

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 26 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462375

研究課題名(和文)高齢者の痛みにおける高齢者総合的機能評価およびエピジェネティクスの関与の解明

研究課題名(英文)Comprehensive geriatric assessment and epigenetics in elderly patients with pain

研究代表者

廣瀬 宗孝(Hirose, Munetaka)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：50275228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者の慢性疼痛と末梢血細胞における遺伝子の発現およびエピジェネティックな変化の関係を明らかにするため、手術を受ける患者や慢性腰痛患者を対象に臨床研究を行った。遷延性術後痛や慢性疼痛症の原因の1つに神経損傷があり、神経損傷は中枢神経系の脳由来神経栄養因子(BDNF)の発現を、炎症誘発状態では増加させ、免疫寛容状態では抑制することが知られている。本研究では、末梢血細胞のBDNF遺伝子におけるDNAメチル化増加が免疫寛容状態下で血清BDNF濃度を低下させ、痛み症状の増加と関係があることを明らかにした。末梢血細胞のBDNFは術後急性痛から遷延性術後痛に移行に関与する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：To reveal the relation between chronic pain in geriatric patients and changes in gene expression or epigenetics at peripheral blood cells, clinical investigations were performed in patients underwent surgery or suffered with chronic back pain. Peripheral nerve injury, which is one of the causes of persistent post-operative pain and chronic back pain, likely increases brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the central nervous system under pro-inflammatory signals, and decreases under anti-inflammatory signals. This study showed that epigenetic changes in BDNF genes in the peripheral blood cells cause the decrease in the serum concentrations of BDNF with anti-inflammatory state in patients suffering from chronic back pain and that the decrease of serum BDNF correlates with the increase in the number of pain symptoms. BDNF at peripheral blood cells might be a key factor for a transition from acute post-operative pain to persistent post-operative pain.

研究分野：麻酔科学、疼痛管理学

 キーワード：慢性疼痛 神経成長因子 脳由来神経栄養因子 遷延性術後痛 慢性腰痛 TRPA1 TRPV1 侵害受容刺
 激反応

1. 研究開始当初の背景

“痛み”は急性痛や慢性痛、またがん性痛を持つ人々の日常生活動作(ADL)に影響するため、その社会的影響は膨大である。とくに超高齢化社会を迎える本邦では、“痛み”はADL低下のみならず認知障害やうつ状態のリスク因子にもなるため、高齢者総合的機能評価は低下し、医療費や介護負担の増加による社会保障費増大の1要因となる。しかし特に慢性痛の治療は困難であり、これまで試みられた様々な治療法は無効であることが多い。

慢性痛の動物モデルでは、神経成長因子(NGF)とその高親和性受容体であるTrkA、脳由来神経栄養因子(BDNF)とその受容体TrkBが慢性痛の発症や維持に関わっていることが明らかにされてきた。一方、NGF/TrkA系やBDNF/TrkB系は中枢神経系の可塑性にも影響することから、高齢者のストレス、うつ、認知障害などと関係する可能性がある。

2. 研究の目的

1) 本研究では、高齢者の慢性痛の発症や維持において、高齢者総合的機能評価と末梢血細胞の遺伝子におけるエピジェネティックな変化がどのように関係するかを明らかにする。

2) 手術中の侵害受容刺激反応の程度と遷延性術後痛の関連を調査する目的で、手術中の侵害受容刺激反応をバイタルサインから評価する方法を新たに開発する。

3. 研究の方法

1) 本研究の同意を得た手術を受ける患者で、術前に高齢者総合的機能評価、痛み評価および熱流束方式温冷覚閾値計を用いて、温冷覚閾値と温冷痛覚閾値の測定を行う。また末梢血を採血し、血液検査および遺伝子解析を行う。術後の急性痛および術後3か月以後の遷延性術後痛の評価を行う。

2) 本研究の同意を得た慢性腰痛症の高齢者で、高齢者総合的機能評価、痛み評価および熱流束方式温冷覚閾値計を用いて、温冷覚閾値と温冷痛覚閾値の測定を行う。また末梢血を採血し、血液検査および遺伝子解析を行う。

3) 手術中の収縮期血圧(SBP)、心拍数(HR)、パルスオキシメータから得る還流指標(PI)の3つのパラメータを用いて、判別分析による侵害受容刺激反応の評価方法を開発する。さらにこれら3つのパラメータを用いて侵害受容刺激反応を表す新規の数式を開発する。

4. 研究成果

1) 乳房切除術後に発症する遷延性術後痛の発症頻度が高く、神経障害痛や心因痛が関与すると考えられている。術前の不安状態や慢性痛の合併はその発症を増加させることが知られている。そこで予定の乳房切除術を受け、術前に慢性疼痛の合併がなく、うつ状態や不安状態でない患者20名で術後の急性痛と遷延性術後痛をRCTで調査した。全身麻酔に胸壁神経(PECS)ブロックを併用した場合の影響についても検討した。

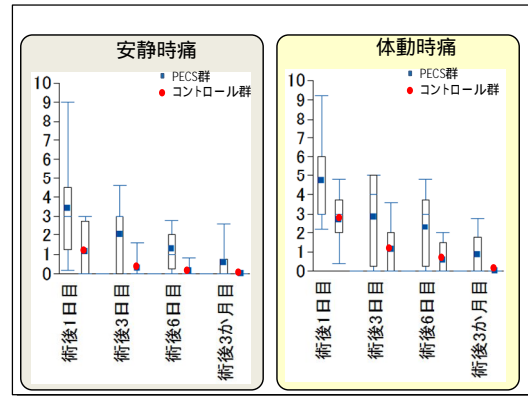


図1：乳房術後の術後痛の変化

乳房術後の遷延性術後痛の発症頻度は、うつ状態や不安状態でなく、慢性痛を合併していない患者ではその発症頻度は低いことが明らかになった(図1)。

そこで遷延性術後痛の発症頻度が最も高いとされる内視鏡下肺切除術を受ける患者で遺伝子解析を含めた調査を行い、本報告の時点で同意を得た患者数は8名であり、研究は継続中である。

2) 悪性腫瘍の既往のない慢性腰痛症患者8名で、末梢血細胞のmRNA発現をSurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v2 Microarray Kit、DNAメチル化をIllumina HumanMethylation450 BeadChipを用いて測定した。また血清BDNF濃度を測定した。

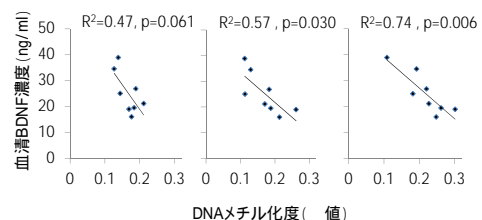
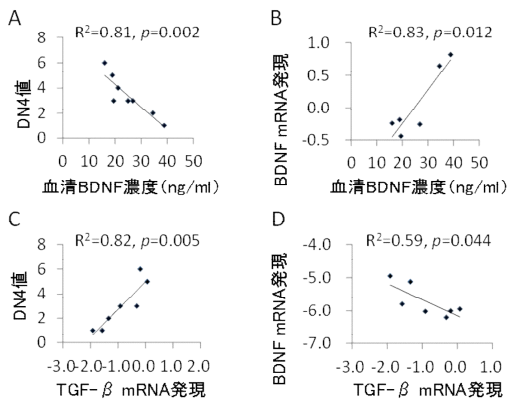


図2 血清BDNF濃度とDNAメチル化

末梢血細胞のDNAメチル化(Exon III)の増加は、血清BDNF濃度の低下と関連が認められた(図2)。また神経障害性疼痛の痛み

症状の数(DN4 値)の増加は、血清 BDNF 濃度の低下、BDNF mRNA 発現の低下、自然免疫の抗炎症反応(免疫寛容)の指標である transforming growth factor(TGF) の mRNA 発現の増加と相関が認められた(図



3)

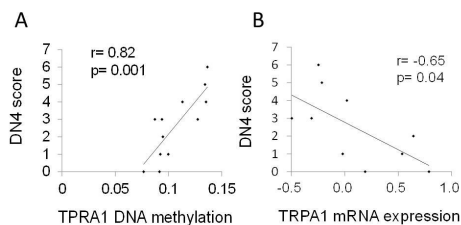
図3 神経障害性疼痛の症状の数(DN4 値)と血清 BDNF 濃度、BDNF mRNA 発現、TGF-mRNA 発現の関係

すなわち慢性腰痛患者のうち痛み症状が多い患者では、自然免疫の抗炎症反応が優位となり、BDNF 遺伝子の Exon III 周囲の DNA メチル化増加と血中 BDNF 濃度の低下は有意な相関を示した。

慢性疼痛で炎症誘発反応が継続している状態では、血中 BDNF 濃度の低下は痛みの低下と関連し、逆に炎症反応が終息した状態では痛みの増加と関連する可能性が示唆された。

3) 同様に慢性腰痛患者では、末梢血細胞における transient receptor potential ankyryn 1(TRPA1)の DNA メチル化の増加と mRNA 発現の減少が、神経障害性疼痛の症状の数(DN4 値)の増加と関連があることが示された(図4)。TRPA1 のみでなく TRPV1 と神経症状との関連も明らかになりつつある。

高齢者の慢性痛の発症と維持には、中枢神経系だけでなく、本研究で明らかになったように末梢血細胞も関与していることが



明らかになりつつある。

図4 神経障害性疼痛の症状の数(DN4 値)

と TRPA1 の DNA メチル化と mRNA 発現の関係

4) 全身麻酔下の手術中における侵害受容刺激反応を、手術開始から手術終了までの SBP、HR、PI の平均値を用いて判別分析で評価する方法を開発した(図5)。

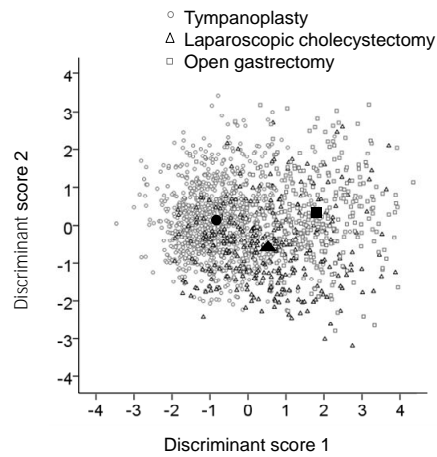
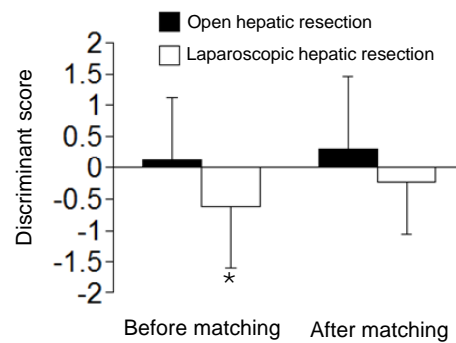


図5 鼓室形成術、腹腔鏡下胆嚢摘出術、開腹胃切除術の術中の侵害受容刺激反応を、手術開始から手術終了までの SBP、HR、PI の平均値を用いて判別分析で分離

またこの方法を応用して、開腹肝切除術と腹腔鏡下肝切除術の間に術中の侵害受容刺激反応に差がないことを明らかにした



(図6)。

図6 開腹肝切除術と腹腔鏡下肝切除術の術中の侵害受容刺激反応の比較

5) SBP、HR、PI を用いて侵害受容刺激反応を表す数式を開発し、特許出願した。本数式を用いることで、手術中の侵害受容刺激反応が継続的に解析することが可能となった。また侵害受容刺激反応が定量化できるため、遷延性術後痛の発症との関連を将来、解析する時に用いる予定である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計16件)

- 1) 廣瀬宗孝. 神経障害性疼痛の定義を臨床ではどのように活用すればよいですか：これであなともエキスパートの仲間入り. 査読なし、*LiSA* 2017; 24: 110-115
- 2) 廣瀬宗孝、助永憲比古、岡野一郎、岡野紫、中野範、恒遠剛示、棚田大輔、佐藤和美、乾貴絵. 慢性痛における血液中の脳由来神経栄養因子 BDNF の役割. 査読あり、*日本ペインクリニック学会誌* 2016; 23: 507-515
(https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjsspc/23/4/23_15-0039/_pdf)
- 3) Hirose M, Kuroda Y, Murata E. NGF/TrkA signaling as a therapeutic target for pain. 査読あり、*Pain Pract* 2016; 16: 175-82 (doi: 10.1111/papr.12342.)
- 4) Sukenaga N, Ikeda-Miyagawa Y, Tanada D, Tunetoh T, Nakano S, Inui T, Satoh K, Okutani H, Noguchi K, Hirose M. Correlation between DNA methylation of TRPA1 and chronic pain states in human whole blood cells. 査読あり、*Pain Med* 2016; 17: 1906-10
(<https://doi.org/10.1093/pm/pnv088>)
- 5) Hashimoto K, Iwayama S, Sano Y, Tatara T, Hirose M. Preoperative anxiety induces no clinically relevant effect on intraoperative nociceptive levels during breast surgery under general anesthesia. 査読あり、*J Anesth* 2015; 29: 967-70. (doi: 10.1007/s00540-015-2032-x.)
- 6) Hashimoto K, Miyawaki H, Iwayama S, Kariya N, Tatara T, Hirose M. Comparison of the level of intraoperative nociception between laparoscopic and open hepatic resection. 査読あり、*Hepatogastroenterology* 2015; 62: 358-362
- 7) Ueki R, Liu L, Kashiwagi S, Kaneki M, Khan M, Hirose M, Tompkins RG, Martyn JAJ, Yasuhara S. Role of elevated fibrinogen in burn-induced mitochondrial dysfunction: protective effects of glycyrrhizin. 査読あり、*Shock* 2016; : 382-9
(doi: 10.1097/SHK.0000000000000602.)
- 8) Tsunetoh T, Moriyama K, Hirose M. Factors affecting outcome of spinal cord stimulation in pain associated with failed back surgery syndrome. 査読あり、*J Pain Relief* 2015; 4: 5 (DOI: 10.4172/2167-0846.1000198.)
- 9) Kuroda Y, Kato-Kogoe N, Tasaki E, Yuasa-Sunagawa M, Yamanegi K, Nakase I, Futaki S, Tohyama Y, Hirose M. Suppressive effect of IGF-1 receptor activity by membrane permeable peptides derived from receptor autophosphorylation sites in MCF-7 breast cancer cells. 査読あり、*Eur J Pharmacol* 2015; 765: 24-33 (doi: 10.1016/j.ejphar.2015.08.004.)
- 10) 助永憲比古、棚田大輔、恒遠剛示、中野 範、佐藤和美、廣瀬宗孝: オピオイドが有効であった身体症状性障害が疑われた小児の慢性痛の2症例. 査読あり、*日本臨床麻酔学会誌* 2015; 35: 439-441
(https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjsca/35/4/35_439/_pdf)
- 11) Fukazawa K, Matsuki Y, Ueno H, Hosokawa T, Hirose M. Risk factors related to accidental intravascular injection during caudal anesthesia. 査読あり、*J Anesth* 2014; 28: 940-3 (doi: 10.1007/s00540-014-1840-8.)
- 12) Ueki R, Komazawa N, Nishimoto K, Sugi T, Hirose M, Kaminoh Y. Utility of the Aintree Intubation Catheter in fiberoptic tracheal intubation through the three types of intubating supraglottic airways: a manikin simulation study. 査読あり、*J Anesth*. 2014; 28: 363-7 (doi: 10.1007/s00540-013-1724-3.)
- 13) Ueki R, Tatara T, Kariya N, Shimode N, Hirose M, Tashiro C. Effect of decreased fetal perfusion on placental clearance of volatile anesthetics in a dual perfused human placental cotyledon model. 査読あり、*J Anesth*. 2014; 28: 635-8 (doi: 10.1007/s00540-013-1777-3.)
- 14) 坂井美賀子, 廣瀬宗孝, 田畑麻里, 松木悠佳, 重見研司. 難治性慢性痛患者における心理療法的アプローチの有用性～積極的傾聴と痛みの受容～. 査読あり、*ペインクリニック* 2014; 35: 1227-1230
- 15) Iwayama S, Tatara T, Osugi T, Hirose M. Preoperative oral rehydration solution intake volume does not affect relative change of mean arterial blood pressure and crystalloid redistribution during general anesthesia in low-risk patients: an observational cohort study. 査読あり、*J Anesth* 2014; 28: 132-5 (doi: 10.1007/s00540-013-1670-0.)
- 16) Kuroda Y, Kato-Kogoe N, Tasaki E, Murata M, Ueda K, Abe M, Miyamoto K, Nakase I, Futaki S, Tohyama Y, Hirose M. Oligopeptides derived from autophosphorylation sites of EGF receptor suppress EGF-stimulated responses in human lung carcinoma A549 cells. 査読あり、*Eur J Pharmacol* 2013; 698: 87-94 (doi: 10.1016/j.ejphar.2012.10.007.)

〔学会発表〕(計5件)

1) 廣瀬宗孝 .慢性腰痛バイオマーカーの探索。第6回運動器疾患の新しい疼痛を考える。和歌山県民文化会館(和歌山県・和歌山市) 2016.6.11

2) Hirose M, Sukenaga N, Tsunetoh T, Nakano S, Tanada D. Serum BDNF Concentration Correlates with the Number of Neuropathic Pain Symptoms in Patients with Chronic Low Back Pain. American Academy of Pain Medicine 32nd annual meeting. Palm Springs (USA). 2016.2.19

3) 廣瀬宗孝、助永憲比古、棚田大輔、恒遠剛示、中野 範、宮脇弘樹、佐藤和美、乾貴絵、池田慈子。慢性痛患者の末梢血細胞における神経栄養因子とその受容体の遺伝子発現およびDNAメチル化の検討。日本ペインクリニック学会第49回大会、グランフロント大阪(大阪府・大阪市) 2015.7.28

4) 佐野優佳、橋本和磨、助永憲比古、棚田大輔、恒遠剛示、中野 範、廣瀬宗孝。慢性乳房切除術後痛に対する手術前のPECSブロックの効果—ランダム化比較試験—。関西ペインクリニック学会。大阪国際交流センター(大阪府・大阪市) 2015.5.16

5) 廣瀬宗孝 .悪性腫瘍増殖抑制作用を併せ持つ新しいがん性痛治療薬となりうるTrkA 受容体拮抗薬の開発。日本麻酔科学会第61回学術集会、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市) 2014.5.15

〔図書〕(計9件)

1) 廣瀬宗孝 . 術中術後合併症 50 (廣瀬宗孝 編) 、メディカ出版、2017、pp1-256

2) 廣瀬宗孝 . 末梢神経の急性炎症による疼痛。神経障害性疼痛薬物療法ガイドライン、日本ペインクリニック学会、2016、pp25-26

3) 恒遠剛示、廣瀬宗孝 : 開始量とタイトレーション : 慢性疼痛治療 現場で役立つオピオイド鎮痛薬の必須知識 (細川豊史 編) 医薬ジャーナル社、2015、pp106-115

4) 廣瀬宗孝、恒遠剛示 : 患者選択 : 慢性疼痛治療 現場で役立つオピオイド鎮痛薬の必須知識 (細川豊史 編) 医薬ジャーナル社、2015、pp87-95

5) 廣瀬宗孝 : 高齢者の術前検査とその評価 : 高齢者の周術期管理 (澄川耕二 編) 克誠堂出版、2014、pp68-78

6) 廣瀬宗孝 : III. 部位別にみた疼痛の鑑別

診断 7 . 顔面痛 Facial pain : 痛みマネジメント update (花岡一雄 編) 日本医師会雑誌、2014、ppS130-S131

7) 廣瀬宗孝 : 抗 NGF 抗体、痛み診療キーポイント : 痛みの Science & Practice (川真田樹人 編) 文光堂、2014、pp40

8) 廣瀬宗孝 : 局所麻酔の準備 : 安全な小外科手術のための局所麻酔を求めて (花岡一雄 編) 克誠堂出版、2014、pp43-55

9) 廣瀬宗孝 : 今後臨床応用が期待される薬物 : 新戦略に基づく周術期の疼痛管理 (川真田樹人 編) 、中山書店、2014、pp203-209

〔産業財産権〕

出願状況 (計1件)

名称 : 麻酔下における侵害受容刺激反応レベルの監視

発明者 : 廣瀬宗孝

権利者 : 学校法人兵庫医科大学

種類 :

番号 : 特願 2017-24483

出願年月日 : 平成 29 年 2 月 13 日

国内外の別 : 国内

〔その他〕

ホームページを開設 : <http://hyomed-anesthesiology.info/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

廣瀬 宗孝 (HIROSE, Munetaka)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 50275228