

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25年 5月29日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659747

研究課題名（和文） 新たな中枢性神経障害性疼痛モデルの作成

研究課題名（英文） Development of new central neuropathic pain model

研究代表者

山本 達郎 (YAMAMOTO TATSUO)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：20200818

研究成果の概要（和文）：

神経障害性疼痛には、末梢神経の障害による末梢性神経障害性疼痛と中枢神経の障害による中枢性神経障害性疼痛の2種類に分類されます。特に中枢性神経障害性疼痛は難治性であることが知られています。中枢性神経障害性疼痛は、視床などへの出血により発症するもの（視床痛）、脊髄損傷によるものなど、神経障害の部位は様々です。これらの神経障害により痛みが発症するメカニズムは不明です。この原因は良い動物実験モデルが存在しないことにあると考えています。今回の研究では、新たなモデルを開発するために、視床などへ血液などを選択的に投与しましたが、臨床に即した動物モデルを作成することは出来ませんでした。

研究成果の概要（英文）：

Neuropathic pain is defined as pain arising as a direct consequence of a lesion or disease affecting the somatosensory system. There are two types of neuropathic pain, such as peripheral neuropathic pain and central neuropathic pain. Neuropathic pain is known to be refractory to drug therapy. Especially, central neuropathic pain is an intractable pain. We have no clinically relevant animal central neuropathic pain model and this is why new efficacious therapy was not developed. In this project, I intended to develop new central neuropathic pain model. I injected blood to various brain regions, such as thalamus. Unfortunately, I could not find any sings of central pain which mimic clinical central neuropathic pain.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 2,800,000 | 840,000 | 3,640,000 |

研究分野：臨床医学、疼痛学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、 麻酔・蘇生学

キーワード：疼痛管理学、神経障害性疼痛

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛の治療は、疼痛治療の領域で残された最大の課題である。神経障害性疼痛には、末梢神経の障害により発症する末梢性神経障害性疼痛と中枢神経の障害により発症する中枢性神経障害性疼痛がある。このうち末梢性神経障害性疼痛に対しては、世界疼痛学会が薬物療法の治療指針を発表しており、一定の効果が得られるようになってきた。特に、ガバペンチンの臨床応用により神経因性疼痛治療はかなり前進したともと思われる。しかしながら、中枢性神経障害性疼痛に対してはガバペンチンの有効性も低く、現在ほとんど治療法が無いのが現状である。末梢性神経障害性疼痛の治療が進歩してきた一つの要因は、多くの末梢性神経障害性疼痛の動物実験モデルが報告され、その病態が明らかとなってきたがあげられる。しかしながら中枢性神経障害性疼痛の動物実験モデルは現在のところ存在しない。新たに発想に基づく中枢性神経障害性疼痛の動物実験モデルを確立することは、今後の中枢性神経障害性疼痛の治療法の開発に大きな貢献を果たすのは明らかである。私は、今まで多くの末梢性神経障害性疼痛の動物実験モデルを作成し、実験を行ってきた。この経験を生かすことにより、中枢性神経障害性疼痛の動物実験モデルの確立が可能となると考えている

2. 研究の目的

神経障害性疼痛は難治性の疼痛であるが、その中でも中枢神経損傷による疼痛は特に治療法が開発されておらず、治療に難渋することが多い。このような現状である原因の1つは、臨床症状と一致する動物実験モデルが存在しないことである。治療法開発には、早急な動物実験モデルの開発を行い、末梢神経障害による神経障害性疼痛と中枢神経系の障害による神経障害性疼痛の差を明らかにし、さらに新たな治療戦略を開発する必要性がある。従って、今回の研究で行う中枢神経系の神経障害性疼痛モデル開発の必要性は大変高いものと考えている。

今回の研究期間では、中枢性神経障害性疼痛の動物実験モデルを、ラットを用いて確立することが第1の目標となる。動物実験モデルが確立されたら、さらに現在神経障害性疼痛の治療に使用されている薬物を投与し、その効果を検討する。さらに、今後どのような薬物が治療薬として期待できるかを検討するため、各種神経伝達物質の作動薬・拮抗薬を投与し、治療薬としての可能性を検討する。

現在まで、中枢性神経障害性疼痛の研究はほとんど行われてきていない。今回の研究は、世界的に見ても中枢性神経障害性疼痛研究の第一歩となる研究であると確信している。

今回の研究の成果により、新たな中枢性神経障害性疼痛の薬物療法の指針を提供できる可能性があると考えている。

本研究の目的が達成され、新たな中枢性神経障害性疼痛の動物実験モデルを確立することが出来れば、今まで治療法がなかった中枢性神経障害性疼痛の治療法の開発を行う第一歩となることは疑いようのない。このモデルが開発されれば、中枢性神経障害性疼痛の発症メカニズム研究が始まることとなる。このように、この研究が中枢性神経障害性疼痛の治療法を開発する新しい方法論を提供するものである。本研究が成功した場合は、新たな治験（発症メカニズムなど）に基づいた視床痛などの中枢性神経障害性疼痛の治療法の開発が期待され、飛躍的な治療成績の向上が見込まれる。

3. 研究の方法

(1) 実験モデルの作成

本研究では、ラットを使用する。脳定位手術の手法を用いて、侵害刺激伝達の経路に沿って様々な部位に神経障害を与え、中枢性神経障害性疼痛の発症を観察する。神経障害を与える方法としては、出血を想定した方法、化学物質による方法、熱を与える方法を行う。

① 出血を想定した方法

脳定位手術の手法を用いて、脊髄後索～視床の侵害刺激伝達経路の様々な部位にラット血を投与する。採血は、投与直前に行う。投与量は、0.1 ml から0.1 ml ずつ増量して0.5 ml まで検討する。

② 化学物質による方法

脳定位手術の手法を用いて、脊髄後索～視床の侵害刺激伝達経路の様々な部位に化学物質を投与する。化学物質としては、フェノール、アルコールを用いる。フェノール、アルコールの濃度は、共に70%から10%ずつ上げていき、100%まで検討する。

③ 熱を与える方法

脳定位手術の手法を用いて、脊髄後索～視床の侵害刺激伝達経路の様々な部位にラジオ波熱凝固の器械を用いて熱を与え、神経障害を作成する。

全ての方法で、コントロールとして、sham operationを行ったラット（出血及び化学物質によるモデルでは、生理食塩水を同量投与。また熱によるモデルでは、針の刺入のみを行う）も作成する。

損傷後CTを撮影することにより、損傷部位を確認する。

(2) 中枢性神経障害性疼痛の評価

知覚の低下、アロディニアの発症を検討す

る。神経障害を与えた後、1日、3日、1週間、2週間、4週間後に評価する。

最初に、スクリーニングとしてハケにより、ラット全身を刺激する。この際、コントロールのラットと比較して極端に刺激に対して反応しない部位、反応する部位を特定する。次に、スクリーニングされた部位を von Frey filament を用いて機械刺激に対する反応閾値を測定する。

(3) 形態学的検討

知覚の低下、アロディニアの発症を示したラットは、神経損傷の部位、その広がりの詳細を形態学的に検討する。このためには、ラットをパラホルムアルデヒドにて灌流固定し、脳・脊髄を摘出する。各種染色を行い、神経損傷の部位、神経損傷の広がり、炎症反応等の広がり、脱髄の程度などを検討する。

(4) 薬理的検討

現在神経障害性疼痛に使用されている薬物（三環系抗うつ薬、ガバペンチン、麻薬系鎮痛薬など）を全身投与し、アロディニアの程度に対する効果を検討する。

4. 研究成果

上記の研究方法で行う予定であった。モデルの作成では、目的とする中枢神経の部位へカニューラを適切に留置する技術の開発に成功した。この技術を用いて、薬物を PAG、RVM、LC 等に投与することは可能となり、各部位での鎮痛薬の作用機序の検討を行うことが出来た。特に、哺乳動物の中枢神経系で3番目に多い神経伝達物質である N-acetyl-aspartyl-glutamate の分解酵素阻害薬である ZJ43 の鎮痛効果発現部位を明らかにすることができた。

しかしながら、視床にラット血を投与したが、今回使用した中枢性神経障害性疼痛の評価法では中枢性神経障害性疼痛の発症を確認することは出来なかった。投与の部位の変更・血液以外の物質の投与、など様々な試みを行ったが、結局患者でみられる中枢性神経障害性疼痛に類似の痛みを呈するモデルを作成することは出来なかった。

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5件)

- ① Miyazaki R, Yamamoto T (2012) Efficacy of morphine, pregabalin, gabapentin

and duloxetine on mechanical allodynia is different from that on neuroma pain in the rat neuropathic pain model. *Anesth Analg* 115, 182-188. 査読有

- ② Yamada T, Zuo D, Yamamoto T, Olszewski RT, Bzdega T, Moffett JR, Neale JH (2012) NAAG Peptidase Inhibition in the Periaqueductal Gray and Rostral Ventromedial Medulla Reduces Flinching in the Formalin Model of Inflammation. *Mol Pain* 8, 67. 査読有
- ③ Yamamoto T, Miyazaki R, Yamada T, Shinozaki T (2011) Anti-allodynic effects of intrathecally and intracerebroventricularly administered 26RFa, an intrinsic agonist for GRP103, in the rat partial sciatic nerve ligation model. *Peptides* 32, 1262-1269. 査読有
- ④ Maekawa K, Goto T, Baba T, Yoshitake A, Katahira K, Yamamoto T (2011) Impaired cognition preceding cardiac surgery is related to cerebral ischemic lesions. *J. Anesth.* 25, 330-336. 査読有
- ⑤ Taguchi H, Ichinose K, Tanimoto H, Sugita M, Tashiro M, Yamamoto T (2011) Stroke volume variation obtained with Vigileo/FloTrac™ system during bleeding and fluid overload in dogs. *J. Anesth.* 25, 563-568. 査読有

[学会発表] (計4件)

- ① Shinozaki T, Yamada T, Ishimura T, Yamamoto T (2012) The potency of tramadol and acetaminophen on neuropathic pain is different from that on inflammatory pain. *Neuroscience 2012* (2012年10月13日, New Orleans, USA)
- ② Yamada T, Shinozaki T, Ishimura T, Yamamoto T (2012) N-acetyl-aspartyl-glutamate (NAAG) peptidase inhibitor is analgesic in rat formalin test via mGluR3 activation. *Neuroscience 2012* (2012年10月13日, New Orleans, USA)
- ③ Yamada T, Yamamoto T, Zuo D, Neale JH (2011) PAG and RVM administration of N-Acetyl-aspartyl- glutamate (NAAG) peptidase inhibitors is analgesic in inflammatory pain via mGluR3 activation and inhibition of glutamate release. *Neuroscience 2011* (2011年11月12日, Washington DC, USA)
- ④ Shinozaki T, Aoe T, Yamamoto T (2011)

BiP, an endoplasmic reticulum chaperone, modulate the development of morphine withdrawal syndrome. Neuroscience 2011 (2011年11月12日, Washington DC, USA)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 達郎 (YAMAMOTO TATSUO)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：20200818