

機関番号：24402

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ~ 2010

課題番号：20791089

研究課題名 (和文) 中枢性疼痛の発現機序—脳内交感神経受容体との関連の解明、治療への応用に向けて

研究課題名 (英文) Mechanism of the development of central pain - relationships with intracerebral adrenoceptors

研究代表者

高橋 陵太 (TAKAHASHI RYOTA)

大阪市立大学・大学院医学研究科・病院講師

研究者番号：00464628

研究成果の概要 (和文)：中枢性疼痛の発現に關与する因子を明らかにするため、疼痛の治療に広く用いられる局所麻酔薬と脳内交感神経受容体の関係を、動物を用いて検討した。交感神経 B 受容体遮断薬のプロプラノロールは、脳室内投与により静脈内投与の 100 分の 1 程度の少量で局所麻酔薬の中枢神経作用を抑制した。従って局所麻酔薬の中枢神経作用は交感神経受容体によって変化を受けると考えられ、脳内交感神経受容体は、GABA 作動性神経を介して疼痛閾値に影響を与え得ることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：For elucidating the factors contributing to the development of central pain, relationships between the effect of local anesthetics and intracerebral adrenoceptors were examined in animals. Propranolol, a beta adrenoceptor antagonist, suppressed the effect of local anesthetics on the central nervous system at small doses which do not affect the respiratory, circulatory conditions or threshold for pain. Intracerebroventricular propranolol was approximately 100-times more potential for suppressing the effect of local anesthetics compared with that administered intravenously. These results suggest that central nervous system effect of local anesthetics was affected by intracerebral adrenoceptors and these receptors may affect pain threshold via GABAergic neurons.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究代表者の専門分野： 麻酔科学、疼痛治療医学

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： アミド型局所麻酔薬、脳、交感神経、プロプラノロール

1. 研究開始当初の背景

脳や脊髄の外傷・疾患によって生ずる疼痛は、末梢性疼痛と中枢性疼痛に大別される。前者は筋肉の拘縮等が原因で生じ、各種鎮痛薬や神経ブロックなどで比較的良好な鎮痛

が得られる。一方後者は脳卒中、特に視床出血や脳梗塞後にしばしば生じ、筋力低下や痛覚過敏、アロディニアを伴い、種々の鎮痛薬に対して抵抗を示す。さらに不眠や食欲低下、抑うつ状態を引き起こし生活の質を大きく

損い、リハビリテーション等にも著しい支障をきたす。とくに脳梗塞後の中枢性疼痛の発症頻度は約8%に達するとされ、その原因の解明、有効な治療法の確立は重要な課題である。

中枢性疼痛の発生機序として、従来は侵害刺激伝達の2次ニューロンである脊髓視床路の関与が重視され、脊髓が主な研究対象とされてきた。しかし中枢性疼痛は、脊髓視床路の外傷や変性疾患よりも脳幹・視床など脳内の出血や梗塞で生ずる頻度が高いことや、大槽内へのステロイド投与で軽減する場合があることから、視床、とくに腹後側核(ventroposterior lateral nucleus, VPL)や腹後下核(ventroposterior inferior nucleus, VPI)から皮質に至る経路での障害、即ち大脳皮質への投射路の障害によって生ずると考えられる。また近年、脊髓には損傷を加えず視床にのみ選択的に薬物を投与した際にもアロディニア等、神経因性疼痛の症状が認められることが明らかにされ、脊髓視床路よりも上位の中枢が中枢性疼痛の発生に関与していることが強く示唆される。従って中枢性疼痛の機序の解明には、視床を含めた第3次ニューロンのレベルでの研究が不可欠である。

2. 研究の目的

局所麻酔薬は末梢神経のみならず中枢神経系に作用して鎮痛効果を発現し、中枢性疼痛を含めた難治性疼痛の治療に用いられる場合がある。プロプラノロールやデクスメトミジンは脳内に存在する交感神経受容体に作用して鎮静作用を有するとともに、局所麻酔薬による中枢神経症状の誘発閾値を上昇させる。そこで局所麻酔薬の中枢神経作用と交感神経受容体との関係を検討した。

先ず交感神経B受容体遮断薬であるプロプラノロールを脳内に直接投与し、局所麻酔薬の中枢神経作用に変化が生ずるかを検討し、その後静脈内投与を行い、同様の検討を行った。なおこれらの実験に先立ってプロプラノロールの血中濃度の定量方法を開発し、両投与方法での血中濃度についても検討した。次に、末梢血液から脳への局所麻酔薬の移行を検討するため、マイクロダイアライシス法を用いて、脳細胞外液中の濃度を求めた。

3. 研究の方法

(1) 交感神経受容体遮断薬の血中濃度定量方法の確立

高速液体クロマトグラフィー質量分析装置(liquid chromatography - mass spectrometry: LC-MS)による血中プロプラノロール濃度の定量を試みた。まずプロプラノロールの標準物質をLC-MS用移動相に溶解し、抽出過程を経ずに検出を試みた。移

動相として5 mM 酢酸アンモニウム(pH 5.0)とアセトニトリル1:1(容量比)の混合溶液を用い、流速は0.2 ml/minとした。電極の温度は700°Cに保った。安定した標準直線が得られることを確認後に、LC-MS用分離カラム(TOSOH ODS-100Z, 20 x 50 mm, 5 μm)を装着し、ラットより得た血漿に対して既知濃度のプロプラノロールを加え、固相抽出カラム(OASIS MCX, 30 mg/ml)により抽出の後に定量と再現性を試みた。

次に8-9週齢のSprague-Dawley系雄ラットを用い、セボフルランによる全身麻酔下で頸動静脈にカテーテルを留置した後に覚醒させた。血圧・心拍数および脳波モニター下にプロプラノロール1 mg/kg、3 mg/kgを静脈内投与し、5分後に鎮静度及び疼痛への逃避行動を評価するとともに採血して血液ガス測定し、プロプラノロールの血中濃度の定量を試みた。

(2) 局所麻酔薬の、中枢神経を介した循環への影響の検討

8-9週齢のSprague-Dawley系雄ラットを用いた。セボフルランによる全身麻酔下で頸動静脈にカテーテルを留置した後に覚醒させた。リドカインを4 mg/kg/min、プロピバカイン、レボプロピバカインを各々1 mg/kg/minで投与し、この際の血圧・心拍数の変化を検討した。

(3) 末梢血液より脳内への局所麻酔薬の移行度の測定

8-9週齢のSprague-Dawley系雄ラットを用いた。実験の1日以上前にケタミンの腹腔内投与による全身麻酔下で定位脳固定装置に固定し、大脳辺縁系の側座核にマイクロダイアライシス用ガイドカニューレを留置した。実験当日はセボフルランによる全身麻酔下で頸動静脈にカテーテルを留置した後に覚醒させた。

内部標準であるロピバカインを含んだ脳脊髄液でマイクロダイアライシスカニューレを灌流し、灌流液中のロピバカインの濃度が一定になることを確認の後にリドカイン(0.5 mg/kg/min)、プロピバカイン、またはレボプロピバカイン(0.1 mg/kg/min)の持続投与を開始した。灌流して得られた脳脊髄液を5分毎に回収し、その中の内部標準および局所麻酔薬の濃度をLC-MSで測定した。

4. 研究成果

(1) 交感神経受容体遮断薬の血中濃度定量方法の確立

分子量/電荷比(m/z)261.3でプロプラノロールのピークが検出されることが判明した。また、内部標準として用いたミダゾラムの m/z は326で、プロプラノロールとのピ

ークの干渉は生じないことが明らかになった。また臨床使用時の血中濃度を含む 1 – 1,000 ng/ml の範囲で良好な検量線が得られ ($r > 0.999$)、10 ng/ml における日内変動、日差変動は各々 3.8%、5.0% で十分な再現性を有し、本条件を用いてプロプラノロールの定量が可能であると考えられた。また、固相抽出カラムを用いた場合は、最終段階での溶出にメタノールを用いることにより、血漿蛋白を取り除いた上で高い回収率を得ることができた。

動物を用いた実験においては、プロプラノロールは脳室内・静脈内の何れの投与経路においても、意識レベルや疼痛に対する反応に変化は無く、血圧・心拍数の変化は認められなかった。

なお脳室内へプロプラノロールを投与した際の血中濃度は検出限界以下であった。静脈内投与の場合も、脳室内投与の場合と同様、血圧・心拍数、疼痛への反応に変化はなかった。静脈内にプロプラノロール 1 mg/kg、3 mg/kg を投与後の血中濃度は各々 164.1、554.7 ng/ml で、降圧薬として臨床で用いられる濃度にほぼ等しかった。

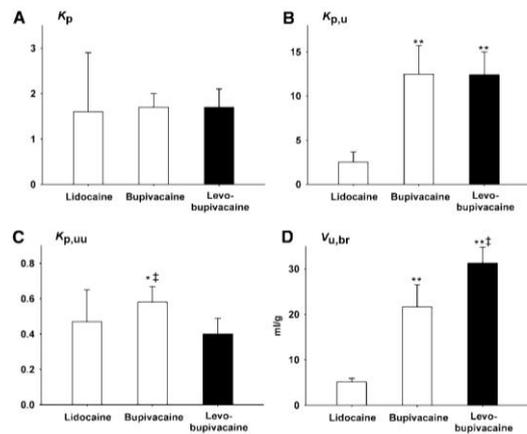
(2) 局所麻酔薬の、中枢神経を介した循環への影響

リドカインを投与した際には、血圧の上昇は認められなかった。一方、ブピバカイン、レボブピバカインを投与した場合には投与開始 5 分後より約 60% の血圧上昇が生じ、これら 2 つの局所麻酔薬は、強い交感神経刺激作用を有することが示唆された。

(3) 末梢血液より脳内への局所麻酔薬の移行の測定

リドカイン、ブピバカイン、レボブピバカインとも脳細胞外液中の濃度は血液中の蛋白非結合分画にほぼ等しく、蛋白非結合分画のみが血液中から脳内に移行することが明らかになった。また脳内総濃度－血中総分画(蛋白結合分画、非結合分画の和)濃度比は 3 種類の麻酔薬の間で差が無かったが、脳内総濃度－血中蛋白非結合分画濃度比は、ブピバカイン、レボブピバカインがリドカインに比べて有意に高かった。一方脳細胞外液中濃度－血中蛋白非結合分画濃度比はブピバカインがリドカイン、レボブピバカインに比べて有意に高く、これらの 3 種の麻酔薬の中ではブピバカインがもっとも脳へ移行する割合が高く、中枢神経毒性が強い一因であると考えられた(右上図)。

右上図の説明：末梢血液から脳内への局所麻酔薬の移行度。(A) K_p : 脳内総濃度－血中総分画濃度比、(B) $K_{p,u}$: 脳内総濃度－血中蛋白非結合分画濃度比、(C) $K_{p,uu}$: 脳細胞外液中濃度－血中蛋白非結合分画濃度比、(D) $V_{u,br}$: 脳内分布容量



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 Y. Ikeda, Y. Oda, T. Nakamura, R. Takahashi, W. Miyake, I. Hase, A. Asada. Pharmacokinetics of lidocaine, bupivacaine, and levobupivacaine in plasma and brain in awake rats. *Anesthesiology* 2010; 112: 1396-1403, 査読有
- ② 高橋陵太、浅田章、循環器疾患と心血管作動薬：ACC/AHA 非心臓手術のための周術期心血管系評価・管理ガイドライン 2007 を参考に、Lisa、査読無、2010: 17: 574-579
- ③ 舟井優介、池田優子、高橋陵太、浅田章、高マグネシウム血症によるロクロニウムの作用遷延を認めた帝王切開症例、麻酔、査読有、2010: 59: 721-723
- ④ 舟尾友晴、長谷一郎、小谷百合子、清水雅子、中村武人、高橋陵太、宮田妙子、浅田章、くも膜下フェノールブロックと仙骨部神経根高周波熱凝固術が著効した旧肛門部痛の 1 例、*Palliative Care Research*、査読有、2010: 5: 314-316
- ⑤ 高橋陵太、浅田章、局所麻酔薬の細胞毒性に関して、臨床麻酔、査読無、2009: 33: 1297-1298
- ⑥ 舟尾友晴、高橋陵太、宮田妙子、長谷一郎、坂本道治、診断に難渋した肩部 Glomus 腫瘍の 1 症例、ペインクリニック、査読有、2009: 30: 1265-1267
- ⑦ T. Nakamura, Y. Oda, R. Takahashi, K. Tanaka, I. Hase, A. Asada. Propranolol increases the threshold for lidocaine-induced convulsions in awake rats: a direct effect on the brain. *Anesth*

Analg 2008; 106: 1450-1455, 査読有

- ⑧ 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、査読有、2008; 57: 996-998

〔学会発表〕(計 17 件)

- ① 塚口敦子、池田優子、濱田拓、山田徳洪、高橋陵太、浅田章、双胎間輸血症候群に対する胎児鏡下胎盤吻合血管レーザー凝固術の麻酔経験、第 56 回 日本麻酔科学会関西支部学術集会、2010.9.4、大阪
- ② 舟井優介、土屋正彦、高橋陵太、西川精宣、浅田章、術中異常高血圧に対し Pringle 法が有用であった褐色細胞腫肝浸潤の一例、第 56 回 日本麻酔科学会関西支部学術集会、2010.9.4、大阪
- ③ 松山大樹、長谷一郎、小谷百合子、高橋陵太、宮田妙子、舟尾友晴、浅田章、帯状疱疹により誘発された、たこつぼ型心筋症の一症例、日本ペインクリニック学会第 44 回大会、2010.7.3、京都
- ④ 池永十健、舟尾友晴、宮田妙子、清水雅子、高橋陵太、長谷一郎、西川精宣、浅田章、運動障害を伴う上肢帯状疱疹患者における治療方法の検討、日本ペインクリニック学会第 44 回大会、2010.7.3、京都
- ⑤ 清水雅子、長谷一郎、池上里美、鶴田理恵、星学、松井徳造、中尾吉孝、高橋陵太、宮田妙子、舟尾友晴、浅田章、癌性疼痛患者の神経障害性疼痛に対するガバペンチンの有効性の検討、第 15 回日本緩和医療学会学術大会、2010.6.19、東京
- ⑥ 中村武人、長谷一郎、古川敦子、清水雅子、高橋陵太、宮田妙子、舟尾友晴、浅田章、鶴田理恵、フェンタニルパッチは周術期にも継続して使用することが有用である、第 15 回日本緩和医療学会学術大会、2010.6.19、東京
- ⑦ 舟井優介、舟尾友晴、高橋陵太、宮田妙子、長谷一郎、浅田章、帯状疱疹痛、帯状疱疹後神経痛に対して投与した三環系抗うつ薬は QTc を有意に延長した、日本麻酔科学会 第 57 回学術集会、2010.6.4、福岡
- ⑧ 池田優子、小田裕、高橋陵太、三宅和香子、浅田章、プピバカインによる局所麻酔薬中毒に対する脂肪乳剤の作用—覚醒状態のラットを用いた検討—、(社)日本麻酔科学会 第 57 回学術集会、

2010.6.4、福岡

- ⑨ 宮田妙子、長谷一郎、高橋陵太、舟尾友晴、浅田章、帯状疱疹後神経痛の経過中に多発性の関節炎を認めた 1 症例、(社)日本麻酔科学会 第 57 回学術集会、2010.6.4、福岡
- ⑩ Y. Ikeda, Y. Oda, T. Nakamura, R. Takahashi, A. Asada. Pharmacokinetics of lidocaine and bupivacaine in the brain: with relation to plasma concentration. 2009 Annual Meeting, American Society of Anesthesiologists. 2009.10.18. New Orleans, USA
- ⑪ 池田優子、高橋陵太、三宅和香子、西川精宣、浅田章、デクスメドミジンとレミフェンタニルを用いた無挿管での喉頭微細手術の麻酔経験、第 55 回日本麻酔科学会関西支部学術集会、2009.9.5、大阪
- ⑫ 池田優子、小田裕、中村武人、高橋陵太、三宅和香子、浅田章、ラットにおける局所麻酔薬の脳内薬物動態—血中濃度との比較—、(社)日本麻酔科学会第 56 回学術集会、2009.8.16、神戸
- ⑬ 萩原千恵、長谷一郎、舟井優介、清水雅子、高橋陵太、宮田妙子、舟尾友晴、義元徳祥、西川精宣、浅田章、ガンマナイフ治療後に再発した三叉神経痛 5 症例、日本ペインクリニック学会 第 43 回大会、2009.7.18、名古屋
- ⑭ 長谷一郎、鶴田大輔、星学、高田佳江、松井徳造、宮田妙子、高橋陵太、舟尾友晴、浅田章、当院緩和ケアチームに紹介された骨転移症例に対する疼痛緩和方法についての検討、第 14 回日本緩和医療学会学術大会、2009.6.20、大阪
- ⑮ 舟尾友晴、舟井優介、中村武人、高橋陵太、宮田妙子、長谷一郎、義元徳祥、浅田章、帯状疱疹痛、帯状疱疹後神経痛に対して投与した三環系抗うつ薬による QTc 延長効果の検討、第 39 回日本ペインクリニック学会関西地方会、2009.6.6、大阪
- ⑯ Y. Ikeda, Y. Oda, T. Nakamura, R. Takahashi, A. Asada. Pharmacokinetics of lidocaine in the brain: An application of microdialysis technique. 2008 Annual Meeting, American Society of Anesthesiologists. 2008.10.18. Orlando, USA
- ⑰ 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

生ず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
ィンククリニック学会関西地方会、2008.5.1
7、大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 陵太 (TAKAHASHI RYOTA)
大阪市立大学・大学院医学研究科・病院講師
研究者番号：00464628

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし