

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25861356

研究課題名(和文) 2アドレナリン受容体作動薬徐放薬を用いた神経障害性疼痛の治療

研究課題名(英文) new therapy of neuropathic pain with slow release alfa-2 adrenergic receptor agonist

研究代表者

松岡 宏晃(matsuoka, hiroaki)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10637119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：薬剤の作成が上手くいかず、計画を変更した。
神経障害性疼痛における内因性鎮痛機構に主眼を置き、神経障害性疼痛モデルラットに三環系抗うつ薬を投与し、減弱した内因性鎮痛経路が回復することを明らかとした。具体的には、神経障害性疼痛モデル作成から5週間経過した時点でアミトリプチリンを5日間連続で腹腔内投与し、作成から6週間の時点でラット前肢にカプサイシンを投与して内因性疼痛の評価方法であるnoxious stimulus induced analgesia(NSIA)を調べた。神経障害から6週間経過するとNSIAは減弱するが、アミトリプチリン投与によりNSIAの回復が見られた。

研究成果の概要(英文)：Creation of the drug was not successful and the plan was changed.
We focused on endogenous analgesia in neuropathic pain and revealed that the attenuated endogenous analgesic pathway was restored in neuropathic pain model rats, when the tricyclic antidepressant was administered. Specifically, amitriptyline was intraperitoneally administered for 5 consecutive days after 5 weeks from the creation of a neuropathic pain model, and capsaicin was administered to the rat forepaw at 6 weeks after preparation to evaluate endogenous pain Noxious stimulus induced analgesia (NSIA) was examined. NSIA attenuated after 6 weeks of nerve injury, but recovery of NSIA was observed by amitriptyline administration.

研究分野：疼痛学

キーワード：徐放薬 2受容体 神経障害性疼痛

1. 研究開始当初の背景

2 アドレナリン受容体作動薬は、脊髄後角に作用して神経障害性疼痛を強く抑制する。申請者らのグループはこれまでにドラッグデリバリーシステムを応用し、生体内分解材料を用いて徐放化局所麻酔薬を作成してきたが、2010年頃よりシート状のクロニジン徐放薬を作成している。

2. 研究の目的

クロニジン徐放薬の鎮痛効果や副作用について、ラット神経障害性疼痛モデルを用いて検討することを主たる目的とする。平行して、臨床応用の際により注入しやすい小型の粒子状徐放薬の開発を進める。

神経障害性疼痛をもつ患者は長期の治療が必要となるため、クロニジン徐放薬を用いて少ない投与回数で、効果的な治療法を確立することを目指す。

3. 研究の方法

クロニジン徐放薬をラット神経障害性疼痛モデルに硬膜外投与し行動学的に評価する。

ラット神経障害性疼痛モデルを作成し、2週間後にクロニジン徐放薬を硬膜外腔に投与する。投与後 1,3,6,12 時間および 1,3,5,7,14,28 日後に von Frey test でアロディニアを、paw pressure test で痛覚過敏への抑制効果を評価する。さらにクロニジンが有効である時点で、2 アドレナリン受容体拮抗薬 (イダゾキサン 30 μ g) を髄腔内投与し、鎮痛効果が 2 受容体を介するものであることを照明する。

脊髄後角の GFAP (アストロサイトのマーカー) と Iba-1 (ミクログリアのマーカー) の発現を検討する。

クロニジン徐放薬投与後 3 日、7 日に灌流固定し、脊髄膨大部 (L4/5) を取り出す。脊髄後角の GFAP、Iba-1 の発現を免疫染色法によって解析する。

クロニジン徐放薬の副作用、安全性の試験を行う。

投与後に rota-rod 試験によって鎮静作用や協調運動の評価を行う。観血的動脈圧測定による循環動態の変化、血中濃度測定、投与部位神経毒性についての病理組織学的検討を行う。

臨床応用に有利な粒子型徐放薬の開発を行う。

W-O-W emulsion 法によって薬剤を作成する。薬剤及びポリマーをそれぞれ溶媒に溶かし、外水層であるポリビニルアルコール溶液に注ぎながらホモジナイザーで emulsion を作成後、液中乾燥を行う。完成した溶液を凍結乾燥させて徐放粒子を得るが、作成法については適宜検討する。

ヒトにおける臨床研究の準備を進める。ラットで痛みに対する効果が確認され、副作用がないことがわかればヒトでの臨床試験の準備を進める。すでにリドカイン徐放薬のヒトでの臨床試験を行っており、応用可能で

ある。

4. 研究成果

薬剤の作成が上手くいかず、計画を変更した。神経障害性疼痛における内因性鎮痛機構に主眼を置き、神経障害性疼痛モデルラットに三環系抗うつ薬を投与し、減弱した内因性鎮痛経路が回復することを明らかとした。具体的には、神経障害性疼痛モデル作成から 5 週間経過した時点で Amitriptyline を 5 日間連続で腹腔内投与し、作成から 6 週間の時点でラット前肢にカプサイシンを投与して内因性疼痛の評価方法である noxious stimulus induced analgesia (NSIA) を調べた。神経障害から 6 週間経過すると NSIA は減弱するが、Amitriptyline 投与により NSIA の回復が見られた。

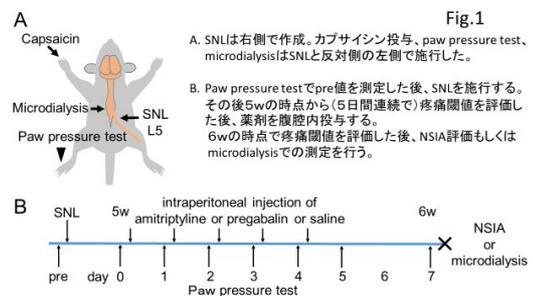


Fig.1 Capsaicin 投与、SNL、microdialysis、paw pressure test 施行部位及び実験のタイムコース。

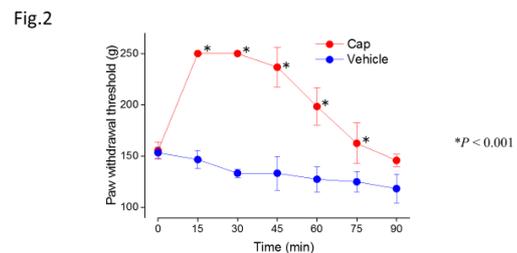


Fig.2 vehicle 投与群と比較して capsaicin 投与群では 1 時間以上疼痛閾値が上昇した。

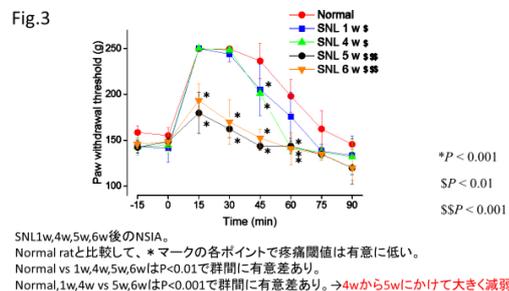
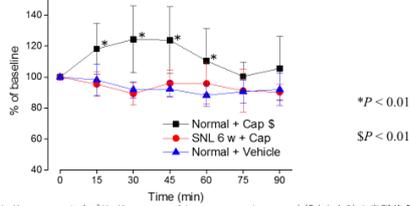


Fig.3 SNL 施行から時間が経過するにつれ NSIA の効果は減弱し、SNL5 週間後には大きく減弱した。

Fig.4

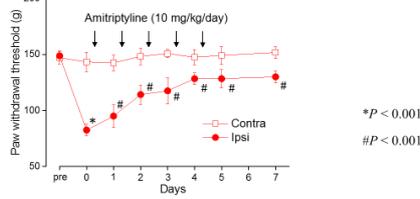


Normal ratにカプサイシン, SNL6wにカプサイシン, controlとしてnormal ratにvehicleを投与した時の脊髄後角でのノルアドレナリン放出の変化。
 Control群と比較しnormal ratにカプサイシンを投与した群ではノルアドレナリンの放出が増加した。
 SNL6w後にカプサイシンを投与した群ではノルアドレナリンの増加はみられなかった。

Amitriptyline投与群では生食投与群と比較して、カプサイシン投与後に疼痛閾値が上昇した。
 Pregabalin投与群は生食投与群と比較して有意差はなかった。
 → amitriptyline投与により減弱したNSIAが回復した。

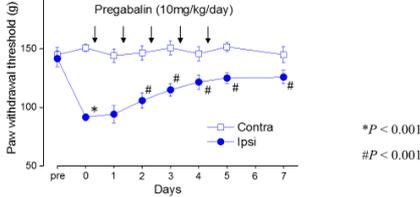
normal rat ではノルアドレナリンが上昇したが、SNL6 週後では上昇しなかった。

Fig.5A



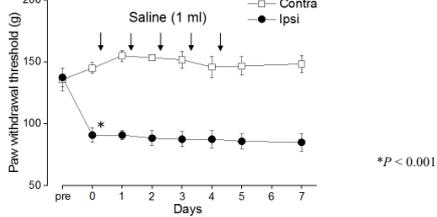
Amitriptyline連投による疼痛閾値の変化。
 SNL側での疼痛閾値はday0で低下したが、amitriptyline投与により徐々に閾値が上昇し、7日目(SNL6w後)でも閾値は上昇したままであった。
 SNL反対側では閾値の変化はみられていない。

Fig.5B



pregabalin連投による疼痛閾値の変化。
 SNL側での疼痛閾値はday0で低下したが、pregabalin投与により徐々に閾値が上昇し、7日目(SNL6w後)でも閾値は上昇したままであった。
 SNL反対側では閾値の変化はみられていない。

Fig.5C

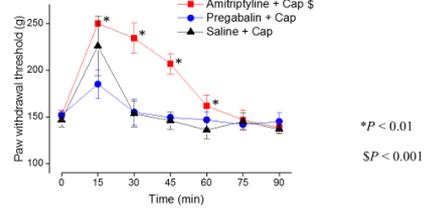


生理食塩水を連投してもSNLにより低下した疼痛閾値に変化はなかった。

Fig.5A, B, C

アミトリプチリン、プレガバリンとも5日間の連投でSNL側での疼痛閾値が上昇し、7日後にも効果は持続した。

Fig.6

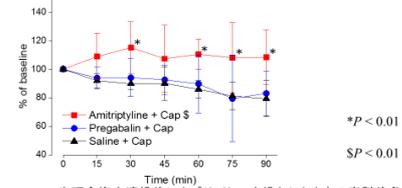


Amitriptyline, pregabalin, 生理食塩水を連投した後(SNL6w後)のNSIAの評価。
 Amitriptyline投与群では生食投与群と比較して、カプサイシン投与後に疼痛閾値が上昇した。
 Pregabalin投与群は生食投与群と比較して有意差はなかった。
 → amitriptyline投与により減弱したNSIAが回復した。

Fig.6

SNL5週目からアミトリプチリンを5日間連投した群ではNSIAの効果が再び見られるようになったが、プレガバリン連投群および生食群ではNSIAの効果は減弱したままであった。

Fig.7



Amitriptyline, pregabalin, 生理食塩水を連投後にカプサイシンを投与したときの脊髄後角でのノルアドレナリン放出の変化。
 Amitriptyline投与群では生食群と比較してノルアドレナリンの放出は増加した。
 Pregabalin投与群では生食群と比較して有意差はなかった。
 → amitriptyline投与によりノルアドレナリンが放出されるようになった。

Fig.7

アミトリプチリン投与群では生食群と比較してノルアドレナリンの放出は増加した。
 プレガバリン投与群では生食群と比較して有意差はなかった。

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 1 件)

Hiroaki Matsuoka, Takashi Suto, Shigeru Saito, Hideaki Obata

Amitriptyline, but Not Pregabalin, Reverses the Attenuation of Noxious Stimulus-Induced Analgesia After Nerve Injury in Rats. 査読：有
 Anesth Analg. 2016 Aug;123(2):504-10

〔学会発表〕(計 1 件)

Hiroaki Matsuoka, Takashi Suto, Shigeru Saito, Hideaki Obata

Amitriptyline reverses the attenuation of noxious stimulus-induced analgesia after nerve injury in rats. IARS Annual Meeting and International SciencuSymposium, San Francisco, 21-24/5/2016

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松岡 宏晃 (MATSUOKA, Hiroaki)
群馬大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10637119

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()