

2009年 5月 12日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18791098
 研究課題名 (和文) 電気痙攣療法による疼痛緩和メカニズムの解明—神経因性疼痛治療への応用に向けて

研究課題名 (英文) Investigation of the mechanism of pain relief by electroconvulsive therapy - treatment of neurological pain

研究代表者

長谷 一郎 (HASE ICHIRO)
 大阪市立大学・大学院医学研究科・講師
 研究者番号：60325628

研究成果の概要：

電気痙攣療法による疼痛緩和の機序を解明するに当たり、まず疼痛に関係が深いと思われる脳内交感神経受容体と中枢神経活動の関連を求めた。覚醒状態のラットに対し、交感神経 β 受容体作動薬遮断薬であるプロプラノロールを脳室内に直接投与した。その後リドカインの持続投与を投与すると、プロプラノロールにより痙攣発生までのリドカインの投与量が増加し、中枢神経系に対する抑制作用があることが判明し、痙攣の発生に中枢神経内の交感神経 β 受容体が関与していることが明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,800,000	0	1,800,000
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	210,000	3,710,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：リドカイン、アミド型局所麻酔薬、痙攣、プロプラノロール、交感神経 β 受容体、脳

1. 研究開始当初の背景

Complex regional pain syndrome (CRPS) に代表される神経因性疼痛 (neuropathic pain) は、原因が不明で有効な治療法が見出されていない難治性疾患である。本疾患を有する患者は、医療機関において確定診断のなされないまま不必要な検査や投薬を受ける場合が多く、身体的・精神的・経済的等個人レベルのみならず、医療費の増大・生産性の

低下等国家レベルでも多大な損失を生ずる。従って神経因性疼痛の原因の究明、有効な治療法の確立は緊急を要する重要な課題である。しかしながら本疾患は、カウザルギーや反射性交感神経性萎縮症 (reflex sympathetic dystrophy: RSD) といった過去の様々の呼称が示す如くその病態が多様で、動物モデルの作成も困難であったことから、原因の解明は殆どなされていないのが現状

である。

一般に疼痛の発現に視床が関与していることは広く知られているが、実験動物や疼痛患者における近年の研究から、その一部分であるventrobasal nucleus (腹側核) が疼痛の発現に特に重要な役割を果たしていることが明らかになった。また、慢性疼痛に対して有効とされる三環系抗うつ薬や選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitors: SSRI) は何れも脳内のモノアミン濃度に影響を与えることから、ventrobasal nucleusに存在する各種の神経伝達物質が疼痛の発現に関与していることが示唆される。

難治性の神経因性疼痛が、電気痙攣療法やくも膜下へのステロイドの注入によって軽減することは従来から経験的に知られていたが、近年はこれらの方法、すなわち痙攣の誘発が疼痛の治療に用いられ、有効例も報告されている。また電気痙攣療法がモノアミン、特にセロトニン受容体の活動性に影響を与えることが報告されており、これは電気痙攣療法による鎮痛効果にセロトニンが関与していることを示唆するものである。しかし神経因性疼痛を有する患者において、痙攣の誘発がセロトニンを含めたモノアミンにどのような変化を与え、鎮痛効果にどのような影響を及ぼしているかについては解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では実験動物を用い、脳への直接の電気刺激や薬物によって誘発された痙攣と、脳内の交感神経受容体との関係を求めるとともに、脳内モノアミンの動態にどのような変化をもたらすかを検討する。

3. 研究の方法

(1) 脳内交感神経受容体と痙攣の関係—脳への交感神経遮断薬の直接投与

疼痛に関係が深いと思われる脳内交感神経受容体と中枢神経活動の関連を求めた。7-8週齢のSprague-Dawley系雄ラットに対してケタミンで全身麻酔を行い、定位脳固定装置で固定した。頭蓋骨の定位置にburr holeを作成し、先端が側脳室内に位置するように薬物投与用プローブを留置した後に覚醒させた。2-3日後、セボフルランで全身麻酔を行い、頸動静脈にカテーテルを留置した後に

覚醒させた。覚醒状態のラットに対し、交感神経 β 受容体遮断薬であるプロプラノロール10または30 μ g/kg (各々CV-S、CV-L群) を脳室内に直接投与した。対照 (CV-C) 群では同量の生理食塩水を脳室内に投与した。これらの投与5分後にリドカインの持続投与 (4 mg/kg/min) を開始した。ラットの血圧・心拍数は動脈内に留置したカテーテルを通じて持続的に測定した。またプロプラノロール投与前 (baseline)、リドカイン投与前、痙攣発生時に動脈血を採取して血液ガス測定を行うとともに、高速液体クロマトグラフ-質量分析装置によるリドカイン・プロプラノロールの定量を行った。

(2) 脳内交感神経受容体と痙攣の関係—末梢静脈の交感神経遮断薬の投与

(1)と同様の実験方法を用いた。プロプラノロールの血中濃度が臨床使用の際とほぼ同程度となるように設定した。1または3 mg/kgを静脈内に投与し (各々IV-S、ILV-群)、5分後よりリドカインの静脈内投与 (4 mg/kg/min) を開始した。対照 (IV-C) 群へは生理食塩水の投与を行った。(1)と同じ時点で動脈血を採取して血液ガス測定、リドカイン・プロプラノロールの定量を行った。

(3) マイクロダイアライシスによる脳内の物質の定量

先ず定量に必要な手技の確立を試みた。7-8週齢のSprague-Dawley系雄ラットに対してケタミンで全身麻酔を行い、定位脳固定装置で固定した後にBregmaの前方1.7mm、右外側1.4mmにマーキングの上burr holeを作成した。頭蓋骨表面より6mmの深さまでガイドカニューレを進め、先端が側座核 (nucleus accumbens) に位置するようにした上で覚醒させた。2-3日後にセボフルランで全身麻酔を行い、頸動静脈にカテーテルを留置した後に覚醒させた。ガイドカニューレをマイクロダイアライシスプローブに交換後、シリンジポンプを用いて内部標準物質を含んだ人工脳脊髄液で灌流し、得られた灌流液をフラクションコレクターで5分毎に収集した。リドカインを0.5 mg/kg/minで120分間持続投与した。採血および灌流液の採取はリドカイン投与終了120分後 (投与開始から240分後) まで行い、マイクロダイアライシスによって脳内のリドカインの濃度を定量した。血中のリドカイン濃度については、従来から用いてきた高速液体クロマトグラフ (high

performance liquid chromatography) では、少ない検体量では同程度の精度での血中濃度の測定が困難で、また今回はさらに蛋白非結合分画の濃度の測定が必要であるため、新たに高速液体クロマトグラフ-質量分析装置による測定法を開発する。

4. 研究成果

(1) 脳内交感神経受容体と痙攣の関係-脳への交感神経遮断薬の直接投与

リドカイン投与前のプロプラノロールの血中濃度は、CV-S、CV-L 群の各々で 3.2 ± 3.0 、 9.3 ± 6.7 ng/ml で、またプロプラノロールのみでは活動性や呼吸・循環に殆ど影響は無かった。リドカインの投与開始により心拍数が低下するとともに、CV-S 群、CV-L 群では CV-C 群に比べて痙攣発生までのリドカインの投与量が増加した。また、痙攣発生時のリドカインの血中濃度、脳内濃度とも CV-L 群では CV-C 群に比べて高く、プロプラノロールは中枢神経系に対する抑制作用があることが判明し、痙攣の発生に中枢神経内の交感神経 β 受容体が関与していることが明らかになった (5. 主な発表論文等、〔雑誌論文〕の参考文献 1)。

また何れの群でも末梢血液中のプロプラノロール濃度は臨床使用の際の濃度よりも相当に低く、プロプラノロールは中枢神経系、即ち脳における交感神経 β 受容体に直接作用し、痙攣を抑制したことが示唆された。なお、リドカインおよびプロプラノロールの血中濃度は、「(4) 高速液体クロマトグラフ-質量分析装置によるリドカインおよびプロプラノロールの定量方法の検討」で示した方法に従って行った。

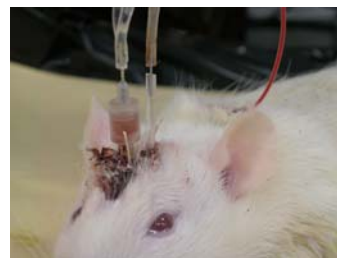
(2) 脳内交感神経受容体と痙攣の関係-末梢静脈の交感神経遮断薬の投与

リドカイン投与前のプロプラノロールの血中濃度は、IV-S、IV-L 群の各々で 164.1 ± 50.9 、 554.7 ± 104.6 ng/ml で、IV-L 群の血中濃度は臨床使用の際に心拍数を制御するのに必要とされる濃度にほぼ等しいことが明らかになった。またプロプラノロールのみでは活動性や呼吸・循環に殆ど影響は無かった。リドカインの投与開始により心拍数が低下するとともに、IV-S 群、IV-L 群では IV-C 群に比べて痙攣発生までのリドカインの投与量が増加するとともに、痙攣発生時のリドカインの血中・脳内濃度は IV-L 群では IV-C

群に比べて高く、中枢神経系に対する抑制作用があることが判明し、痙攣の発生に中枢神経内の交感神経 β 受容体が関与していることが明らかになった (参考文献 1)。

なお、現在用いられている、静脈投与が可能な β_1 受容体遮断薬は、何れも血中の非特異的エステラーゼで分解を受ける。ラット等の齧歯類においてはこの活性が非常に高く、血中濃度を十分に保つことができず、十分な効果が得られないため、今回の研究においては交感神経 β 受容体のサブタイプである、 β_1 、 β_2 の選択性については明らかにできなかった。

(3) マイクロダイアライシスによる脳内の物質の定量



左図の通り、マイクロダイアライシスプローブと頸動静脈にカテーテルを留置したラットモデルを作成した。

持続投与した際のリドカイン血中濃度については、2 時間ではほぼ平衡に達し、投与速度と排泄速度がほぼ等しくなることが分かった。また、投与中の 2 時間および投与終了後の 2 時間、計 4 時間に渡って血圧・心拍数はほぼ等しく、投与前と有意差は無かった。また痙攣などの中枢神経毒性や不整脈などの心毒性も認められず、血液ガスもほぼ一定に保たれることが明らかになった。実験終了



後に作成した脳のスライスでは、側座核に正しくプローブが留置されていることが明らかになった (左写真)。

血中濃度と脳内濃度は比較的短時間で平衡に達するが、血中濃度のピーク値に比べて脳内濃度のピーク値はやや小さいこと、分布容量や半減期が脳内と血中でやや異なることが明らかになった。ただし脳内神経伝達物質は不安定であるため分離・定量には未だ至っておらず、今後はより安定で感度の高い方法による定量を試みる。

(4) 高速液体クロマトグラフ-質量分析装

置によるリドカインおよびプロプラノロールの定量方法の検討

リドカインは以前に報告した方法に基づき、血漿に水酸化ナトリウムを加えてアルカリ化した後に酢酸エチルで抽出を行い、乾燥凝固した。プロプラノロールは固相抽出カラム (Oasis MCX, Waters, Milford, MA) を用いて抽出、同様に乾燥凝固した。その後高速液体クロマトグラフ-質量分析装置用移動相に溶解した。移動相は 10 mM 酢酸アンモニウム (pH 5.0) とアセトニトリルを 50:50 (v/v) で混合したものを、分離用カラムとして C18 (ODS-100Z, 20 x 50 mm, particle size 5 μ m, Tosoh, Tokyo, Japan) を用い、流速は 0.2 ml/min とした。定量は四重極質量分析装置 (4000Qtrap, Applied Biosystems, Foster City, USA, 下写真) を



用いて electrospray ionization interface で陽イオン検出を行った。プロプラノロールの測定の際にはミダゾラムを内部標準として用い、質量電荷比 261.3、327.2 を各々の測定に用いた。リドカインの定量範囲は 0.5 - 100 μ g/ml。プロプラノロールの定量範囲は 1 - 1000 ng/ml で、定量下限は各々 0.5 μ g/ml、1 ng/ml であった。

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 8 件)

1. Nakamura T, Oda Y, Takahashi R, Tanaka K, Hase I, Asada A. Propranolol increases the threshold for lidocaine-induced convulsions in awake rats - a direct effect on the brain. *Anesth Analg* 2008; 106: 1450-5 (査読有)
2. 三宅和香子, 舟尾友晴, 高橋陵太, 宮田

妙子, 長谷一郎, 浅田章. 肝左葉切除後に難治性疼痛を訴え、胆汁漏・十二指腸穿孔と判明した症例. *麻酔* 2008; 57: 996-8 (査読有)

3. 嵐大輔, 狩谷伸亨, 田中克明, 舟尾友晴, 長谷一郎, 浅田章. 術中に異常高血圧をきたし、術後に後腹膜傍神経節腫と診断された症例: *臨床麻酔* 2008; 32: 1640-2 (査読有)
4. 宮田妙子. 長谷一郎, 舟尾友晴, 中西美保, 飯室慎祐, 狩谷伸亨, 西川精宣, 浅田章. 薬剤性過敏症症候群が疑われた 1 症例. *日本ペインクリニック学会誌* 2008; 28: 14-7 (査読有)
5. 中西美保, 飯室慎祐, 宮田妙子, 高橋陵太, 舟尾友晴, 城村佳揚子, 長谷一郎, 小田裕, 浅田章. 当科における長期ケタミン投与患者の検討とその後の離脱状況. *ペインクリニック* 2007; 28: 1247-51 (査読有)
6. 下山梢, 狩谷伸亨, 鳥山澄子, 長谷一郎, 豊山広勝, 浅田章. 全身麻酔下の内視鏡操作により縦隔気腫を生じ、心房細動を認めた 1 症例: *臨床麻酔* 2007; 31: 255-7 (査読有)
7. 狩谷伸亨, 西信一, 宮田妙子, 城村佳揚子, 仲西未佳, 田中伸和, 田中克明, 竹田健太, 中西美保, 濱岡直也, 長谷一郎, 飯室慎祐, 小田裕, 松下三二, 中筋正人, 池下和敏, 森隆, 西川精宣, 浅田章. 麻酔科スーパーローテーション教育チェックリストの作成: *麻酔* 2006; 55: 759-71 (査読有)
8. Oda Y, Tanaka K, Matsuura T, Hase I, Nishikawa K, Asada A. Nitrous oxide induces paradoxical electroencephalographic changes after tracheal intubation during isoflurane and sevoflurane anesthesia. *Anesth Analg* 2006; 102: 1094-102 (査読有)

[学会発表] (計 10 件)

1. 長谷一郎. 大学病院の緩和ケアチームにおける麻酔科医の活動 その 2 「徹底コンサルタント型」日本臨床麻酔学会第28回大会. 2008年11月21日. 京都
2. 清水雅子, 宮田妙子, 池永十健, 中村武人, 高橋陵太, 舟尾友晴, 長谷

- 一郎, 森隆, 浅田章. 中枢神経障害を併発した帯状疱疹後神経痛の4症例. 日本ペインクリニック学会第42回大会. 2008年7月18日. 福岡
3. 舟尾友晴, 長谷一郎, 高橋陵太, 宮田妙子, 義元徳祥, 西川精宣, 浅田章. 肺癌胸壁浸潤による胸背部痛に対し、肋間神経高周波熱凝固術が有効であった2症例. 日本ペインクリニック学会第42回大会. 2008年7月19日. 福岡
 4. 中村武人, 長谷一郎, 舟尾友晴, 義元徳祥, 浅田章. 針刺し後に持続する疼痛への治療の検討. 日本ペインクリニック学会第42回大会. 2008年7月19日. 福岡
 5. 池永十健, 宮田妙子, 清水雅子, 高橋陵太, 舟尾友晴, 長谷一郎, 浅田章, 鶴田理恵, 松井徳造. 電子カルテを利用した緩和ケアチームにおける疼痛マネジメント. 第13回日本緩和医療学会学術大会. 2008年7月5日. 静岡
 6. 高橋陵太, 長谷一郎, 宮田妙子, 舟尾友晴, 浅田章. 骨髄移植患者で発生する口腔粘膜障害に対する当院での疼痛治療と現状. 第38回日本ペインクリニック学会関西地方会. 2008年5月17日. 大阪
 7. Nakamura T, Oda Y, Takahashi R, Hase I, Asada A. Propranolol decreases the convulsive potency of lidocaine in awake rats. 2007 Annual Meeting, American Society of Anesthesiologists. 2007年10月17日. San Francisco, California, USA.
 8. 宮田妙子, 長谷一郎, 舟尾友晴, 義元徳祥, 西川精宣, 浅田章. 難治性吃逆に対する治療経験. 日本ペインクリニック学会第41回大会. 2007年7月6日. 横浜
 9. 清水雅子. 舟尾友晴, 宮田妙子, 長谷一郎, 鳥山澄子, 狩谷伸享, 浅田章. 脊髄くも膜下麻酔後の神経障害 ～偶発的な硬膜下ブロック. 日本ペインクリニック学会第41回大会. 2007年7月6日. 横浜
 10. 舟尾友晴, 高橋陵太, 宮田妙子, 長谷一郎, 森隆, 義元徳祥, 浅田章. 腰部脊柱管狭窄症を合併した閉塞性動脈硬化症の一例. 第37回日本ペインクリニック学会関西地方会. 2007年6月23日.

大阪

[図書] (計1件)

1. 長谷一郎. 局所麻酔薬の構造と代謝. 浅田章, 西川精宣編. 局所麻酔薬中毒・アレルギー. 克誠堂出版. 2008: 70-81

[その他]

ホームページ等

<http://www3.osaka-cu.ac.jp/researchers/researchers/view/601>

(大阪市立大学研究者一覧)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷 一郎 (HASE ICHIRO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号: 60325628

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: