

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16749

研究課題名（和文）アセトアミノフェンの下行性疼痛抑制系への関与

研究課題名（英文）Effect of acetaminophen on central noradrenergic pain inhibition

研究代表者

藤本 陽平 (Fujimoto, Yohei)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：90779430

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：アセトアミノフェンの鎮痛作用機序を検討した。炎症によって惹起される痛みの時間推移による変化の背景に着目し、ラットで炎症性疼痛の急性期・亜急性期・慢性期モデルを作成した。それぞれのモデルラットにおいて痛みの評価を行い脳・脊髄での *in vivo* マイクロダイアリシス法によってノルアドレナリンの変化を測定した。亜急性期のみでアセトアミノフェンの抗痛覚過敏効果にノルアドレナリン性下降性疼痛抑制系が関与している可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アセトアミノフェンは世界で最も頻用される薬の一つであるにも関わらずその鎮痛作用の機序について全貌が解明されていなかった。本研究ではその鎮痛機序において新たな可能性を示すとともに、特に疼痛の慢性化に至る過程を念頭に置いた時間軸に注目した実験系において研究結果を示した。諸外国でオピオイドの乱用が社会問題化する中、非麻薬性鎮痛薬であるアセトアミノフェンが重要性を増している現状があり、本研究結果が今後アセトアミノフェンの使用戦略に影響を与える可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the central noradrenergic involvement on anti-hyperalgesic effect of acetaminophen. We utilized *in vivo* microdialysis in locus ceruleus and spine with concurrent pain-related behavioral evaluation using rodent models of various phases of inflammatory pain. Acetaminophen related noradrenergic activation was observed only in the subacute phase pain model. The observed anti-hyperalgesic effect in the subacute phase model was attenuated by intrathecal alpha-2 antagonist yohimbine. The result of our study indicated that acetaminophen related phase-specific central noradrenergic activation was involved in its anti-hyperalgesic effect. This finding may reflect the involvement of acetaminophen's action via central noradrenergic pain inhibitory system on the pain modulation process during pain chronification or the protective action against it.

研究分野：麻酔

キーワード：アセトアミノフェン 鎮痛 下降性抑制系 ノルアドレナリン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アセトアミノフェンは世界で最も頻用される薬剤の一つでありながら未だにその鎮痛作用機序の全てが解明されているとはいえない。米国をはじめとする諸外国では「オピオイドクライシス」といった麻薬性鎮痛薬の過剰な使用による超過死亡や合併症の増加などによる社会的な影響が近年大きく取り上げられている現状があり、非麻薬性鎮痛薬の重要性が増してきている。特に急性痛から慢性痛に至る過程での不適切な麻薬の使用が上記の社会問題に影響していることが示されているが、慢性痛に至る過程で非麻薬性鎮痛薬のその潜在的な効果を有効に発揮させるためにはその効果や機序について明らかになっていることが望ましいといえる。アセトアミノフェンについては様々な鎮痛機序が学術的な観点から提示されている中で、ノルアドレナリン系の下降疼痛抑制経路の関与についてはその直接的なエビデンスが存在していなかった。

2. 研究の目的

動物を用いた実験系でアセトアミノフェンの鎮痛機序の一つとしてノルアドレナリン系の下降疼痛抑制経路を介したものが存在するかを検討する。

3. 研究の方法

全実験において7-9週齢の雄性Jcl:SD系ラットを使用した。炎症性疼痛のモデルとして、カラジナンをラット右足底に皮下注射し、炎症性痛覚過敏を誘発した。カラジナンの投与から4時間後を急性期、24時間後を亜急性期、1週間後を慢性期モデルと定義し、それぞれのモデルについてアセトアミノフェンの抗痛覚過敏効果を検討した。以下の実験を行った。

(1) アセトアミノフェンの抗痛覚過敏効果の推移と in vivo マイクロダイアリシス法による青斑核ノルアドレナリン濃度変化の推移の検討

それぞれのモデルラットを実験で使用した。モデル作成 2 日前に吸入麻酔下に青斑核へマイクロダイアリシス用ガイドカニューレを挿入し、同時に右頸静脈にカニューレを挿入した。実験当日にそれぞれのモデルラットにマイクロダイアリシスプローブを挿入した上でプラットフォームに留置し、覚醒下にノルアドレナリン回収・測定ならびに痛覚過敏の評価を同時に行った。基礎値の測定を行ったのち、アセトアミノフェンあるいは生理食塩水を静脈投与し、上記の測定項目の変化を観察した。痛覚過敏の評価は electric von Frey 法を用い逃避閾値を測定した。

(2) In vivo マイクロダイアリシス法による脊髄後角ノルアドレナリン濃度変化の推移の検討

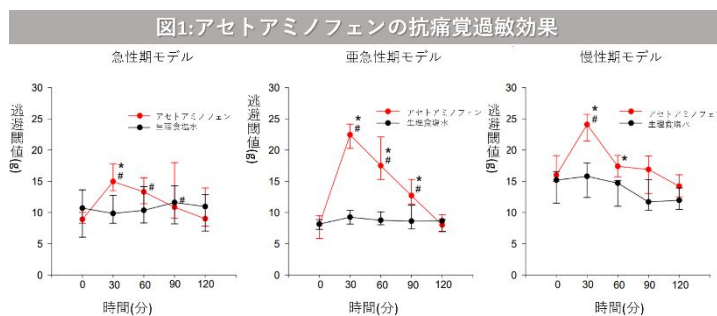
亜急性期モデルラットに対し、実験当日に吸入麻酔下に腰椎の椎弓切除術を行い、同領域へのマイクロダイアリシスプローブ挿入を行った。さらに右頸静脈へのカニューレ挿入を行い、アセトアミノフェンあるいは生理食塩水静脈内投与を行う前後のノルアドレナリン濃度変化を観察した。

(3) ヨヒンビンがアセトアミノフェンの抗痛覚過敏効果に与える影響の検討

それぞれのモデルラットのモデル作成 2 日前に吸入麻酔下に脊髄クモ膜下腔へのカテーテル留置、右頸静脈へのカニューレ挿入を行った。実験当日にそれぞれのラットをプラットフォームに留置したのち、脊髄クモ膜下腔にヨヒンビンあるいは生理食塩水を投与し、覚醒下に上記と同様に痛覚過敏の評価を同時に行い、アセトアミノフェンの静脈投与前後のこれらの変化を観察した。

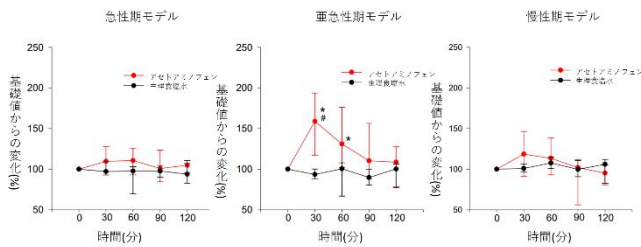
4. 研究成果

実験(1)においてそれぞれの時相の炎症性疼痛モデルにおいて、右足底にのみ痛覚過敏が生じ、それらがアセトアミノフェン静注後、経時的に軽減することが観察された。(図1)また青斑核ノルアドレナリン濃度の変化については、亜急性期モデルにおいてのみアセトアミノフェン静注後にノルアドレナ



リン濃度の有意な変化を認めた。(図2) 実験(2)は実験(1)の結果を受け、動物愛護の観点から亜急性期モデルのみを使用し脊髄後角ノルアドレナリン濃度の変化を観察した。同モデルにおいてアセトアミノフェン静注後に脊髄後角ノルアドレナリン濃度の有意な変化を認めた。実験(3)において、2 受容体阻害薬として知られるヨヒンビンの脊髄クモ膜下投与により亜急性期モデルにおけるアセトアミノフェン静注による抗痛覚過敏効果の減弱を認めた。(図3)

図2:青斑核における細胞外ノルアドレナリン濃度の推移



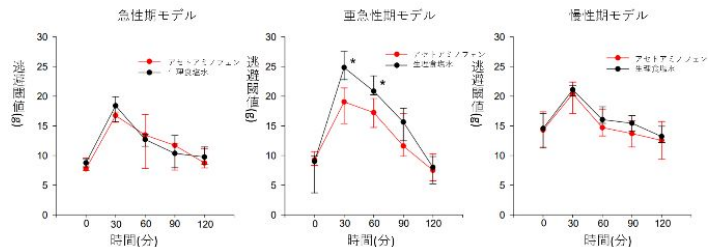
時相による鎮痛機序の違いについては、以下のように考察している。まず急性期モデルの位置づけとして、従来から深く研究されてきた炎症急性期の疼痛モデル、すなわち炎症物質の局所投与後におこる急性炎症に基づく疼痛を表しているものとする。この機序は組織の破壊に伴う炎症メディエーターや発痛物質の放出とそれに伴う末梢神経の侵害受容器の刺激による疼痛・痛覚過敏であることが示されている。いくつかの研究を除き、アセトアミノフェンは抗炎症作用を示さないことが多くの研究で示されており、この疼痛・痛覚過敏に抗する機序としてはアセトアミノフェン自体や代謝産物である AM404 の中枢神経作用によることが推測されている。炎症急性期の動物モデルにおいて、脳・脊髄での TRPV1 受容体への作用や脳に発現するカンナビノイド受容体への作用を介した鎮痛・抗痛覚過敏効果を有することはすでに示されており、本研究における急性期モデルでの抗痛覚過敏効果はこれらの作用を表していると考えられる。この時点でも下降抑制系は作動しているであろうことは十分に想定され実際にセロトニン性の下降抑制系に対してはアセトアミノフェンが作用を有するとの研究が急性炎症モデルでなされている。本実験でノルアドレナリン性の下降抑制を観察している可能性はあるが（生理食塩水投与群・アセトアミノフェン投与群ともに）、少なくとも測定可能な範囲では群間の差異を認めず、アセトアミノフェンによるその賦活作用は本実験系では観察されなかった。

一方で、本研究における亜急性期モデルは上記の炎症急性期モデルとは異なる位置付けであるとされる。これまでの鎮痛薬・疼痛に関連する研究では炎症性疼痛モデルとしては多くの場合で急性期が注目されており、この亜急性期の研究があまり進んでいなかった。今回亜急性期と定義した時相においてはほとんどの過去の研究では痛覚過敏は減弱しているという結果が得られており、この時相自体があまり重要視されていなかった。しかし、疼痛の遷延、慢性化を解明するにあたって急性痛が寛解するか、それとも慢性化するかという時相として亜急性期は重要である。過去の研究から、慢性痛患者では鎮痛機序として重要な下降性抑制系が減弱していることが判明している。また急性痛では下降性抑制が増強しており、それが亜急性期にはノルアドレナリン系では更なる増強が見られること、セロトニン系では慢性痛に移行する場合抑制のみならず促進する刺激を与えることが分かってきている。今回の亜急性期モデルの時相を考えると炎症発生の 24 時間後であり、炎症反応による疼痛が惹起され続けた状態である。本研究の観察からこの時相では急性期と同程度に痛覚過敏状態が続いていた。これまでの研究との痛覚過敏状態の相違の原因は明らかでないが、一つの原因として炎症惹起物質の違い・濃度や投与量の違いに起因していると考えられる。実際に今回と比較して投与量が同程度あるいはより多い研究では今回と同様に亜急性期においても痛覚過敏を認めていることが多い。同じカラジナン炎症モデルで本研究と同様な痛覚過敏の過程を示す動物モデルの研究においては急性期・回復期(本研究での慢性期に対応する)には亜急性期と比較して中枢性 2 作動薬の鎮痛効果が減弱するという報告がある。この薬剤はノルアドレナリン性下降抑制系に作用していることから、今回の研究における時相モデルでは亜急性期モデルがノルアドレナリン性下降抑制系のもっとも働いている時相のモデルであると推定される。今回、青斑核でのノルアドレナリン濃度変化と脊髄でのヨヒンビン投与により亜急性期アセトアミノフェンの抗痛覚過敏効果が減弱（完全な寛解ではなく）することを観察しており、これはこの特定の時期にノルアドレナリン系下降抑制経路がアセトアミノフェンの抗痛覚過敏効果において一定の役割を果たしていることを示唆する。さらに、麻酔下ではあるものの脊髄後角におけるノルアドレナリン濃度の変化をアセトアミノフェン投与後に認めていることはこの説を補強する観察結果である。

慢性期においては炎症の起こっていない動物と比較すると依然として機械的刺激に対する反応は鋭く痛覚過敏自体は発生していることが観察されたが、急性期・亜急性期と比較するとその程度は弱くなっていた。これは急性期・亜急性期に観察された痛覚過敏は、その経過において軽度の慢性疼痛に至るとどまり、寛解する過程であることを示していると考えられた。本研究ではこの時期においてはアセトアミノフェンによるノルアドレナリン系神経の賦活は観察されなかった。この状況においてノルアドレナリン濃度の変化が見られなかったのは、その時点での疼痛

これらの結果をまとめると、アセトアミノフェン静注はそれぞれの時相モデルにおける痛覚過敏に対して抗痛覚過敏効果を発揮しているが、その背景にある抗痛覚過敏効果の機序には違いがあると考えられる。本研究の結果から亜急性期モデルのみにおいて、青斑核から脊髄後角に注射するノルアドレナリン性の下降ニューロンを介した鎮痛効果を発揮していると考えられた。

図3:ヨヒンビンによるアセトアミノフェンの鎮痛作用への影響



この状況においてノルアドレナリン濃度の変化が見られなかったのは、その時点での疼痛

刺激の弱さから下降抑制系が働く環境になかったこと、あるいは急性期・亜急性期の強く持続する疼痛刺激にさらされその疼痛に生体反応として対応した結果、慢性期においては下降抑制系の反応の減弱、場合によっては枯渇する状況であったのではないかと考えている。特に後者はノルアドレナリン系疼痛抑制経路の減弱が炎症性疼痛の回復期にみられるという報告や慢性痛覚過敏では下降性抑制経路の減弱を認めるとの報告にも合致する。青斑核のノルアドレナリンニューロンは感情の制御も司っており、特に後者に関しては疼痛に伴う感情の変化との関連性も示されている。

頭蓋内構造物の *in vivo* マイクロダイアライシスは自由行動下に行えることから行動実験を伴う神経回路の研究に適用される。しかしプローブの留置位置など生体の個体差によるばらつきや測定条件のばらつきなどの不確定要素から、対象物質の測定濃度について絶対値の比較は困難であるため同一個体内での変化を観察することになる。さらに対象が生体であることやプローブの耐用時間などからその連続測定時間には限界があり、今回の研究では同一個体内で急性期から慢性期モデルまで *in vivo* マイクロダイアライシスを行うことができなかった。それに伴ってそれぞれのモデル間でノルアドレナリン性下降抑制経路がどの程度働いているかを評価し比較することができなかったことが本研究の *limitation* となる。また、その測定限度にも限界があり、今回の実験では明らかな変化を亜急性期にのみ認めたと、急性期・慢性期では本実験系での測定限界以下の範囲内で変化があった可能性がある。しかしその可能性を考慮しても亜急性期の変化が最も強かったとはいえる。

先に示したように内因的な疼痛修飾機序の一つであるノルアドレナリン系疼痛抑制経路は様々な疼痛モデルにおいて時相において可塑性の変化を示し、時相によって増強・減弱していることが種々の研究によって示されている。そして疼痛刺激が強すぎる場合や内因性の痛覚抑制経路が減弱している場合などに急性疼痛が慢性疼痛に至ってしまうことがあると考えられている。そのため疼痛に対しては急性期からの適切な対処が望まれるが、それが困難な場合には疼痛が慢性化する危険性が高まる。今回の研究では内因性の疼痛修飾機序が実際に様々な形で働いていると考えられる動物モデルで炎症性痛覚過敏の時間経過に伴ったアセトアミノフェンの抗痛覚過敏効果を観察し、実際にアセトアミノフェンの鎮痛機序の新たな可能性として時相に応じた機序が変化・付加されることを示した。痛覚過敏の回復過程においてノルアドレナリン系疼痛抑制経路が活性化しているタイミングにアセトアミノフェンを投与することによって、付加的な鎮痛機序の発現が得られる可能性があることが示唆され、この投与タイミングは疼痛の慢性化を防ぐ観点から重要であるのではないかと考えられる。

< 引用文献 >

Barrière, D. A., et al. (2020). Paracetamol is a centrally acting analgesic using mechanisms located in the periaqueductal grey. *Br J Pharmacol*, 177, 1773-1792.

Molina, C., & Herrero, J. F. (2006). The influence of the time course of inflammation and spinalization on the antinociceptive activity of the alpha2-adrenoceptor agonist medetomidine. *Eur J Pharmacol*, 532, 50-60.

Ohashi, N., et al. (2017). Acetaminophen Metabolite N-Acylphenolamine Induces Analgesia via Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Receptors Expressed on the Primary Afferent Terminals of C-fibers in the Spinal Dorsal Horn. *Anesthesiology*, 127, 355-371.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 重里尚、藤本陽平、森隆
2. 発表標題 炎症性疼痛モデルラットにおけるアセトアミノフェンの鎮痛作用機序に対する検討
3. 学会等名 日本麻酔科学会第68回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Juri, Yohei Fujimoto, Koichi Suehiro, Takashi Mori, Kiyonobu Nishikawa
2. 発表標題 Acetaminophen administration increases noradrenaline concentrations concentration in the locus coeruleus in rats model of inflammatory pain.
3. 学会等名 Eueoanaesthesia 2020 The European Anaesthesiology Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------