

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09214

研究課題名（和文）神経障害性疼痛における青斑核の機能変化と鎮痛薬の作用、副作用の関連の解明

研究課題名（英文）The relationship between the alteration of the locus coeruleus after peripheral nerve injury and the efficacy of analgesic drugs.

研究代表者

須藤 貴史（Suto, Takashi）

群馬大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60739621

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：神経障害性疼痛は完全な治癒が難しく、有効な鎮痛薬は多くない。神経障害は脳や脊髄に複雑な変化を来し、鎮痛薬が効きにくく変化している可能性がある。前頭前野と脊髄でのノルアドレナリンの働きを制御可能な状態にした実験動物を用いて、神経障害後に治療薬の効果がどう変化するのかについて検討を行った。

慢性痛は前頭前野のノルアドレナリンを増加させ、痛みを維持する可能性が示唆された。神経障害性疼痛に対する鎮痛薬であるデュロキセチンはノルアドレナリンをさらに増加させ、脊髄では鎮痛的に働く一方、前頭前野での増加は疼痛を増強することが示唆された。副作用を軽減しつつ鎮痛を最大化する投与法を考える上で重要な知見を得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経障害性疼痛治療薬であるデュロキセチンは有効性が認められているが、著効を示す率は6人に1人程度と高いとは言えない。本研究結果を考慮すると脳でのノルアドレナリン増加が痛みの増悪に働いてしまう患者の存在が示唆される。一方で、過去の研究を踏まえると、自己が持つ鎮痛システム（内因性鎮痛）を活性化させる作用がデュロキセチンによる鎮痛の本質である可能性も考えられた。神経障害性疼痛には脊髄でのみノルアドレナリンを増加させることが鎮痛に重要である可能性、脳では青斑核を抑制しノルアドレナリンの作用を減少させることが薬物の副作用軽減や慢性痛の随伴症状軽減につながる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Chronic neuropathic pain caused is difficult to cure completely, and there are not many effective analgesics. Patients with neuropathic pain have complex changes in their brains and spinal cords, which may make the mechanism less effective for analgesics. Using experimental animals in which the functions of the prefrontal cortex and spinal cord could be controlled, we investigated how the functions change after neurological damage. Chronic pain increases noradrenaline in the prefrontal cortex, suggesting that it may be involved in exacerbation of pain. Duloxetine, an analgesic used to treat neuropathic pain, also increases noradrenaline in the brain, and while it partially acts as an analgesic, it has been suggested that it may be involved in pain enhancement. Important findings were obtained in considering administration methods that maximize pain relief while reducing side effects.

研究分野：麻酔科学

キーワード：神経障害性疼痛 慢性痛 青斑核 ノルアドレナリン デュロキセチン 前頭前野

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

正常な動物では、痛み刺激はノルアドレナリン神経系の中枢である青斑核細胞を興奮させ、睡眠から覚醒状態への移行や集中力の上昇、脊髄レベルでの痛みの抑制(下行性抑制系)が見られる。一方、慢性痛状態では痛み刺激によっても青斑核は強く反応せず、下行性抑制系は機能しない事がわかっている。また、プレガバリンのような下行性抑制系機能を活性化させる鎮痛薬の効果が減弱する事もわかっている。この原因として脊髄へ投射する青斑核の細胞群がプレガバリン投与後にも活性化せず、脊髄でノルアドレナリンが増加しないことが鎮痛作用の減弱のメカニズムの一つとして報告されている。一方で、予備実験では前頭前皮質へ投射する細胞の作用は保たれており、刺激に反応してノルアドレナリンの上昇が認められたことから、慢性痛状態での青斑核細胞の機能的変化の方向が投射先により異なり、時間的、空間的に多様であるのではないかと仮説を立て、本研究を行った。

2. 研究の目的

本研究は青斑核のノルアドレナリン性神経細胞を投射先ごとにサブグループにわけ、それぞれの神経障害性疼痛の慢性化における役割の検討を目的とする。神経障害性疼痛モデルの作成からの時間経過とともに鎮痛薬の効果が減弱することから、本研究で脳機能の変化が解明されれば、最適な鎮痛薬投与方法の開発や、副作用の少ない薬剤の選択や、新規治療薬の開発に繋がる可能性がある。また、慢性痛患者の多くはうつや集中力の低下、睡眠障害など、ノルアドレナリンの関与が考えられている脳機能の変化がみられ、社会参加をさらに困難にしている。これらの随伴症状のメカニズムと治療法解明の一助となる可能性がある。また、鎮痛薬の多くは脊髄のノルアドレナリンを増加させることで鎮痛を発揮するが、副作用は脳で増加するノルアドレナリンを介している可能性もあり、副作用のメカニズム解明やその軽減法の開発に繋がる可能性がある。

3. 研究の方法

慢性期の神経障害性疼痛モデル

従来から広く使用されている segmental spinal nerve ligation model (SNL) は足底部に神経障害性疼痛様のアロディニア様症状を示す。術後 5-6 週目以降もアロディニアは持続する一方、プレガバリンやデュロキセチンなどの鎮痛効果を示す薬剤の効果が減弱する。また、同時期にノルアドレナリンを介する内因性鎮痛機構の減弱や前頭前皮質のノルアドレナリン増加による脳機能障害が見られる。通常は術後 1~2 週の動物が疼痛関連実験に用いられる事が多いが、本研究ではヒト臨床でも見られる症状が併存する神経障害後慢性期の動物も用いて比較することで、ヒト臨床により近い結果が得られるのではないかと考えた。

ドーパミン 水酸化酵素 (DbH) を発現した細胞でのみ Cre リコンビナーゼを発現するよう遺伝子改変したラット (DbH-Cre ラット) に SNL 手術を行うことで以下の実験を行った。

脊髄へ投射する青斑核細胞群の慢性痛における役割の解明

予備実験では薬理遺伝学的手法を用いた検討で、青斑核のノルアドレナリン作動性神経細胞を一樣に興奮させた場合、鎮痛が見られる個体と痛みが増強する個体の両方が観察された。青斑核細胞のサブグループは互いの作用を相殺している可能性がある。より詳細に青斑核細胞の役割を解明するため、青斑核のノルアドレナリン細胞を投射先ごとにわけ、興奮・抑制の制御を行った。

本研究では神経軸索末端から感染し、逆行性に細胞体に移行する逆行性感染性アデノ随伴ウイルスベクター (AAV2-Retro) を用いた。この AAV2-Retro をマイクロピペットを用いて足底を支配する脊髄高位の脊髄後角組織内に注入し、逆行性に青斑核に感染させた。これにより人工受容体 (DREADD) を脊髄へ投射する青斑核細胞群のみに発現させ、人工リガンドあるクロザピン N オキシド (CNO) を全身投与することで、人工受容体を有する細胞のみ興奮あるいは抑制が可能な状態とした。このラットに神経障害性疼痛モデル (SNL) を作成し、神経障害後の青斑核細胞の投射先ごとの役割を検討した。CNO 投与前後の疼痛閾値の変化を von Frey filament テストまたは paw pressure にて行った。

前頭前皮質に投射する細胞群の役割の解明

正常な動物において、前頭前皮質のノルアドレナリンは注意力や集中力を制御していると考えられている。神経障害後は前頭前皮質の機能を反映する novel object recognition (NOR) が減弱することを報告している。前頭前皮質に AAV2-retro を投与したラットにおいて CNO 投与後の逃

避閾値の変化を von Frey filament テストまたは paw pressure にて観察した。

鎮痛薬の作用減弱と青斑核細胞との関連の調査

神経障害性疼痛の治療には電位依存性カルシウムチャネル 2 サブユニットのリガンド(プレガバリン)、ノルアドレナリン・セロトニン再取り込み阻害薬(デュロキセチン)が用いられるが、いずれも効果が高いとは言えず、眠気や認知機能への副作用が返って悪影響となる場合がある。また、プレガバリンの鎮痛は神経障害性疼痛作成後の時間経過とともに鎮痛作用の減弱がみられることが報告されている。これまで、プレガバリンは青斑核を活性化し、脊髄でノルアドレナリンを増加させることで鎮痛効果を示すが、神経障害性疼痛モデル慢性期は青斑核の反応性の減弱とともに鎮痛効果が減弱することは報告されてきた。デュロキセチンも慢性期の神経障害性疼痛モデルでは効果がことを報告したが、そのメカニズムの検討は脊髄におけるものにとどまっており、脳におけるノルアドレナリン増加作用が鎮痛作用にどのような影響を及ぼすかについては一部しか解明されていなかった。本研究では AAV を用いて青斑核細胞の人為的な制御を可能にしたラットを用いて、デュロキセチン投与と同時に脳へ注射する青斑核細胞を制御した時に、鎮痛作用と副作用がどのように変化するか検討した。

4. 研究成果

脊髄へ注射する青斑核細胞群の慢性痛における役割

AAV を用いて脊髄に注射する青斑核細胞群にのみ人工受容体 DREADD を発現させた。両側の青斑核からの投射神経に興奮性 DREADD を発現させた個体では人工リガンド(CNO)投与により神経障害性疼痛側、反対側いずれも強い逃避閾値の上昇が観察された。抑制性 DREADD では CNO 投与により神経障害側の逃避閾値の低下が見られた。神経障害性疼痛モデル慢性期においても人為的な青斑核の強い興奮は鎮痛をもたらすことが判明した。これらの結果は慢性期の神経障害性疼痛モデルでは青斑核の神経細胞は反応性を有している可能性があり、その調整機構異常により青斑核を起点とする鎮痛機構が減弱していることが示唆された。

一方で、人為的に青斑核全体を抑制することで、鎮痛機構が更に弱まり、痛み行動は悪化するものの、刺激に対する反応の余地が回復するため、さらに痛み刺激を与えた場合には内因性鎮痛が活性化することが観察された。慢性痛状態では青斑核の過剰な興奮が正常な反応性の減弱につながっていることが裏付けられた。

前頭前皮質に注射する細胞群の役割

前頭前野では神経障害性疼痛モデル作成の初期からノルアドレナリン濃度が上昇し、慢性期には更に増加することが報告されている。このノルアドレナリンの作用を検討するために、前頭前野にノルアドレナリン受容体拮抗薬を局所的に投与して、痛み行動の観察を行った。神経障害性疼痛の発症初期には 2 アドレナリン受容体拮抗薬は有意な作用を示さなかったが、慢性期になると拮抗薬の投与により神経障害による疼痛行動が改善した。前頭前野のノルアドレナリンは特に慢性期で痛みの維持に関与している可能性が示唆された。また、DREADD により前頭前野へ注射するノルアドレナリン神経系を人為的に抑制した場合も拮抗薬を投与したときと同様に慢性期でのみ疼痛行動の改善が見られた。前頭前野のノルアドレナリンは神経障害性疼痛の発症初期と慢性期で役割が変化しており、特に慢性期で痛みの維持と関連が深いことが判明した。

鎮痛薬の作用減弱と青斑核細胞との関連

神経障害性疼痛に対する鎮痛薬の第一選択としてデュロキセチンが用いられている。デュロキセチンはノルアドレナリン・セロトニン再取り込み阻害作用を持ち、主に脊髄後角でノルアドレナリンを増加させることで内因性鎮痛、下行性抑制系が活性化した状態と同様の状態をもたらすことが鎮痛作用のメカニズムと考えられている。一方で、デュロキセチンは脳でもノルアドレナリンを増加させる。このノルアドレナリンは抗うつ作用を持ち、慢性痛患者で見られる抑うつ状態の改善に寄与することで慢性痛治療に貢献している可能性はある。一方で、我々の前述の研究から前頭前野のノルアドレナリンの増加は痛みの増悪に関与する可能性が示されている。また、神経障害性疼痛の慢性期にはデュロキセチンの鎮痛効果が減弱することが報告されている。今回の研究では、前頭前野に 2 アドレナリン受容体拮抗薬を局所投与した後、デュロキセチンを全身投与しデュロキセチンの鎮痛効果が変化するか検討した。神経障害性疼痛の早期ではデュロキセチンの鎮痛作用に変化がなかったが、慢性期には鎮痛の減弱が改善した。DREADD を用いた実験でも同様の結果が観察された。

デュロキセチン投与による前頭前野のノルアドレナリン増加率に早期、慢性期の間で差は見られなかったことから、ノルアドレナリンが作用する神経細胞の機能的変化や細胞内シグナル伝達の変化があることが示唆され今後検討を継続する。

また、今回の検討でデュロキセチンは青斑核のノルアドレナリン神経細胞の活動を一過性に抑制することが判明した。このことで慢性期でも神経活動の余地が生まれ、内因性鎮痛が改善する

ことがわかった。

デュロキセチンは脊髄のノルアドレナリン増加による鎮痛作用と内因性鎮痛改善作用により慢性痛患者に効果を示す一方、前頭前野で増加するノルアドレナリンが疼痛増悪や鎮痛作用の減弱に関与する可能性も示された。

本研究のまとめ

青斑核から前頭前野と脊髄に投射するノルアドレナリン神経系の慢性痛における役割を検討した。脊髄へ投射する細胞群は概ね鎮痛に寄与する一方で、前頭前野への細胞群は慢性痛状態では痛みの増悪や鎮痛薬の効きにくさと関与することが示唆される。他の脳部位への投射するノルアドレナリン神経細胞群も同様に神経障害後の時期により機能変化の方向性が異なる可能性もあり今後検討を続けていく。いずれの場合も青斑核の機能調節の破綻が慢性痛の維持に重要な変化であると考えられ、その正常化により慢性痛そのものの改善や、随伴症状の軽減、各種鎮痛薬の効果改善や副作用の軽減に繋がる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Suto Takashi, Kato Daiki, Koibuchi Ikuya, Arai Yuki, Ohta Jo, Hiroki Tadanao, Obata Hideaki, Saito Shigeru	4. 巻 13
2. 論文標題 Rat model of attention-deficit hyperactivity disorder exhibits delayed recovery from acute incisional pain due to impaired descending noradrenergic inhibition	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-32512-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kato Daiki, Suto Takashi, Obata Hideaki, Saito Shigeru	4. 巻 12
2. 論文標題 The efficacy of duloxetine depends on spinal cholinergic plasticity in neuropathic pain model rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IBRO Neuroscience Reports	6. 最初と最後の頁 188 ~ 196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ibneur.2022.02.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 新井祐貴、須藤貴史、本田善孝、廣木忠直、小幡英章、齋藤繁
2. 発表標題 神経障害性疼痛慢性期の前頭前野のノルアドレナリン(NA)の持続的な増加は疼痛増強とデュロキセチン鎮痛作用の減弱に關与する
3. 学会等名 日本麻酔科学会 第71回学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 須藤貴史
2. 発表標題 注意欠陥多動性障害(ADHD)モデルとしてのspontaneously hypertensive rat (SHR)における急性痛の遷延化
3. 学会等名 第45回 日本疼痛学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 太田浄、廣木忠直、須藤貴史、小幡英章、齋藤繁
2. 発表標題 薬理遺伝学的アプローチによる青斑核-内側前頭前野皮質の行動学的解析と慢性期神経障害性疼痛モデルにおける機能的変化
3. 学会等名 第44回日本疼痛学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takashi Suto
2. 発表標題 Neurpathic Pain and Pain modulation
3. 学会等名 Scientific Pain Academy (SPA) (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022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
研究分担者	小幡 英章 (Obata Hideaki) (20302482)	埼玉医科大学・医学部・教授 (32409)	
研究分担者	林田 健一郎 (Hayashida Ken-ichiro) (40769634)	秋田大学・医学系研究科・准教授 (11401)	

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
---------	---------