

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16764

研究課題名(和文)キヌレン酸/キノリン酸比率が慢性痛に及ぼす影響(バイオマーカーの可能性を探る)

研究課題名(英文)The effect of kynurenic acid and Quinolinic acid on neuropathic pain

研究代表者

宮崎 信一郎(MIYAZAKI, SHINICHIRO)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：30411359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：神経保護作用を有している内因性NMDA受容体アンタゴニストであるキヌレン酸は、腹腔投与により神経障害性痛の行動様式を改善し、キヌレン酸は鎮痛効果を有することが示唆された。一方で、腹腔内投与した内因性NMDA受容体アゴニストであるキノリン酸は、神経障害性痛の行動様式に影響を及ぼさなかったが体重減少を認めた。キヌレン酸とキノリン酸の産生比率が痛みの慢性化の一因であるかどうかはさらなる検証が必要であるが、キヌレン酸は慢性痛に対する新たなアプローチになる可能性を秘めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

痛みの研究分野では、鎮痛効果を有する様々な化合物が報告されているが、内因性の物質に着目した研究は少ない。NMDA受容体は痛みの慢性化に関与することが知られており、本研究は、内因性NMDA受容体拮抗物質であるキヌレン酸に鎮痛効果を有することを示し、キヌレン酸が慢性痛に対して新たなアプローチとなりうることを示唆した。

研究成果の概要(英文)：Kynurenic acid, an endogenous NMDA receptor antagonist with neuroprotective effects, improved behaviors of weight bearing evaluation in neuropathic pain in mice. On the other hand, Quinolinic acid, a specific competitive agonist of NMDA receptor, did not improve behaviors of weight bearing evaluation in neuropathic pain in mice, and caused weight loss. Further studies are necessary as to whether the production ratio of kynurenic acid / quinolinic acid contributes to the mechanism of chronic pain,; however, kynurenic acid will have the potential to become a new approach in the treatment of chronic pain.

研究分野：慢性痛 麻酔

キーワード：キヌレン酸 キノリン酸 神経障害性痛 内因性NMDA受容体作動物質

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

痛みの研究分野では、鎮痛効果を有する様々な化合物が新たな鎮痛薬の候補として報告されてきているが、基礎研究の知見が臨床応用に進んでいないのが現状である。また、痛みが慢性化すると既存の治療法に抵抗性を示し、患者の QOL を損なう結果になるが、その慢性化にいたる機序は未だ不明である。

現在の知見では、NMDA 受容体やグリア細胞（ミクログリア、アストロサイト）が痛みの慢性化に関与することが指摘されている。必須アミノ酸であるトリプトファン代謝経路に、トリプトファンからキヌレニンを経てニコチンアミドへ代謝されるキヌレニン経路がある。特に生体に強い侵襲（感染・炎症）が加わった時に、キヌレニン経路が活性化する（Mol Psychiatry. 2010. 4. 393-403.）。この代謝経路の中間代謝産物にキヌレン酸とキノリン酸があり、NMDA 受容体に対して前者はアンタゴニスト、後者はアゴニストとして作用することが判明している。またキヌレン酸はアストロサイトから産生され、キノリン酸はミクログリアから産生される（Nat Rev Neurosci. 2008. 9. 46-56.）。ケタミンに代表される NMDA 受容体拮抗薬は神経障害性痛治療薬として利用されており、NMDA 受容体への拮抗作用を有するキヌレン酸の鎮痛作用が期待される。一方、キノリン酸は細胞毒性を有しうつ症状との関連（Mol Psychiatry. 2010. 4. 393-403.）も指摘されている。キヌレン酸/キノリン酸の極端な比率変化は神経変性疾患や認知機能へ影響する（Nat Rev Neurosci. 2012. 7. 465-477）と示唆されており、慢性痛患者はうつ症状をはじめ精神医学的問題を有することが多いのも事実である。生体に強い痛みの侵襲が加わった時に、不十分な治療（鎮痛）下では、神経保護作用を有するキヌレン酸が神経毒性を有するキノリン酸に比べ相対的に減少し、内因性の鎮痛効果が減弱しうつ症状が出現しやすい状況に陥り痛みが遷延化するのではないかと考え、『キヌレン酸とキノリン酸の産生比率の変化が痛みの慢性化の一要因である』という仮説にいたった。

### 2. 研究の目的

(1) 神経障害性痛に対するキヌレン酸およびキノリン酸の薬理効果を検討する。

(2) 神経障害性痛モデル（マウス）を作製し、脳脊髄液中のキヌレン酸/キノリン酸の比率を測定する。これをコントロール群のマウスと比較し、キヌレン酸およびキノリン酸が神経障害性痛の形成に関与する役割を検討する。

### 3. 研究の方法

(1) キヌレン酸およびキノリン酸の薬理効果の検討

痛みモデルは、5 週齢の ddY 雄マウスを、イソフルラン麻酔下に、第 5 腰椎神経を左側のみ結紮した神経障害性痛モデル（L5SNL）を用いた。1992 年にチャンらがラットを用い、第 5、6 腰椎神経を結紮すると、1 週間後に機械刺激に対する閾値が低下することを報告した。これを我々がマウスに応用したもので、神経障害性痛モデルとして確立している。Sham 群では腰背部の皮膚切開および縫合のみを施行した。

行動評価は、体重負荷測定機器（Bioseb In Vivo Research Instruments, France）を用い、マウスの両下肢の荷重の変化を測定した。この評価は、痛みの新しい行動評価方法（Physiol Behav. 2011）であり、研究代表者らはマウスで作製した神経障害性痛モデルで、既存の痛みの評価方法と相関することを見出している。L5SNL 作製前と作製 7 日後に、両下肢の荷重、接地面積、接地時間を測定し、左右比で痛みの評価を検討した。

L5SNL 作製当日から 7 日間連続で以下の薬剤を腹腔内投与（各群 n=5）した。

キヌレン酸（非投与群；0mg/kg，150 群；150mg/kg，300 群；300mg/kg）

キノリン酸（非投与群；0mg/kg，100 群；100mg/kg，200 群；200mg/kg）

(2) キヌレン酸およびキノリン酸の濃度測定

重水素でラベルしたキヌレン酸を用いて、質量分析装置を使用してキヌレン酸の濃度測定の定量化を試みた。L5SNL モデルから血液・髄液を採取し、痛みが形成されていく過程でのキヌレン酸濃度の測定を試みた。

### 4. 研究成果

(1) キヌレン酸およびキノリン酸の薬理効果

L5SNL モデルは、神経障害性痛の影響により下肢の荷重および接地面積は、健側に偏る傾向を認めた。キヌレン酸の 300 mg/kg 投与群は、荷重比および接地面積比が非投与群に比べ改善（荷重比：非投与群  $0.54 \pm 0.05$ 、300 群  $0.75 \pm 0.07$  接地面積比：非投与群  $0.68 \pm 0.07$ 、300 群  $0.85 \pm 0.04$ 、平均  $\pm$  標準誤差）した（図 1）。

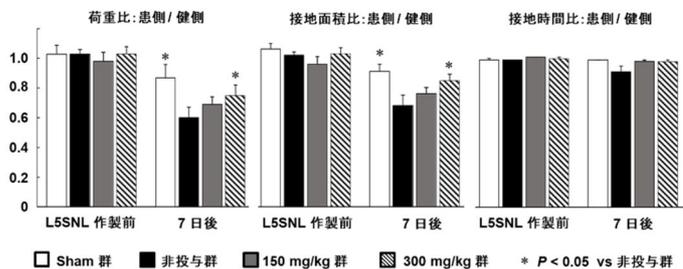


図1 L5SNL(神経障害性痛モデル)に対するキヌレン酸の薬理効果

キノリン酸は、神経障害性痛の行動様式の改善も増悪も認めなかった(図2)が、キノリン酸の200 mg/kg 投与群は、体重の増加不良(7日後の体重g: 非投与群 30.75 ± 0.41、200群 27.00 ± 0.91、平均 ± 標準誤差)を認めた。

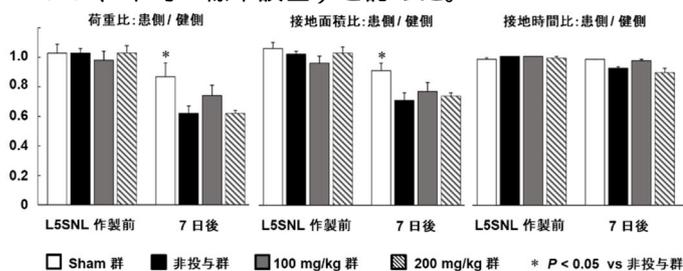


図2 L5SNL(神経障害性痛モデル)に対するキノリン酸の薬理効果

## (2) キヌレン酸およびキノリン酸の濃度測定

重水素でラベルしたキヌレン酸を用いて、質量分析装置を使用してキヌレン酸の濃度測定の定量化を試みた。適切な測定条件の検討に難渋し、かつ質量分析装置が故障廃棄となり、実験は中断した。そのため脳脊髄液中のキヌレン酸およびキノリン酸の濃度は測定できなかった。

今回の結果で、キヌレン酸の腹腔投与により、荷重比および接地面積比が非投与群に比べ改善し、神経障害性痛の行動様式が改善した。キヌレン酸の脊髄くも膜下腔への投与による神経障害性痛への効果が報告されているが、脳脊髄液中のキヌレン酸の上昇は、認知機能低下の可能性や統合失調症との関連が示唆されており、脳脊髄液への投与は非現実的であると考えられる。本研究は、キヌレン酸は腹腔投与しており、また、キヌレン酸は脳血液関門を通過しないことから、腹腔投与されたキヌレン酸は、末梢神経や後根神経節で効果を生じている可能性が考えられる。既存の神経障害性痛に対する薬剤は、中枢神経系の副作用が生じることが問題であり、中枢神経に移行しない末梢に投与されたキヌレン酸は慢性痛に対する新たなアプローチとなりうる可能性を秘めている。しかし、『キヌレン酸とキノリン酸の産生比率の変化が痛みの慢性化の一要因である』という当初の仮説に至るには、さらなる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>上野健史、宮崎 信一郎、尾本 遥、中尾 謙太、藤原 淳、南 敏明    |
| 2. 発表標題<br>内因性NMDA受容体作動物質であるキヌレン酸の神経障害性痛に対する効果 |
| 3. 学会等名<br>日本麻酔科学会第65回学術集会                     |
| 4. 発表年<br>2018年                                |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

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