

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07767

研究課題名(和文)薬物筋注による鎮痛におけるアデノシンの役割の解明

研究課題名(英文)Role of adenosine for analgesia induced by intramuscular injection of drugs

研究代表者

那須 輝顕 (Nasu, Teruaki)

中部大学・生命健康科学部・助手

研究者番号：30584180

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、局所麻酔薬リドカイン(Lido)による鎮痛に、ATP放出チャネルであるパネキシン1とアデノシン受容体(AR)が関与するかどうか、Lidoの筋肉注射によりATP放出が起こるかどうかが、線維筋痛症モデル動物である繰り返し寒冷ストレス(RCS)ラットの末梢AR、TRPV1の発現変化を調べることを目的とした。その結果、Lidoによる鎮痛にパネキシン1とA1受容体が関与すること、Lido筋注はATP放出を起こした。健康動物とRCS動物のATP放出量に有意な違いはなかった。また健康動物とRCS動物の脊髄後根神経節細胞におけるA1受容体、TRPV1のmRNA発現量に有意な差は無かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究における主な研究成果は、リドカイン筋注による鎮痛にパネキシン1を介したATP放出、末梢アデノシン受容体とTRPV1を介していることを明らかにしたことである。この成果により、長い間信じられてきた局所麻酔薬による鎮痛機構の仮説である「神経ブロックにより痛みの入力が増悪されるためである」では説明できなかった事象を説明することができる。また末梢TRPV1活性化によりATP放出とアデノシン受容体活性化を引き起こす事を示唆する結果を得た。これにより鍼や温熱刺激のような痛み刺激による鎮痛(広汎性侵害抑制調節)のメカニズム解明とそれらの有効な治療プロトコル確立に本研究結果が寄与できると考えられる。

研究成果の概要(英文)： This study investigated (1) whether the ATP release channel, pannexin 1, and adenosine receptor (AR) are involved in analgesia by the local anesthetic lidocaine (Lido), (2) whether intramuscular injection of Lido causes ATP release, and (3) whether intramuscular injection of Lido causes ATP release. The purpose of this study was to investigate the changes in the expression of peripheral AR and TRPV1 in rats subjected to repeated cold stress (RCS), a myalgia model animal. As a result, (1) pannexin 1 and A1 receptors are involved in Lido-induced analgesia, and (2) intramuscular injection of Lido caused ATP release. There was no significant difference in ATP release between healthy and RCS animals. (3) There was no significant difference in the mRNA expression levels of A1 receptor and TRPV1 in spinal cord dorsal root ganglion cells between healthy animals and RCS animals.

研究分野：疼痛生理学

キーワード：リドカイン 繰り返し寒冷ストレス アデノシン ATP パネキシン1 TRPV1 線維筋痛症

1. 研究開始当初の背景

腰痛や肩こりのような筋骨格系の痛みは、国民の主訴で最も多い症状であり、経済的損失や医療費高騰への要因にもなっている重要な問題である。しかし、運動器の痛みの研究は、神経障害性疼痛などの他の痛みに比べて遅れていて未解明の点が多い。筋骨格系の痛みの治療の一つにトリガーポイント(関連痛を伴う筋の圧痛部位)への局所麻酔薬リドカイン等の筋肉注射がある。その作用機序は、伝導ブロックや下行性疼痛抑制系の活性化などで説明されるが、実験的な証明はない。一方で、報告者は、線維筋痛症のモデル動物である繰り返し寒冷ストレス (RCS: **Repeated Cold Stress**) モデル動物を用いた薬物筋注による鎮痛機構の解析により、1) TRPV1 活性化による求心性入力を介した内因性鎮痛系活性化、2) リドカインとノイロトロピンは鎮痛持続時間、内因性鎮痛に関与する受容体が違うこと、3) 麻酔薬の筋注による鎮痛が単なる末梢入力の伝導ブロックでは説明できないことが明らかとなった。TRPV1 の活性化で筋から ATP 放出が起こる現象、薬物筋注と効果が似ている鍼鎮痛にアデノシンが関与するという報告から、薬物筋注による鎮痛機序として末梢のアデノシンが重要であると考えられるが、薬物筋注による鎮痛に末梢のアデノシンが関与するという実験的証拠はない。

2. 研究の目的

- (1) 薬物筋注によって骨格筋から ATP が放出されるかどうかを明らかにする。さらに放出量が RCS 暴露によって変化するかどうかも明らかにする。
- (2) リドカイン筋注による鎮痛に ATP 放出チャンネルパネキシン 1、アデノシン受容体が関与するかどうかを明らかにする。
- (3) RCS 暴露で脊髄後根神経節細胞の TRPV1 や A1 受容体の発現が変化するかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 骨格筋からの薬物筋注による ATP 放出の有無及びその放出量に対する RCS の影響の解析

健常ラットと RCS 暴露後 1 週間経過したラットの筋標本(長趾伸筋)を摘出し、図 1 のようなチャンバーに固定し Krebs 液を灌流させた。そして灌流液中の ATP 濃度より ATP 放出量を評価した。なお灌流液中の ATP 濃度計測にルシフェリンルシフェラーゼ法を用いて計測した。

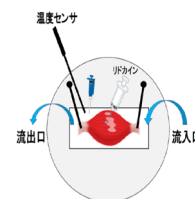


図 1 : ATP 測定

(2) RCS による筋痛覚過敏へのパネキシン 1、アデノシン受容体の関与の有無の解析

繰り返し寒冷ストレスによる筋痛覚過敏に ATP 放出チャンネルパネキシン 1、アデノシン受容体が関与しているかどうかを行動薬理的に解析した。筋圧痛閾値測定は Randall-Selitto 法で行った。筋痛覚過敏が維持されている繰り返し寒冷ストレス暴露後 1 週目のラットの筋圧痛閾値に対するパネキシン 1 阻害剤(プロベネシド)、アデノシン受容体拮抗薬(カフェイン)筋注の影響について筋圧痛閾値を指標にして調べた。

(3) 脊髄後根神経節細胞の TRPV1, A1 受容体の mRNA 発現に対する RCS の影響の解析

健常ラットと繰り返し寒冷ストレス暴露後 1 週目のラットの脊髄後根神経節細胞 (L4-L6) の TRPV1, A1 受容体の mRNA の発現量を RT-PCR 法を用いて調べた。

4. 研究成果

(1) 薬物筋注による骨格筋からの ATP 放出の有無及び放出量に対する RCS の影響

局所麻酔薬リドカインを健常ラットから摘出した筋標本へ投与することで灌流液中の ATP 濃度が有意に増大した。一方、クレス液の筋注では灌流液中の ATP 濃度の有意な変化は見られなかった(図 2)。この結果から、リドカインを筋注することで ATP が骨格筋から放出されることを明らかにした。また RCS 負荷 1 週間後のラットから摘出した筋にリドカイン、クレス液を筋注した結果、健常動物の筋と同様の傾向が見られた。

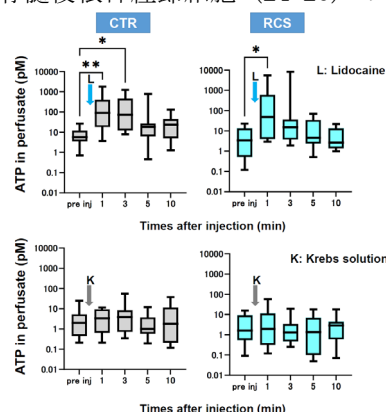


図 2 : 灌流液中の ATP 濃度の経時変化 (健常ラット)

(2) RCSによる筋痛覚過敏へのパネキシン1、アデノシン受容体の関与の有無の解析

RCS 暴露 1 週間後のラットの右側腓腹筋に vehicle 液を筋注し、5 分後にリドカインを筋注した結果、両足腓腹筋の圧痛閾値が有意に増加した。一方、パネキシン1 阻害剤 (プロベネシド)、アデノシン受容体拮抗剤 (カフェイン) を先行投与した結果、リドカインの鎮痛効果が抑制された (図 3)。

この結果から、リドカイン筋注による鎮痛効果に ATP 放出チャネルパネキシン1 とアデノシン受容体が関与していることが明らかになった。

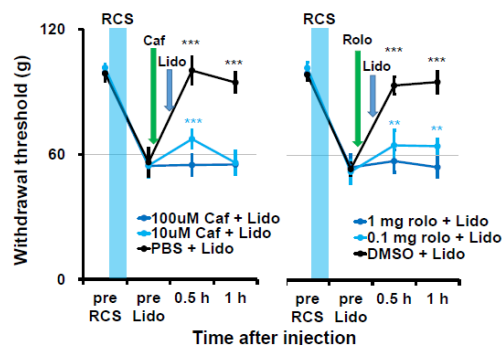


図 3 : パネキシン1 阻害剤、アデノシン受容体拮抗剤の先行投与でリドカイン筋注の鎮痛効果が消失した。

(3) 脊髄後根神経節細胞の TRPV1, A1 受容体の mRNA 発現に対する RCS の影響の解析

健常ラットと RCS 暴露 1 週目のラットの脊髄後根神経節細胞の TRPV1, A1 受容体の mRNA 発現量を RT-PCR 法を用いて解析した結果、健常ラットと RCS ラットの TRPV1, A1 受容体の mRNA 発現量の間には有意な差は見られなかった。

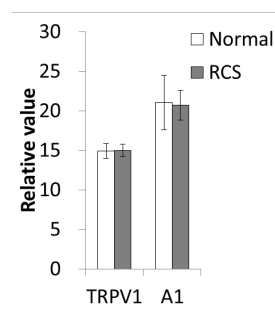


図 4 : RCS による mRNA 発現への影響は見られなかった

(4) まとめ

(1) から (3) の結果と報告者の先行研究より薬物筋注による鎮痛機構は、次のように考えられる。リドカインを筋注することで筋 TRPV1 が活性化し、パネキシン1 を介した ATP 放出が生じる。そして細胞外に放出された ATP は、ecto-ATPase により速やかにアデノシンに分解される。生成されたアデノシンが末梢の A1 受容体を活性化させ、求心性入力が生じる。この求心性入力により下行性疼痛抑制系を活性化させ鎮痛効果を発現させると考えられる (図 5)。

RCS 暴露で脊髄後根神経節細胞のアデノシン受容体の mRNA 発現量が変化していないこと、健常ラットと RCS ラットの筋からの ATP 放出量に違いが見られなかった。そこで今後はさらに 1) アデノシン受容体の機能亢進の分子メカニズムの解明、2) リドカイン筋注により筋アデノシン量が増加するのかどうかを計測して明らかにする必要がある。

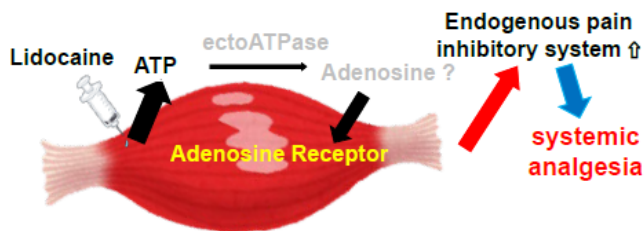


図 5 : リドカイン筋注による鎮痛機構 (報告者が提唱する仮説)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Amane Hori, Teruaki Nasu, Kimiaki Katanosaka, Kazue Mizumura, Masaki Mizuno, Norio Hotta
2. 発表標題 繰り返し寒冷ストレスはラット下腿三頭筋のストレッチに対する循環応答を増強する
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nasu Teruaki, Hibino Yuhei, Katanosaka, Kimiaki, Mizumura Kazue
2. 発表標題 Contribution of peripheral adenosine receptor to analgesia by intramuscular injection of drugs
3. 学会等名 第99回日本生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 那須輝顕
2. 発表標題 ストレス誘発性筋痛の末梢性機構と薬物筋注の鎮痛効果の解析
3. 学会等名 第6回拡大ワークショップ（名古屋大学 脳と心の研究センター主催） オンライン開催（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水村和枝, 小林希実子, 村瀬詩織, 那須輝顕
2. 発表標題 遅発性筋痛の発症メカニズムにおける神経成長因子（NGF）とグリア細胞由来神経栄養因子（GDNF）の相乗作用の解剖学的基盤.
3. 学会等名 第13回日本運動器疼痛学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 那須輝頭, 日比野雄平, 水村和枝
2. 発表標題 Noxious Stimulus Induced Analgesia (NSIA) における末梢A1受容体の関与
3. 学会等名 第13回日本運動器疼痛学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 那須輝頭, 日比野雄平, 片野坂公明, 水村和枝
2. 発表標題 リドカイン筋注による鎮痛の末梢アデノシン受容体の関与
3. 学会等名 第42回日本疼痛学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	鈴木 雅世 (Suzuki Masayo)		
研究協力者	日比野 雄平 (Hibino Yuhei)		
研究協力者	片野坂 公明 (Katanosaka Kimiaki)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	水村 和枝 (Mizumura Kazue)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関