was derived from a brain, functioning as a neuromodulator of the pain.

Through this study, the following points became clear. The analgesic effect by the BDNF manifestation intervention at the spinal cord level had a limit. There was possibility to obtain more analgesic effect by focusing a target to "a brain level BDNF". Furthermore, the intervention of brain BDNF manifestation changed an action like depression and showed possibility of the clinical application in the neuropathic pain. The BDNF administration from a nasal cavity changed brain BDNF manifestation efficiently.

研究分野：麻酔科学

キーワード：BDNF 疼痛 遺伝子療法 痛み評価

1. 研究開始当初の背景

当グループでは根治的療法として痛みの遺伝子療法を目指し成果を報告してきた (Anesth Analg 98:2004、Anesth Analg 104: 2007、Brain Res 1219:2008)。特に脊髄の後根神経節ニューロンでの疼痛関連遺伝子の抑制をここ数年研究してきたが、脊髄の BDNF に着目し、BDNF エクソンを我々は解析し、世界に先駆けて報告した (Biochem Biophys Res Commun 362:2007、Brain Res 1206:2008)。さらに BDNF をノックダウンして、痛み治療に応用しようと試みた (Biochem Biophys Res Commun 408:2011)が、満足する成果はいまだ得られていない。

これらを受けて、従来からの神経障害性痛モデルを新しい評価法で詳細に分析し、痛みの遺伝子療法での問題点を明らかにしようとする本研究の企画に至った。特に、特定 BDNF エクソンの発現と痛みの行動評価が相関すれば、特定された BDNF エクソンが客観的な痛みの強さのマーカーとして期待される。その上で、本研究では痛み行動の特徴から、BDNF エクソンに対する遺伝子療法の基礎を確立させる。

2. 研究の目的

本研究の主眼は、神経障害性痛モデルの痛みを新方法により詳細に再評価し、痛みのニューロモジュレータとして機能する脳由来神経栄養因子(BDNF)を痛みのマーカーとして利用する。その上で、BDNF をターゲットとした痛みの遺伝子療法を目指すものである。

具体的には、(1)神経障害性痛モデルの痛み行動を最新の方法で正確に評価し、(2)その際の脊髄後根神経節(DRG)の BDNF エクソンを解析し、痛みの強さを評価することを可能とする。(3)最終的には客観的な痛み評価に基づき、BDNF を効率よく脊髄内あるいは脳内に投与し、痛みの遺伝子療法の応用を目指す。

3. 研究の方法

【平成 24 年度】

(1)神経障害性痛モデルの作成と痛みの行動の詳細な評価

ラット神経障害性モデル(L5 脊髄神経結紮)において、von Frey フィラメントおよびピン刺激で疼痛反応を詳細に判定し、痛み行動なし、弱い痛み、強い痛み行動群に分類し、痛みの強さ評価を客観的にスコア化する。

(2)痛み行動の強さと脊髄後根神経節(DRG)での各 BDNF エクソンの発現量の関係

1)で分類した群で、取り出した DRG から抽出した BDNF の総量ならびに各エクソンの発現量を測定し、最も痛み行動と相関するエク

ソンを特定し、痛みの測定マーカーの候補とする。

【平成 25 年度】

(1)BDNF デコイの作成

われわれの過去の報告に従い、特定した BDNF エクソンのフラグメントをプラスミドに組み込み、PCR により増幅、精製、調整しデコイを作成する。

(2)BDNF デコイによるノックダウンの確認

作成したデコイを脊髄ならびに脳内投与し、BDNF 発現抑制の確認をする。

デコイ投与後の痛み行動の変化を脊髄投与群および脳内投与で観察、比較する。

【平成 26 年度】

(1)疼痛モデルへの投与と鎮痛効果の確認

前年度の結果より BDNF 発現増加による鎮痛効果を確認した。

BDNF 直接投与の影響を神経障害性モデルの脊髄内および脳内投与により痛み行動の変化から、鎮痛効果を明らかにする。

(2)遺伝子療法の確立

投与方法、投与量などの違いによる鎮痛効果の正確な評価を、研究を通じて確立した痛み行動評価により詳細に検討する。

4. 研究成果

(1)「脊髄レベルでの BDNF」発現介入による鎮痛効果が認められるが、効果には限界がある。

(2)ターゲットを「脳レベルでの BDNF」に絞ることでより、より鎮痛効果を得る可能性を示した。

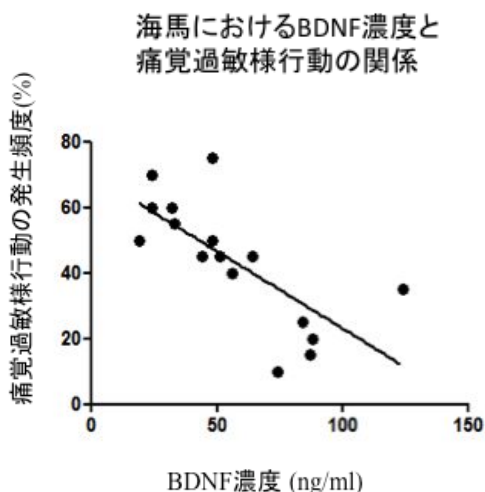
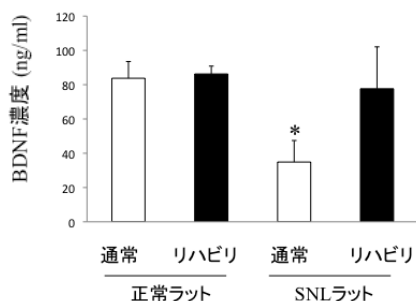
(3)鼻腔からの BDNF 投与は脳内 BDNF 発現を効率よく変化させた。

(4)脳内の BDNF 発現介入はうつ様行動を変化させ、神経障害性疼痛における臨床応用の可能性を示した。

以上の成果を論文、学会発表で成果として報告した。

神経障害性痛モデルラットにおける脳由来神経栄養因子の脳内変化.

第7回PMRG. 2014. 3. 1, 東京



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

Sugimura N, Ikeuchi M, Izumi M, Kawano T, Aso K, Kato T, Ushida T, Yokoyama M, Tani T. Repeated intra-articular injections of acidic saline produce long-lasting joint pain and widespread hyperalgesia. Eur J Pain. 査読有 2015;10, 620-638. DOI:10.1002/ejp.584.

Kawano T, Takahashi T, Iwata H, Morikawa A, Imori S, Waki S, Tamura T, Yamazaki F, Eguchi S, Kumagai N, Yokoyama M. Effects of ketoprofen for prevention of postoperative cognitive dysfunction in aged rats. J Anesth. 査読有 2014;28, 932-936. DOI:10.1007/s00540-014-1821-y

Kawano T, Takahashi T, Kitaoka N, Yokoyama M. Prolonged post-dural puncture headache in a patient during treatment with selective serotonin reuptake inhibitor: a case report and animal experiment. J Anesth. 査読有 2014;28, 937-939. DOI:10.1007/s00540-014-1833-7

河野 崇. 「麻酔は脳にとって"悪"なのか」術後認知機能障害を考える -臨床・基礎研究からの知見-. 日本臨床麻酔学会誌. 査読有 2014; Vol.34, No.1, pp. 32-37.

河野 崇. トピックス: 慢性痛関連うつ様行動に対する環境エンリッチメントと多感覚刺激の効果-ラット神経障害性痛モデルを用いた検討- 日本運動器疼痛学会誌. 査読有 2014; 6: 63-70.

[学会発表](計 4 件)

高橋 哲也, 河野 崇, 谷川 悠介, 山中 大樹, 北岡 智子, 横山 正尚. エンドトキシンによる痛覚過敏反応に及ぼす一次知覚神経の役割. 第24回中国・四国ペインクリニック学会. 2014.5.10, サンポート高松・高松市

岩田英樹, 河野 崇, 田村貴彦, 中村 龍, 横山正尚. 鎮痛方法の違いが術後認知機能障害に及ぼす影響 "高齢ラット術後痛モデルによる検討" 日本区域麻酔学会第1回学術集会. 2014.4.25-26. 岡山コンベンションセンター・岡山市

河野 崇. Current pain research necessary and challenging 第18 回日本神経麻酔・集中治療研究会 2014.4.18-19, ANAクラウンプラザホテル沖縄ハーバービュー・那覇市

高橋哲也, 河野崇. 神経障害性痛モデルラットにおける脳由来神経栄養因子の脳内変化. 第7回PMRG. 2014. 3. 1, 東京

[図書](計 3 件)

河野 崇, 横山 正尚. 新戦略に基づく麻酔・周術期医学 麻酔科医のための周術期の疼痛管理. 周術期疼痛の有害作用 免疫系への作用. 2014, 305(101-109) 中山書店

河野 崇, 横山正尚. 化膿性脊椎炎. 痛み診療キーポイント. 臨床編. G. 治療による合併症. 2014, (252-252) 文光堂

河野 崇, 横山正尚. 硬膜穿刺後頭痛. 痛み診療キーポイント. 臨床編. G. 治療による合併症. 2014, 264 (252-252) 文光堂

〔その他〕

ホームページ等

http://www.kochi-ms.ac.jp/~fm_ansth/index.htm

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横山 正尚 (YOKOYAMA, Masataka)

高知大学・教育研究部医療学系・教授

研究者番号：20158380

(2) 研究分担者

河野崇 (KAWANO, Takashi)

高知大学・教育研究部医療学系・講師

研究者番号：40380076

矢田部智明 (YATABE, Tomoaki)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：60437720