

平成 22 年 4 月 17 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19791075

研究課題名 (和文) カンナビノイドによる脊髄鎮痛の機序解明

研究課題名 (英文) The mechanism of cannabinoid-induced analgesic effect at the level of the spinal cord

研究代表者

木谷 友洋 (KIYA TOMOHIRO)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：10438046

研究成果の概要 (和文)：大麻の活性成分であるカンナビノイドの脊髄投与による鎮痛効果を検証した。ACEA の脊髄投与により熱刺激に対する逃避行動を抑制が得られた。抗癌剤による末梢神経障害モデルに対して *in vivo* パッチクランプ法により脊髄神経活動を検討したところ、自発性 EPSC および寒冷刺激によって誘発された EPSC は対照群と比較し振幅・頻度が増強していたが、ACEA の脊髄灌流によって抑制された。カンナビノイドの脊髄投与によって鎮痛効果が得られることが行動学的・電気生理学的に示された。

研究成果の概要 (英文)：This study focused on the cannabinoid-induced analgesic effect at the level of the spinal cord. Spinal administration of ACEA inhibited the withdrawal latency to noxious heat. Next the change of EPSC in chemotherapy-induced peripheral neuropathy model was examined using *in vivo* patch-clamp recording. Spontaneous EPSCs and cold stimuli-induced EPSCs increased in the neuropathy model compared to those in sham model, and they were suppressed after ACEA perfusion. The spinal administration of cannabinoids produces the analgesic effects by inhibition of EPSC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,100,000	0	1,100,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	630,000	3,830,000

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：疼痛治療学

## 1. 研究開始当初の背景

(1)古代より、マリファナには痛みを和らげる作用があり、不安を軽減させたり、気分を高揚させたり、嘔吐を抑制して食欲を増進させる作用があることが知られていた。1960 年

代にマリファナの活性成分  $\Delta$ -9-テトラヒドロカンナビノール(THC)が同定され、1990 年代に入り内在性カンナビノイド受容体 CB1 が単離された(Nature 1990:346:561)。その後内在性カンナビノイドには CB1-3 の

レセプターがあり、痛覚、情動系に加え、海馬における記憶や学習、小脳と線条体における協調運動や運動学習など、多様な神経機能に大きく関与していることが知られるようになった(Physiol Review 2003: 83; 1017)。

欧米の一部の国や州ではすでにマリファナ喫煙が多発性硬化症、悪液質の担癌患者やエイズ患者の鎮痛薬として合法的に使用されてきた。これはオピオイドとは異なり、マリファナ喫煙が鎮痛作用に加え、嘔気抑制や食欲増進作用を発揮し、これらの患者の症状緩和に不可欠なためである。こうした見知からカンナビノイド受容体作動薬は鎮痛薬として臨床応用が期待されている。

(2)末梢からのすべての侵害情報は脊髄後角の膠様質(substantia gelatinosa:SG)ニューロンに入力し、様々な修飾を受けた後、最終的に一次体性感覚野に投射する。脳へと伝達された侵害情報は中脳水道周囲灰白質や青斑核などから下行性に脊髄後角ニューロンを抑制または興奮させる。このように脊髄後角は痛覚ネットワークの中心に位置するため脊髄後角をターゲットとする鎮痛法-脊髄鎮痛-は合目的な鎮痛法と考えられる。脊髄には CB1 受容体が存在するため、これをターゲットとして脊髄鎮痛が得られる可能性がある。オピオイドが効きにくい神経因性疼痛、脊髄損傷後の中枢痛などでも動物実験では CB1 作動薬が効果を示すと報告されており(JPET 2006: 316; 601, Exp Neurol 2007: 204; 454)、オピオイドのように嘔気は食欲減退などの副作用が少ないため、今後、臨床上オピオイドの代替薬として期待できる。

## 2. 研究の目的

脊髄投与されたカンナビノイドの作用機序をラットの SG における *in vivo* パッチクランプ法による電気生理学的手法を用いて検討する。カンナビノイドによる脊髄鎮痛法を発展させるために、機能的および構造学的研究により、脊髄カンナビノイドの鎮痛機構の機序解明を行い、臨床使用のための応用基盤とすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

1)マウスに対してハロタンによる全身麻酔下に腰部を切開、L4 を椎弓切除し硬膜を切開、PE10 カテーテルを留置し 1 週間後に CB1 作動薬であるアラキドニル-2'-クロロエチルアミド (ACEA) を 1.0nmol 投与し熱刺激に対する逃避時間を測定した。

2)ラットに抗癌剤であるパクリタキセル 2mg/kg を隔日で 4 回腹腔内投与し末梢神経障害モデルを作製した。また対照群として vehicle (50%クレモフォル+50%エタノー

ル)を同様に投与した。

a)投与終了 1 週間後にケタミンを腹腔内投与し深麻酔下に経左室的に 4%パラフォルムアルデヒドを全身に灌流、固定し免疫化学染色を行った。後根神経節 (dorsal root ganglion: DRG)での冷感受容体である TRPM8、および侵害受容体である TRPV1 の発現を評価した。

b)投与終了 1 週間後にウレタンを腹腔内投与し全身麻酔を得た後、背部皮膚を正中切開し筋層を開き脊椎を露出する。脊椎を固定した後、Th12-L2 まで椎弓切除する。脊髄表面を Krebs 液で灌流しながら硬膜、軟膜を除き SG ニューロンからホールセルパッチクランプ記録を行った。自発 EPSC および寒冷刺激としてラットの足底にアセトンを滴下し誘発される EPSC の変化を記録した。次に灌流液に 20uMol に調節して ACEA を追加した Krebs 液を灌流し EPSC の変化を観察した。

## 4. 研究成果

1)マウスに 1.0nmol の ACEA をクモ膜下投与すると、投与 10 分後から 50 分後まで熱刺激に対する逃避潜時が有意に増加した。(図 1)

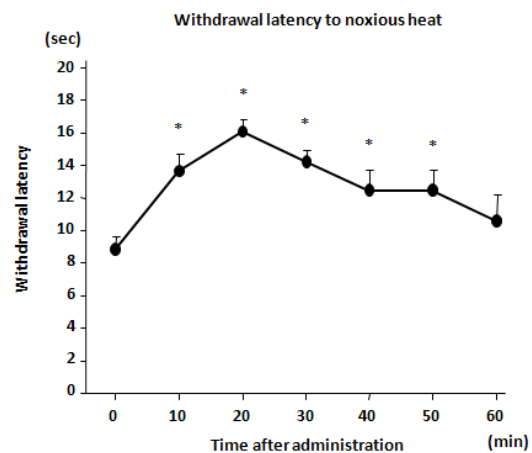


図 1. 熱刺激に対する逃避潜時の推移

## 2)-a)

vehicle 投与群では TRPM8 と TRPV1 は異なる細胞に発現していた。パクリタキセル投与群では TRPM8 を発現する細胞数の増加および TRPM8 と TRPV1 をともに発現している細胞が観察された。(図 2、3)

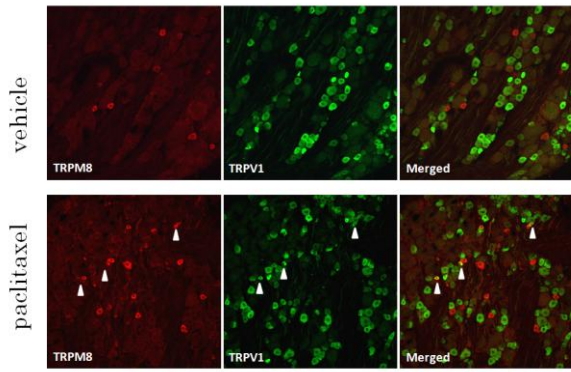


図 2. DRG での TRPM8 と TRPV1 の発現

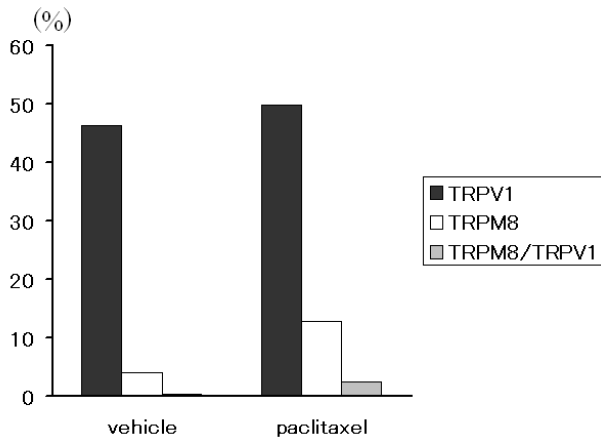


図 3. DRG での TRPM8 と TRPV1 の発現頻度

2)-b)

vehicle を投与したラットの自発 EPSC およびアセトン刺激により増加した EPSC を記録した。(図 4)

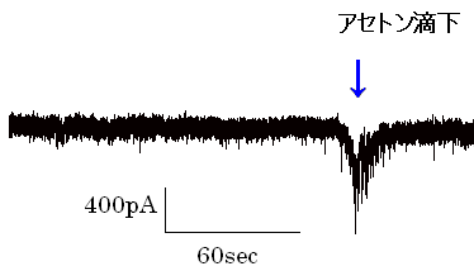


図 4. vehicle ラットの EPSC

パクリタキセルを投与したラットの自発 EPSC およびアセトン刺激により誘発された EPSC は vehicle 投与のラットと比較して振幅・頻度ともに増加していた。(図 5)

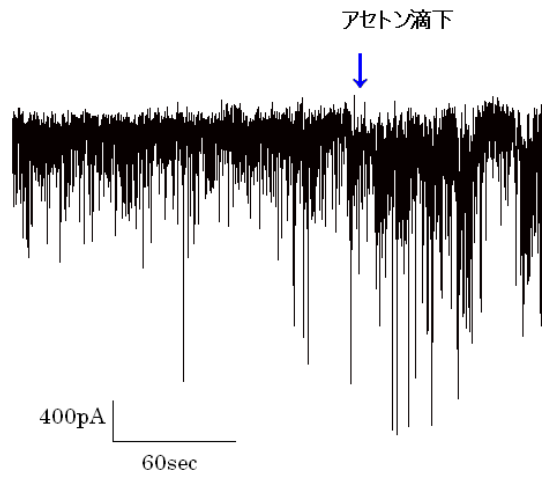


図 5. paclitaxel ラットの EPSC

パクリタキセルを投与したラット脊髄に ACEA 20  $\mu$ M を灌流すると自発 EPSC およびアセトン刺激による EPSC の増加が减弱した。(図 6)

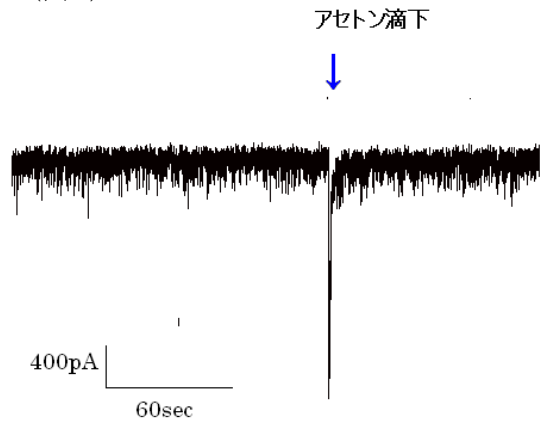


図 6. paclitaxel ラットに ACEA 灌流後の EPSC

以上より、CB1 作動薬である ACEA の脊髄投与により熱侵害刺激に対する逃避反応を抑制させることが判明した。また、抗癌剤による末梢神経障害は臨床においては痛覚過敏や寒冷アロディニアなどの神経症状を呈するが、これは DRG での TRPM8 発現細胞の増加および TRPV1 と TRPM8 の共発現細胞の増加が原因となっていることが考えられた。この末梢神経障害ラットでは自発 EPSC およびアセトン刺激に誘発される EPSC がともに増強しているが、ACEA の灌流により自発 EPSC およびアセトン刺激に反応した EPSC とともに减弱が得られ、抗癌剤による末梢神経障害患者に対してカンナビノイドの脊髄投与が有効である可能性を示した。

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

木谷友洋 Change of TRPM8 expression in a rat model of paclitaxel-induced peripheral neuropathy. The 38<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Neuroscience 2008. 11. 16 Washington D.C., USA

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: L-セリンを含有する末梢神経障害の予防・治療剤

発明者: 川股知之、木谷友洋

権利者: 北海道公立大学法人札幌医科大学

種類: 特許権

番号: 特願出願番号 2010-53328

受付番号 51000509752

出願年月日: 平成 22 年 3 月 10 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 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

**木谷 友洋 (KIYA TOMOHIRO)**

**札幌医科大学・医学部・研究員**

**研究者番号: 10438046**

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: