

平成 31 年 2 月 26 日現在

機関番号：82610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462387

研究課題名(和文)アロマターゼとGPR30による疼痛制御に基づいた新規疼痛治療薬の開発

研究課題名(英文)The search for novel analgesics based on pain control with aromatase and GPR30

研究代表者

白石 成二 (Shiraishi, Seiji)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・医師

研究者番号：90216177

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ホルマリンテスト、神経障害性疼痛と癌骨転移痛モデルに対してアロマターゼ阻害薬(Letrozole)は疼痛閾値を低下し、細胞膜局在のエストロゲン受容体GPR30阻害薬(G15)は、疼痛閾値を増加した。脊髄におけるGPR30およびアロマターゼの発現変化を神経障害性疼痛とがん性疼痛モデルについて免疫組織学的に調べた。閉経後モデルの卵巣摘出ラットとさらにアロマターゼ阻害薬投与による疼痛閾値低下には優位な差はなかった。それぞれの脊髄固定切片を用いて、IBA1免疫染色によるミクログリア活性化を比較し、それぞれのmiRNAをコントロールと比較して疼痛との関連を検討した。

研究成果の概要(英文)：Aromatase inhibitor(Letrozole,1 or 5 mg/kg) reduced threshold value of pain for a Formalin test, neuropathic pain (Seltzer model) and a cancer bone metastases pain model. G-protein-coupled estrogen receptor, GPR30 inhibitor (G15) of the cell membrane localization increased threshold value of pain for each animal models. We examined a manifestation immunohistochemically change of GPR30 and aromatase in the spinal cord in a neuropathic pain and a cancer pain mode rats. Athreshold value of pain decrease with the aromatase inhibitor administration less had the significant difference with the ovariectomy rat as a post-menopausal model. Using each spine fusion graft, we compared the microglial activation by the IBA1 immunostaining and examined association with the pain as compared with a control in each miRNA.

研究分野：疼痛学

キーワード：GPR30 aromatase ovariectomy miRNA

1. 研究開始当初の背景

慢性疼痛に悩む人は多く、長期間にわたって QOL が低下し、痛みが悪循環に陥る。痛みを伴う疾患のなかには発症頻度に性差があり、線維筋痛症、片頭痛、リウマチ性関節炎や SLE などの自己免疫疾患や更年期障害などは女性に多く、これらの疾患の痛みは女性ホルモンであるエストロゲンとの関係が指摘されている。エストロゲンは、アロマターゼによりアンドロゲンから合成され、アロマターゼは痛覚伝達と関係の深い脊髄後角 I・II 層に多く存在する。エストロゲンは TRPV1 や NGF をアップレギュレーションし、難治性のアロディニアを増強し神経障害性疼痛の維持に関係している。最近、細胞膜に局在する新規エストロゲン受容体として GPR30 が同定された。GPR30 は脊髄後角や感覚神経系、自律神経系にも発現しており、疼痛制御に関わる可能性が考えられる。一方、閉経後の乳がん等のホルモン療法(抗エストロゲン療法)に用いるアロマターゼ阻害薬により筋骨格系や関節の痛みが発生する。抗がん剤の副作用は、がん患者の QOL を著しく低下させるだけでなく癌治療の制限にもつながり、その対処法が求められている。

2. 研究の目的

痛みを伴う疾患には発症頻度に性差がある疾患が存在する。線維筋痛症、片頭痛、リウマチ性関節炎や SLE などの自己免疫疾患や更年期障害などは女性に多く、これらの疾患の痛みは女性ホルモンであるエストロゲンとの関係が報告されている。一方、乳がん等のホルモン療法に用いるアロマターゼ阻害薬により筋骨格系や関節の痛みが発生する。本研究の目的は、エストロゲン合成酵素であるアロマターゼと新たなエストロゲンの細胞膜上の受容体 GPR30 による疼痛の発症メカニズムを明らかにし、新規疼痛治療薬の開発を目指すことである。

3. 研究の方法

【実験】 各種疼痛モデル動物に対する GPR30 の阻害剤とアロマターゼ阻害薬(A1)による疼痛への影響

ホルマリンテスト、神経障害性疼痛モデル(Seltzer モデル)とがん骨転移痛モデルラットを用いて、疼痛に対するアロマターゼ阻害薬(Letrozole 1mg, 5mg/kg)と特異的 GPR30 阻害薬(G15)を投与して検討する。疼痛評価はそれぞれフリントング、von Frey テストとアロディニアスコアにて行う。

【実験】 難治性疼痛の発症と維持における GPR30 およびアロマターゼの関与
脊髄における GPR30 およびアロマターゼの発現変化について、神経障害性疼痛モデル(Seltzer モデル)とがん骨転移痛モデルラットにおいてホルマリン固定後に脊髄の切片を作製し、免疫組織学的に検討する。

【実験 III】 アロマターゼ阻害薬投与による疼痛閾値の変動のメカニズム解明と疼痛治療薬の開発

閉経後モデルとして卵巣を摘出したラットにさらにアロマターゼ阻害薬を投与した時の疼痛閾値の変化を von Frey テストとアロディニアスコアにて測定する。また、それぞれの動物の脊髄レベルでのミクログリア活性化の指標として Iba1 を免疫組織学的に測定しコントロールと比較する。さらに、それぞれのモデル動物の miRNA 変化を測定し、疼痛との関連を検討する。これらの結果からアロマターゼ阻害薬を投与した時の筋肉関節痛発症のメカニズムを解明し、その治療法を探る。

4. 研究成果

【実験】 各種疼痛モデル動物に対する GPR30 の阻害剤とアロマターゼ阻害薬による疼痛への影響

ホルマリンテスト、神経障害性疼痛モデル(Seltzer モデル)とがん骨転移痛モデルラットを用いて、疼痛に対するアロマターゼ阻害薬(Letrozole 1mg, 5mg/kg)と特異的 GPR30 阻害薬(G15)を投与して検討した。Letrozole(5mg/kg)投与により mechanical 閾値は低下し、ホルマリンテストによる疼痛を増強した。細胞膜局在のエストロゲン受容体 GPR30 阻害薬(G15)は、疼痛閾値を増加した。

【実験】 難治性疼痛の発症と維持における GPR30 およびアロマターゼの関与

脊髄における GPR30 およびアロマターゼの発現変化について、神経障害性疼痛モデルとがん性疼痛モデルにおいて疼痛発症後に脊髄レベルで免疫組織学的に調べた。

【実験 III】 アロマターゼ阻害薬投与による疼痛閾値の変動のメカニズム解明と疼痛治療薬の開発

閉経後モデルとして卵巣を摘出したラットにさらにアロマターゼ阻害薬を投与した時に疼痛閾値はコントロールと比較して低下したが、アロマターゼ阻害薬を投与しても卵巣摘出ラットとの間に疼痛閾値の有意な低下はなかった。また、それぞれの動物の脊髄レベルでのミクログリア活性化の指標として Iba1 を免疫組織学的に測定しコントロールと比較した。さらに、それぞれのモデル動物の miRNA 変化を測定しコントロールと比較し疼痛との関連を検討した。

図 miRNA の変化 図 1、2、3 参照

今回の結果から、GPR30 の阻害薬は新たな鎮痛薬となると考えられる。閉経後モデルとして卵巣を摘出したラットにさらにアロマターゼ阻害薬を投与した時の疼痛閾値の変化を脊髄レベルでのミクログリア活性化の指標として Iba1 を免疫組織学的に測定し検討した。さらに、それぞれのモデル動物の miRNA

変化を測定し、疼痛との関連を検討した報告は見られない。これらの結果からアロマトーゼ阻害薬を投与した時の筋肉関節痛発症の新たなメカニズムが解明され、その治療法のターゲットとなりうると考える。

miRNA の変化

図 1 control vs ovariectomy

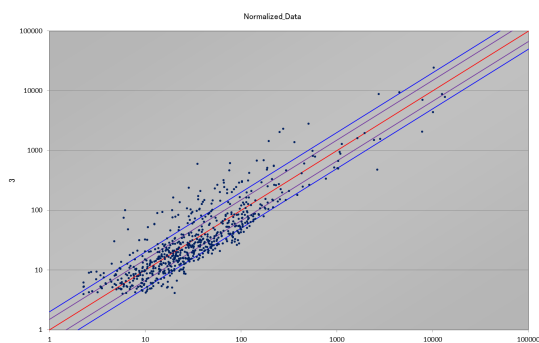


図 2 control vs ovariectomy+AI

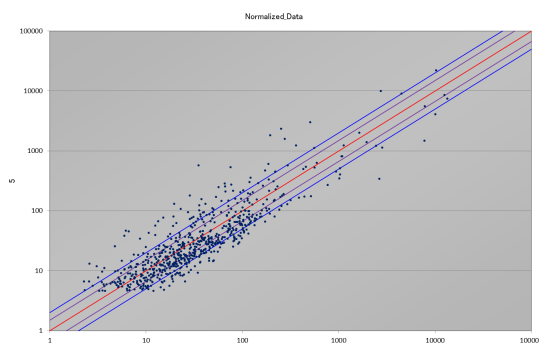
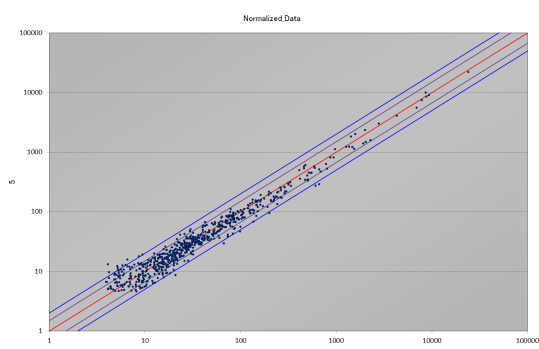


図 3 ovariectomy vs ovariectomy+AI



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 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白石 成二 (SHIRAISHI Seiji)
国立国際医療研究センター国府台病院麻酔科・医員
研究者番号：90216177

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()