

平成 22年 4月 19日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20890132

研究課題名（和文） 脊髄レベルにおけるオピオイド誘発性知覚過敏の機序の解明

研究課題名（英文） Evaluation of spinal mechanism of opioid-induced hyperalgesia

研究代表者

石田 亮介 (ISHIDA RYOSUKE)

島根大学・医学部・医科医員

研究者番号：50508934

研究成果の概要（和文）：

近年、レミフェンタニルが痛覚過敏を引き起こすという報告が散見されるが、その機序や発生状況についてはあまりよくわかっていない。また近年、様々な疼痛モデルやオピオイド投与による中枢性感作に、脊髄後角でのニューロンおよびグリア系細胞内の MAP Kinase の活性化が関与していることを示す報告が多く見られるようになった。そこで我々はレミフェンタニルがどのような状況で痛覚過敏を引き起こすかを確認し、またその痛覚過敏と、ERK1/2 のリン酸化に関係があるか確かめるために以下の実験を行った。

雄の SD ラットを用い投与時間および投与量を変え、レミフェンタニルを尾静脈に挿入したカテーテルから投与した。tail-flick テストを行い行動学的に痛覚過敏の発生状況を調べた。さらに投与終了後免疫染色を行い、脊髄における ERK のリン酸化の程度と局在を調べた。さらに 120 分投与群と生食投与群で Western Blot 法によりリン酸化 ERK のタンパク量を比較した。その結果、レミフェンタニルは 30 分の短時間投与では痛覚過敏を起こさず、120 分投与では投与量に依存せず投与終了後の痛覚過敏を引き起こすことがわかった。また、行動学的に痛覚過敏を引き起こす 120 分投与群において、他の群に比べて有意に多く脊髄後角でのリン酸化 ERK を認め、それはニューロンに局在していた。ところが、同様のモデルにおいて ERK のリン酸化阻害薬である U0126 を脊髄くも膜下投与したところ、痛覚過敏の発生は抑制できなかった。以上より、レミフェンタニル持続静脈内投与はラットにおいて投与終了後の痛覚過敏を引き起こし、それは投与量に依存しなかった。また、レミフェンタニル 120 分静脈投与は行動学的に観察される痛覚過敏に伴って、脊髄後角ニューロンにおける ERK のリン酸化を引き起こすが、このリン酸化を阻害しても痛覚過敏は抑制できなかった。レミフェンタニル投与による痛覚過敏の発生に複数の機序が関与している可能性があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Recent studies suggest that remifentanil may induce hyperalgesia as with other  $\mu$ -opioid agonists. However, its mechanism is still unclear. We performed animal experiments to investigate whether intravenous infusion of remifentanil induces hyperalgesia and in what situation this phenomenon occurs, furthermore, whether remifentanil-induced hyperalgesia is related to activation of ERK1/2 (extracellular signal-regulated protein kinase 1/2) pathway.

Remifentanil was administered through a catheter cannulated in tail vein of rat. After termination of drug administration, tail-flick test was performed followed by immunohistochemistry. Furthermore, we examined whether intrathecal pre-administration of MEK (MAPK/ERK kinase) inhibitor, U0126, can suppress hyperalgesia. As a result, remifentanil showed anti-nociceptive effect in the dose dependent manner in rats. Thirty minutes infusion of remifentanil did not induce hyperalgesia. However, the tail-flick latency after termination of infusion was significantly shorter in all remifentanil 120 min groups than control group regardless of dose. Significantly more

p-ERK positive neurons located in spinal dorsal horn were observed in remifentanil 120 min group with hyperalgesia than in remifentanil 30 min group without hyperalgesia. However, U0126 could not suppress the occurrence of hyperalgesia. In conclusion, remifentanil induces hyperalgesia depend on its duration of administration. Although, ERK1/2 pathway is related to remifentanil-induced hyperalgesia, it may not be caused by a single factor. Because inhibition of ERK1/2 phosphorylation could not prevent hyperalgesia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	940,000	282,000	1,222,000
2009年度	1,140,000	342,000	1,482,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,080,000	624,000	2,704,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：レミフェンタニル、オピオイド誘発性痛覚過敏、 $\mu$ オピオイド受容体、ERK

## 1. 研究開始当初の背景

$\mu$ オピオイド作動薬は周術期管理、癌性疼痛など幅広く臨床において用いられている。その一方で、過量投与による呼吸抑制などの副作用、長期使用による耐性形成、依存など多くの問題も抱える。しかし、それらの問題が生じる機序に関してはすべてが解明されているわけではない。

本邦において、近年レミフェンタニルが臨床使用可能となった。レミフェンタニルは、強力な $\mu$ オピオイド作動薬でかつ超短時間作用性であるという特徴を有する。これにより手術侵襲に代表される侵害作用を効果的にブロックすることが可能となり、急速に普及している。しかしその一方、術後の疼痛管理が困難になるという報告が多く認められる。超短時間作用性であるという理由で術後鎮痛への切り替えやコントロールが難しくなるだけでなく、術後の疼痛閾値の低下や急性耐性が生じ、他のオピオイドや鎮痛剤が効きにくくなるなどの報告もある。ボランティアを用いたレミフェンタニルによる知覚閾値の低下の報告も存在するが、未だ明確な結論に至っていない。不十分な術後疼痛管理により、循環呼吸合併症が増加するだけでなく術後

疼痛が慢性痛に移行する可能性もある。

動物実験やボランティアでの研究において、オピオイドは知覚過敏を誘発するという現象が示されている。この現象は opioid-induced hyperalgesia (OIH) と呼ばれている。本現象を引き起こす代表的な薬剤はモルヒネである。動物実験において、モルヒネを大量に使用した後の離脱症状として観察される場合もあるが、極めて少量のモルヒネを使用しただけでもこの現象が認められるなど、その発生状況は様々である。最近では、OIH はモルヒネだけに特異的に生じるものではなく、オピオイド全般で認められるものであると示されるようになった。しかし OIH の機序や、OIH が発生する要因については分かっておらず、臨床での投与においてレミフェンタニルが OIH を引き起こすか否かについてもこれまで統一した見解はない。

## 2. 研究の目的

術後の疼痛管理が困難になるという臨床上的特徴から、レミフェンタニルが OIH を生じている可能性がある。そこで、ラットを用いて実験を行い、レミフェンタニルが OIH を生じるか否かを確認する。実際には、少量の

レミフェンタニルを用いた動物実験において知覚過敏を認めた報告が散見される。しかし、これらの研究において用いられたレミフェンタニルではその投与量や投与経路の点から抗侵害作用を認めることはできず、また単回投与であるため臨床で一般的に用いられる方法とは大きく異なる。そのため我々の実験においては臨床使用に近い形で静脈にカテーテルを留置し、持続投与を行う。さらに OIH が用量依存性に生じる可能性があるため、投与量、投与時間を変えて検討を行う。これによりいかなる状況においてレミフェンタニルが痛覚過敏を生じるか、その特徴を解明することを目的とする。さらに、現時点ではオピオイド受容体の局在から考えて、末梢神経あるいは脊髄で OIH が発生しているのではないかと考えられている。本研究においては、脊髄が OIH に関わっているかどうかを明らかにするため、脊髄後角における MAPKinase 特に ERK に着目してその活性化を調べることにより、OIH の機序の解明の一助となることを目的とする。

### 3. 研究の方法

初年度においては、レミフェンタニル (remi) が引き起こすといわれている、痛覚過敏および耐性を動物実験で捕らえることを目的とした。

(実験 1) Sprague-Dawley ラットを用い、各群 6 匹ずつ以下の 4 群に分け、尾静脈に挿入したカテーテルから各薬剤を持続投与し Tail Flick test (TF) を行った。(1) Saline、(2) remi 1 $\mu$ g/kg/min、(3) remi 10 $\mu$ g/kg/min、(4) remi 30 $\mu$ g/kg/min、(1) から (3) は 30 分間、(4) は 10 分間投与の後 30 分間観察し、経過中 10 分間隔で TF を行った。

(実験 2) Sprague-Dawley ラットを用い、各群 6 匹ずつ以下の 4 群に分け、尾静脈に挿入したカテーテルから各薬剤を持続投与し TF を行った。(1) Saline、(2) remi 1 $\mu$ g/kg/min、(3) remi 3 $\mu$ g/kg/min、(4) remi 10 $\mu$ g/kg/min、それぞれ 120 分間投与の後 60 分間観察し、経過中 10 分間隔で TF を行った。

次年度の実験は Sprague-Dawley ラットを用い、各群 6 匹ずつ 1) Remi 10mg/kg/min 120 分、2) Remi 10mg/kg/min 30 分、3) Saline、4) Sham の 4 群に分け、薬剤を尾静脈に挿入したカテーテルから投与した。投与終了後免疫染色を行い、脊髄における ERK のリン酸

化の程度と局在を調べた。さらに 120 分投与群と生食投与群で Western Blot 法によりリン酸化 ERK のタンパク量を比較した。

### 4. 研究成果

初年度の実験結果は以下の通りであった。実験 1 において、いずれの群においても投与後の痛覚過敏を認めなかった。実験 2 においては 3 $\mu$ g 群においては投与終了 5 分後から 30 分後まで、1 $\mu$ g および 10 $\mu$ g 群では同 10 分後より 30 分後まで生食群と比べて有意な逃避時間の短縮を認めた。また 3mg 群では持続投与開始後 40 分から逃避時間が有意に漸減し投与中の鎮痛効果の減弱が観察された。

これらの実験から、レミフェンタニルは長時間持続静脈内投与を行った際に鎮痛効果の減弱、および投与後の痛覚過敏を同時に引き起こすことが明らかとなり、その発生は薬剤の投与量ではなく、暴露時間に依存する可能性が示唆された。これはレミフェンタニル単独投与による痛覚過敏を臨床と同様の持続静脈内投与で認めた初めてのモデルである。

翌年度の実験においては、行動学的に痛覚過敏を引き起こす 120 分投与群において、他の群に比べて有意に多くリン酸化 ERK を認め、それはニューロンに局在していた。ところが、同様のモデルにおいて ERK のリン酸化阻害薬である U0126 を脊髄くも膜下投与したところ、痛覚過敏の発生は抑制できなかった。このことから、ラットにおいてレミフェンタニル 120 分静脈投与は行動学的に観察される痛覚過敏に伴って、脊髄後角ニューロンにおける ERK のリン酸化を引き起こすが、このリン酸化を阻害しても痛覚過敏は抑制できないことが分かった。レミフェンタニル投与による痛覚過敏の発生に複数の機序が関与している可能性が示唆された。これまで ERK のリン酸化がオピオイド投与により引き起こされることは知られていた。しかしその意義は明らかでなく、耐性などのオピオイドの負の作用の原因となるのか、抑制する方向に働くのかについては定まった見解はなかった。また、ERK がレミフェンタニルの痛覚過敏の後期相に関与するという報告はこれまでであったが、我々の研究は、ERK が痛覚過敏の発生段階に関与している可能性を示した。レミフェンタニルの痛覚過敏についてはさらなる研究が必要であり、正しい機序の解明は臨床麻酔の質の向上に貢献するものである。

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 件)

〔学会発表〕 (計 2 件)

(1) Ryosuke Ishida, Remifentanil Induces Hyperalgesia after Long Term Infusion in Rats, 2009 American Society of Anesthesiologists Annual Meeting, 2009 年 9 月 21 日, New Orleans, USA

(2) 石田 亮介, レミフェンタニル持続静脈内投与ラットにおけるオピオイド誘発性急性耐性及び痛覚過敏の検討, 第 57 回日本麻酔科学会学術集会, 2009 年 8 月 17 日, 神戸市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 亮介 (ISHIDA RYOSUKE)

島根大学・医学部・医科医員

研究者番号：50508934

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：