

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590732

研究課題名(和文) ATP感受性カリウムチャネル開口薬の鎮痛作用に関する行動薬理学的研究

研究課題名(英文) Behavioral study on analgesic effect of ATP sensitive potassium channel openers

研究代表者

原西 保典 (HARANISHI, Yasunori)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：90449942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：ラット坐骨神経結紮モデルを用いて神経障害性疼痛に対するATP感受性カリウムチャネル開口薬の鎮痛効果を調べた。構造の異なるジアゾキシド、ピナシジル、ニコランジルを脊髄の髄腔に投与すると用量依存的に機械的痛覚過敏、冷的痛覚過敏を抑制した。熱的痛覚過敏には影響を与えなかった。また、脳室内に投与すると同様に全ての薬物は用量依存的に機械的痛覚過敏と冷的痛覚過敏を抑制した。ATP感受性カリウムチャネル開口薬は脊髄と脳の両方において神経障害性疼痛を抑制することが分かった。

研究成果の概要(英文)：The analgesic effects of ATP sensitive potassium channel openers were examined using a rat neuropathic pain model. Chronic constriction injury to the sciatic nerve was induced in male Sprague-Dawley rats. Structurally distinct drugs, diazoxide, pinacidil, and nicorandil were administered intrathecally or intracerebroventricularly to examine the central effects on mechanical, thermal, and cold hyperalgesia. These drugs applied spinally and supraspinally attenuated mechanical and cold hyperalgesia in a dose-dependent manner, but they had no effect on thermal hyperalgesia. The ATP sensitive potassium channel openers may exert antihyperalgesic effects both in the spinal cord and brain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・疼痛学

キーワード：行動薬理学 鎮痛薬 神経障害性疼痛

1. 研究開始当初の背景

現在、慢性疼痛の原因の中で大部分を占める神経障害性疼痛には有効性の高い薬物は無い。神経障害性疼痛は治療が困難で多くの人が日常生活や労務に支障を来しており社会的損失を招いている。近年その治療を目的とした研究が精力的に行われているが病態が複雑な上、臨床使用が可能な薬物には重大な副作用があるため十分な効果が認められていない。それ故に有効性と安全性の高い新しい神経障害性の治療薬の開発が望まれている。

2. 研究の目的

ATP 感受性カリウムチャンネル(KATP)は細胞内の ATP 濃度が上昇すると閉鎖し、ADP 濃度が低下すると開口する。細胞の代謝状態が KATP を介して細胞興奮を調節している。これまでに心筋、膵島細胞、平滑筋、中枢および末梢神経細胞など多くの臓器に KATP が存在することが分かっている。中枢神経系における KATP の役割が最近明らかになってきている。KATP が活性化され開口するとカリウムイオンが細胞外に流出し細胞膜電位は過分極し、神経細胞の興奮性は抑制される。侵害受容伝達への関与についても分かってきた。侵害受容ニューロンから投射線維を受けている視床下部、線条体、海馬に Kir6.2/SUR1 で構成される KATP が分布していることが分かっている。グルタミン酸は侵害受容伝達における主要な神経伝達物質である。これまでの研究から急性痛だけでなく神経障害性疼痛の病態として重要な中枢性感作に非常に大きく関与することが知られている。KATP 開口薬は中枢神経系でグルタミン酸の遊離を抑制することが示されている。KATP の活性化によりシナプス前膜ではグルタミン酸の遊離を抑制しシナプス後膜では NMDA や AMPA 型グルタミン酸受容体の活性を抑制する。更に二次ニューロンは KATP 活性化により過分極するため細胞興奮が抑制される。その結果グルタミン酸作動性神経伝達は強く抑制される。従って、KATP 開口薬は侵害受容性疼痛および神経障害性疼痛の両方で鎮痛作用を発揮することが期待できる。最近、後根神経節の神経細胞とグリア細胞や末梢神経細胞にも全ての KATP サブユニットが存在することが報告され、Kir6.2/SUR1 以外の組み合わせも示唆されている。神経系での分布が今後明らかになるにつれ侵害受容伝達における KATP の生理的役割の理解が進み、その機能を調節する薬物の重要性が増してくると思われる。KATP はサブユニットの構成に組織特異性があり開口薬にはグルタミン酸放出をコントロールして侵害受容伝達を選択的に抑制する可能性がある。本研究は各薬物の鎮痛作用の有無を調べるだけでなく臨床応用で問題となる運動機能や呼吸機能への影響も観察する。今後、侵害受容伝達に関与する神経部位の

KATP サブユニットの詳細が明らかになるのに伴い、本研究で薬物のサブユニット選択性から鎮痛効果が強いサブユニットを同定し有効な KATP 開口薬に必要な構造的特徴の手掛かりを得ることが、神経障害性疼痛治療で切望されている副作用の少ない新たなカテゴリーの神経障害性疼痛治療薬の開発に繋がると考えられる。

3. 研究の方法

構造的に異なる KATP 開口薬のうち、Kir6.2/SUR1 に特異的に作用する diazoxide(1, 10, 100mg/ml DMSO)、SUR2 に特異性が高い pinacidil(1, 10, 100mg/ml DMSO)と nicorandil(1, 10, 100mg/ml H₂O) の鎮痛作用の有無及び強さを、ラット急性痛モデルと神経障害性疼痛モデル(坐骨神経絞扼モデル)を用いて行動薬理学実験で調べる。鎮痛薬の主要な標的部位は脳と脊髄後角であるが脊髄での侵害受容伝達は下行性抑制系により調節を受けるため脳と脊髄では投与経路により薬物の鎮痛作用が異なる可能性がある。本研究は KATP 開口薬の鎮痛作用と運動機能抑制作用を腹腔内、髄腔内、脳室内投与して調べ標的部位と作用機序を解析した。

(1) 急性痛に対する作用

Tail flick test(脊髄反射への影響)
Hot plate test (上位中枢への影響)
Paw pressure test
Formalin test

(2) 神経障害性疼痛に対する作用

坐骨神経絞扼モデル: 左側の坐骨神経を 4.0-絹糸を用いて 1mm 間隔で 4 箇所緩く結紮する。

Plantar test(熱的痛覚過敏への作用)
Cold plate test(冷的痛覚過敏への作用)
Electronic von Frey test(機械的痛覚過敏への作用)
Rotarod test(運動機能への作用)

(3) 投与経路

髄腔内投与: 大槽から尾側に向かってポリエチレンカテーテル(PE-10)を 8.5 cm 挿入する。薬物を 10 μ l 投与した。

脳室内投与: 右側脳室に 21G ステンレスのガイドカニューレを頭頂骨より 4.0 mm 挿入しネジと歯科用のセメントで頭部に固定する。21G ステンレスカニューレで薬物を 10 μ l 投与した。

(4) 作用機序

鎮痛作用が認められた KATP 開口薬について、KATP 阻害薬の glibenclamide(1, 10 mg/ml DMSO)を各疼痛行動テストの 15 分前に同じ経路で投与し、KATP 開口薬の鎮痛作用が消失または変化するか観察する。

4. 研究成果

(1)急性痛・炎症性疼痛に対する KATP 開口薬の脊髄作用(髄腔内投与)

Tail flick test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 10mg/ml と 100mg/ml で用量依存的に反応潜時を延長した。

Hot plate test

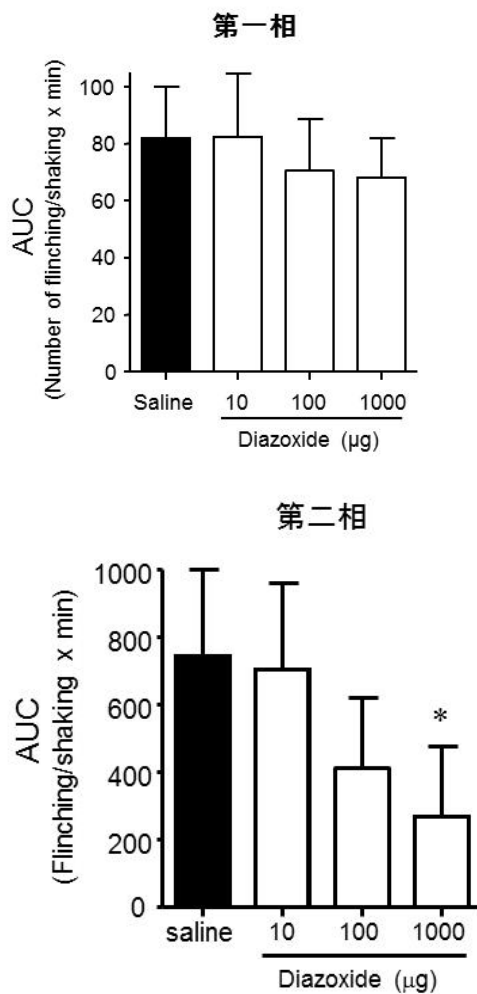
diazoxide, pinacidil, nicorandil は 100mg/ml で反応潜時を延長した。

Paw pressure test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 100mg/ml で反応潜時を延長した。

Formalin test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は第一相に対して効果なし。第二相に対して diazoxide のみ 100mg/ml で抑制した。



髄腔内投与の結果から全ての薬物は高用量で急性熱刺激・機械刺激に対して鎮痛作用を示した。一方、第一相に反映される化学刺激に対しては抑制効果が無く、第二相に反映される炎症性疼痛に対しては diazoxide のみが有効であり、抑制作用が弱いことが示唆された。

(2)急性痛・炎症性疼痛に対する KATP 開口薬の脳作用(脳室内投与)

Tail flick test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 100mg/ml まで反応潜時に影響を与えなかった。

Hot plate test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 100mg/ml まで反応潜時に影響を与えなかった。

Paw pressure test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 100mg/ml まで反応潜時に影響を与えなかった。

Formalin test

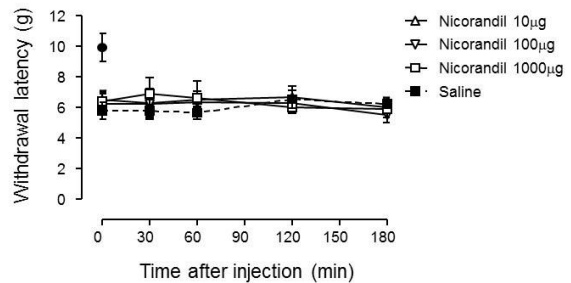
diazoxide, pinacidil, nicorandil は 100mg/ml まで反応潜時に影響を与えなかった。

脳室内投与の結果から急性熱刺激・機械刺激・化学刺激及び炎症性疼痛に対して全ての薬物は脳内で鎮痛作用を持たないことが示唆された。

(3)神経障害性疼痛に対する KATP 開口薬の脊髄作用(髄腔内投与)

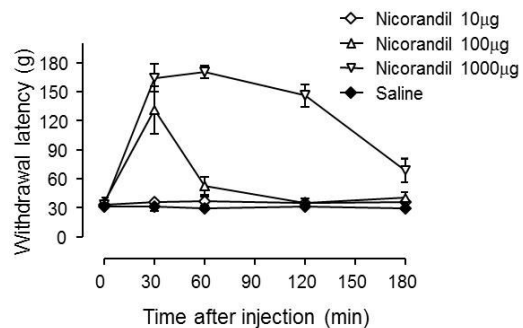
Plantar test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 100mg/ml まで反応潜時に影響を与えなかった。



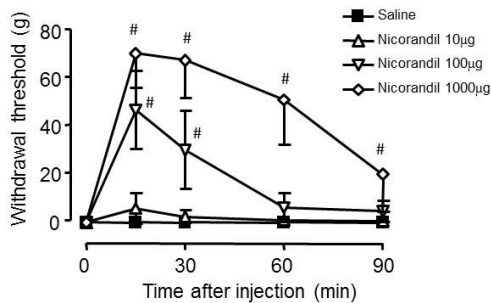
Cold plate test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 10mg/ml と 100mg/ml で用量依存的に反応潜時を延長した。



Electronic von Frey test

diazoxide, pinacidil, nicorandil は 10mg/ml と 100mg/ml で用量依存的に反応潜時を延長した。



髄腔内投与の結果から全ての薬物は用量依存的に冷痛的痛覚過敏と機械的痛覚過敏に対して鎮痛作用を示した。一方、本研究の投与量では全ての薬物は熱痛的痛覚過敏を抑制しなかった。これらは脊髄で KATP 開口薬が痛覚過敏を抑制することを示唆している。熱痛的痛覚過敏に対する作用が無いことの理由は現在のところ不明である。

(4)神経障害性疼痛に対する KATP 開口薬の脳作用(脳室内投与)

Plantar test

diazoxide、pinacidil、nicorandil は 100mg/ml まで反応潜時に影響を与えなかった。

Cold plate test

diazoxide、pinacidil、nicorandil は 10mg/ml と 100mg/ml で用量依存的に反応潜時を延長した。

Electronic von Frey test

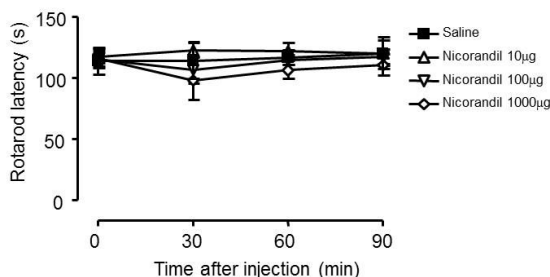
diazoxide、pinacidil、nicorandil は 10mg/ml と 100mg/ml で用量依存的に反応潜時を延長した。

脳室内投与の結果から全ての薬物は用量依存的に冷痛的痛覚過敏と機械的痛覚過敏に対して鎮痛作用を示した。一方、本研究の投与量では全ての薬物は熱痛的痛覚過敏を抑制しなかった。これらは脳内で KATP 開口薬が痛覚過敏を抑制することを示唆している。熱痛的痛覚過敏に対する作用が無いことの理由は現在のところ不明である。

(5)運動機能への影響(髄腔内投与)

Rotarod test

神経障害性疼痛モデルラットで nicorandil は 100mg/ml まで反応潜時に影響を与えなかった。このことから nicorandil は髄腔内投与で鎮痛作用が現れる用量で運動機能に影響しないことが示唆された。



(5)作用機序

神経障害性疼痛モデルラットを用いて

glibenclamide 10mg/ml の髄腔内前処置により diazoxide 100mg/ml の冷痛的痛覚過敏(cold plate test)と機械的痛覚過敏(electronic von Frey test)に対する鎮痛作用は抑制された。このことから薬物の抗痛覚過敏作用は KATP チャネルを介して発現していることが確認された。

本研究から KATP 開口薬は脊髄および脳内で急性疼痛、炎症性疼痛、神経障害性疼痛に随伴する兆候の一部に対して鎮痛作用を持つことが分かった。また運動機能への影響は少ないという結果であった。このことから運動機能以外の副作用に関する検討が更に必要であるが KATP 開口薬は様々なタイプの痛みにも有効な新しい治療薬になる可能性があると考えられる。

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 3件)

Hara K, Haranishi Y, Kataoka K, Takahashi Y, Terada T, Nakamura M, Sata T. Chlorogenic acid administered intrathecally alleviates mechanical and cold hyperalgesia in a rat neuropathic pain model. *Eur J Pharmacol*. 査読有 2014;723:459-464. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.10.046

Kataoka K, Hara K, Haranishi Y, Terada T, Sata T. The antinociceptive effect of SNAP5114, a gamma-aminobutyric acid transporter-3 inhibitor, in rat experimental pain models. *Anesth Analg*. 査読有 2013;116:1162-1169. DOI: 10.1213/ANE.0b013e318282dda7

Hara K, Nakamura M, Haranishi Y, Terada T, Kataoka K, Sata T. Antinociceptive effect of intrathecal administration of hypotaurine in rat models of inflammatory and neuropathic pain. *Amino Acids*. 査読有 2012;43:397-404. DOI: 10.1007/s00726-011-1094-9

[学会発表](計 0件)

[図書](計 0件)

[産業財産権]
出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

原西 保典(HARANISHI, Yasunori)

産業医科大学・医学部・講師
研究者番号：90449942

(2)研究分担者

原 幸治 (HARA, Koji)
産業医科大学・医学部・講師
研究者番号：20331001

寺田 忠徳 (TERADA, Tadanori)
産業医科大学・医学部・助教
研究者番号：10399206

中村 元洋 (NAKAMURA, Motohiro)
産業医科大学・医学部・助教
研究者番号：30461578

佐多 竹良 (SATA, Takeyoshi)
産業医科大学・医学部・教授
研究者番号：60128030