

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17849

研究課題名（和文）神経障害性痛に対する抗酸化作用物質の効果

研究課題名（英文）Effects of antioxidants on neuropathic pain

研究代表者

尾本 遥（Omoto, Haruka）

大阪医科薬科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：70713775

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：酸化ストレス関連阻害作用のある薬剤により神経障害性痛が抑えられるのではないかと考え研究を開始した。しかしマウスへの薬剤投与が困難であることに加え、観察したい段階までマウスを飼育させることに難渋した。さらに COVID-19 等の影響により薬剤の入手も困難となってしまった。今後薬剤投与方法等検討の上さらに研究を重ねていきたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経損傷後に産生されるフリーラジカルが神経障害性痛の初期の病態に関与していることが明らかとなったが、痛み自体がさらにフリーラジカルを過剰産生することにより生体内に酸化ストレスを発生させ、さらなる病態の悪化に関与している可能性がある。今回副作用が少ないことが予想され、臨床応用の利点が大きいと考えられる物質により神経障害性痛を改善することができれば、神経障害性痛を抑えるとともに酸化ストレスが関係している他の疾患も予防することができる非常に有益な新たな治療薬が開発できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Antioxidant substances are expected to reduce neuropathic pain. However, it was difficult to administer the drug to mice and to grow mice with neuropathic pain. In addition, the effects of COVID-19 made it difficult to obtain drugs. We would like to continue studying the drug administration method in the future.

研究分野：神経障害性痛

キーワード：神経障害性痛 抗酸化作用物質

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経障害性痛の発現と維持のメカニズムは近年次第に明らかになってきているが、非常に病態が複雑であり、有効性の高い薬物が少ない。侵害受容ニューロンの損傷によって複数の神経系に多様な可塑性が惹起されるため、一旦病態が完成されると既存の治療に抵抗を示す。そのため、いかに神経障害性痛の病態の進行を抑制するかが重要であると考えられてきた。神経損傷後に産生されるフリーラジカルが神経障害性痛の初期の病態に関与していることが近年明らかになっているが、さらなる病態の悪化にも関与している可能性がある。今回、神経結紮により神経障害性痛を発現させたマウスに各段階で抗酸化作用を有する薬剤を投与することにより、抗酸化物質が神経障害性痛の発現と維持のどちらの過程も抑制する可能性について検討した。

2. 研究の目的

神経障害性痛は、既存の鎮痛薬に抵抗性を示し、一旦完成された神経障害性痛に著効する治療法はない。近年、神経損傷後に産生されるフリーラジカルが神経障害性痛の初期の病態に関与していることが明らかとなったが、痛み自体がさらにフリーラジカルを過剰産生することにより生体内に酸化ストレスを発生させ、さらなる病態の悪化に関与している可能性がある。今回使用する薬剤は副作用が少ないとされており、臨床応用の利点が大いと考えられる。これらの物質により神経障害性痛を改善することができれば、神経障害性痛を抑えるとともに脳梗塞や心筋梗塞などのリスクをも予防することができる非常に有益な新たな治療薬が開発できる可能性がある。

3. 研究の方法

(1) 神経障害性痛モデル (L5SNL) マウスの作製

ラットの腰椎第 5 神経を片側のみ結紮すると、1 週間後には患側にアロディニアが出現し、疼痛閾値の低下がみられる (Kim SH, Chung JM. Pain. 50: 355-63, 1992.)。これは神経障害性痛モデル (L5 神経結紮モデル: L5SNL モデル) として痛みの研究に広く使用されている。われわれの研究チームは、これをマウスに応用して (Mabuchi T et al. Eur J Neurosci. 17: 1384-92, 2003.) L5SNL モデルを作製し、痛みの研究に用いてきた実績がある。4 週齢前後のマウスを麻酔下に腰部の皮膚を切開し、片側の第 5 腰神経を結紮する。処置翌日より患肢に痛覚過敏とアロディニアが発現し、持続する。麻酔下に片側の第 5 腰神経の剥離・露出のみを行う sham operation 群と比較し、筆を用いたアロディニアの反応 (0: 無反応, 1: 軽度の啼泣, 2: 激しい啼泣または逃避) により強いアロディニアが認められたマウスのみを用いて実験を行う。

(2) 神経障害性痛の酸化ストレス反応の経時的变化の検討

神経結紮前、神経結紮 1 時間後、神経結紮 1 日後から 14 日後まで毎日マウスの伏在静脈より採血を行い、酸化ストレス値 d-ROMs (Diacron-Reactive Oxygen Metabolites) と、抗酸化力値 BAP (Biological Antioxidant Potential) を測定し、酸化ストレスを経時的に検討する。

(3) 抗酸化物質投与による抗痛覚過敏作用と酸化ストレスの経過の検討

アルギナーゼ阻害剤、GST 阻害剤、Nrf2 活性化剤を腹腔内・髄腔内・経口投与し、抗痛覚過敏反応を以下のテストにより評価する。

Plantar test (熱性痛覚過敏に対する効果)

患肢足底に放射熱を当て、逃避反応が起こるまでの潜時 (秒) を測定する。

von Frey test (機械的痛覚過敏に対する効果)

Stoelting 社製 Touch - Test Sensory Evaluator Kit を用い、患肢足底に上向きの力がかかるようにフィラメントを押し当て、逃避反応が起こる閾値 (g) を測定する。

また、投与後の血中 d-ROMs, BAP を経時的に測定し、酸化ストレス反応の経過を評価する。

(4) 抗酸化物質の神経障害性痛の予防効果の検討

アルギナーゼ阻害剤、GST 阻害剤、Nrf2 活性化剤を腹腔内・髄腔内・経口投与していたマウスに神経結紮を行い、神経障害性痛の発現が抗酸化物質を投与していないマウスと差があるかを以下のテストにより評価する。

筆を用いたアロディニアの反応

(0: 無反応, 1: 軽度の啼泣, 2: 激しい啼泣または逃避)

Plantar test ((3)と同様)

von Frey test ((3)と同様)

体重負荷測定機器 (Bioseb - In Vivo Research Instruments, France) を用いたマウスの両下肢の荷重の変化

5 分間のフリームービングにおける両肢にかかる重量と設置面積の比を測定する。

薬剤の投与開始時期は、生後 1 週齢から神経結紮時まで継続投与する群と、生後 3 週齢から神経結紮時まで継続投与する群を検討している。また、投与後の血中 d-ROMs, BAP を経時的に測定し、酸化ストレス反応の経過を評価する。

(5)初期の神経障害性痛の発現に対する抗酸化物質の効果の検討

神経結紮直後に抗酸化物質を腹腔内・髄腔内・経口投与し、神経障害性痛の発現について抗酸化物質を投与していないマウスと比較し検討する。比較方法は(4)と同様に行う。

(6)完成された神経障害性痛に対する抗酸化物質の効果の検討

神経結紮 1 週間後に抗酸化物質を腹腔内・髄腔内・経口投与し、神経障害性痛に与える影響について抗酸化物質を投与していないマウスと比較し検討する。比較方法は(4)と同様に行う。

4 . 研究成果

抗酸化作用物質により神経障害性痛が抑えられるのではないかと考え研究を開始した。

しかしマウスへの薬剤投与が困難であることに加え、観察したい段階までマウスを飼育させることに難渋した。さらに COVID-19 等の影響により薬剤の入手も困難となってしまう、計画通り結果を得るまでに至らなかった。

今後薬剤投与方法等検討の上さらに研究を重ねていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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