

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462439

研究課題名(和文)膀胱痛モデルを利用したオピオイド受容体 型に対する「ブシ」の作用の解明

研究課題名(英文) Study on effects of bushi for opioid receptor Kappa type of bladder pain model

研究代表者

土田 孝之 (TSUCHIDA, Takayuki)

山梨大学・総合研究部・医学研究員

研究者番号：30217327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：オピオイド受容体拮抗薬ノルピナルトルフィミンを前処置で投与するグループと比較した。また、受容体に選択的に作動性を示す薬剤としてナルフラフィン塩酸塩を投与するグループとの比較を検討した。ナルフラフィン塩酸塩の実験系において「ブシ」の効果を検証したが、検討する「ブシ」の容量については、様々な容量について検討したが、有意な結果は得られなかった。少なくとも「ブシ」とナルフラフィンを併用することで単独使用よりもさらにオピオイド受容体 型に作用することが予想され、今後の展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：to determine the effect using the  $\kappa$ -opioid receptor antagonist medication norvinaltorphimine is administered in the treatment group compared to. Also considering the comparison with nalfurafine hydrochloride administered as a  $\kappa$ -receptor-selective cholinergic drug group. Capacity of the "Bush" effect was verified in experiments for nalfurafine hydrochloride, consider "bushy," examined various capacities, but did not statistically significant results. Sliding plate "busy" system and the nalfurafine system which is difficult. May we at least use "busy" and nalfurafine hydrochloride than single use further affect the opioid receptor-type and expected future development.

研究分野：医歯薬学

キーワード：ブシ ナルフラフィン塩酸塩 オピオイド

## 1. 研究開始当初の背景

今までの間質性膀胱炎に対する治療と知見

間質性膀胱炎に対する治療法は膀胱水圧拡張法が2010年に健康保険適用となっているが、効果が短期間であり、繰り返しの治療が必要である。2008年に当施設では倫理委員会での承認を得て、間質性膀胱炎患者に対する漢方薬「ブシ」(トリカブト)による治療を開始し、膀胱痛に対して劇的な効果を得た。この結果は、2009年の米国泌尿器科学会総会(AUA)で採択されて、大きな注目を受けた。これは我々のオリジナルな治療方法であり、これまでの臨床結果からは将来の発展性が期待されている。最近の研究により膀胱痛症候群(PBS)の動物モデルにおいて、脊髄神経膠星状細胞(アストロサイト)の顕著な活性化が示された。アストロサイトは疼痛症候群において重要な役割を果たし、新しい治療薬の考案に結びつく可能性を示している。(Lori A. Birder Beyond neurons: Involvement of urothelial and glial cells in bladder function. *Neurourology and Urodynamics* 2010;29:1.) また当施設の薬理学教室では、マウスでアストロサイトの活性化は神経障害性疼痛の後期の維持相の原因となっており、そのアストロサイトの活性化を漢方の「ブシ」によって抑制することが可能であると証明した。(K. Shibata The astrocyte-targeted therapy by bushi for the neuropathic pain in mice. *PLoS ONE*. 2011; 6 : 8. e23510) 基礎研究において、漢方薬「ブシ」による治療効果が実証されてきており、我々は漢方薬「ブシ」の臨床的長期効果について、投稿中である。また一方で「ブシ」は鎮痛作用として、脳幹部を通じて大脳より脊髄に至る下行性抑制系を介するとされている。その経路の中で、セロトニン系、 $\alpha$ 2アドレナリン系、オピオイド系受容体に関与しているとされている。オピオイド受容体には主に3つのサブタイプ( $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\kappa$ )が存在し、モルヒ

ネは大部分が $\mu$ 型に関与している。モルヒネとの違い、「ブシ」が関与するオピオイド受容体は $\delta$ 型が大部分であると言われており、また将来の鎮痛剤としては、 $\mu$ 型よりも、 $\delta$ 型に関係するものが有望視されている。かゆみに対する研究の中でも、同様の経路が明らかになっており、受容体に選択的に作動性を示す薬剤としてナルフラフィン塩酸塩が開発された。しかしこの薬剤は、当初鎮痛作用を目的とした薬剤であったが、副作用のため難治性掻痒症への薬剤となっている。痛みの伝達経路とかゆみの伝達の経路が類似していることが示され、ヒスタミン以外のサブスタンスPやサイトカイン(TNF- $\alpha$ )などのケミカルメディエーター、神経C線維の表皮内伸長、内因性オピオイド等が関与するかゆみ発現メカニズムが考えられている。

また、オピオイド受容体の作用発現特性は、サブタイプごとに異なり、受容体は $\mu$ 受容体と相反する薬理作用を示すとともに、 $\mu$ 受容体を介した作用を抑制する働きを有することが知られている。サブスタンスPは、痛覚の伝達物質で、血管に広く分布し、炎症にも関連し、軸索反射により放出されると紅斑(フレア)が出る。今回はこの物質を過剰に膀胱内に投与することで、膀胱刺激モデルマウスの作成し、今までにない新しい膀胱刺激モデルラットの作成である

## 2. 研究の目的

間質性膀胱炎患者の疼痛に対する治療法として、我々のオリジナルである漢方薬「ブシ」(トリカブト)の内服療法により長期改善の成績が得られた。最近の知見で、「ブシ」は神経障害疼痛の中枢抑制作用について基礎的に証明されてきた。また一方で「ブシ」はモルヒネの鎮痛作用にも大きく関与している。モルヒネの関与するオピオイド受容体の中で、モルヒネは大部分が $\mu$ 型に関与している。「ブシ」が関与するオピオイド受容体は

型が大部分であり、モルヒネとの違いがある。将来の鎮痛剤としては、 $\mu$ 型よりも、型に関係するものが有望視されているが、創薬に難渋している。新しい膀胱痛モデルを作成し、特にオピオイド受容体 型に対する「ブシ」の作用を基礎的、臨床的に解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

この物質を過剰に膀胱内に投与することで、膀胱刺激モデルラットを作成する。ヒスタミンやサブスタンスPの膀胱粘膜下投与により、膀胱が刺激されるかをラットの行動観察ならびに尿流動態検査にて確認する。確認した後「ブシ」を経口投与することで効果を判定することで、「ブシ」の刺激に対する効果を検討する。また様々な膀胱刺激ラットを作成し、「ブシ」の鎮痛効果について検討する。

(1) 帯状疱疹急性膀胱痛モデル(ラットの膀胱粘膜下に HSV-1 を感染させたモデル動物)

アロディニア、痛覚刺激 : 「ブシ」末内服投与によって抗アロディニア作用の確認。

(2) 膀胱内に5%ホルマリン溶液を注入した化学刺激膀胱痛モデル

化学刺激

(3) 酢酸刺激膀胱痛モデル(0.6%酢酸溶液を膀胱内に注入したモデル動物)

様々な膀胱刺激モデル動物を作成し、「ブシ」末内服投与によって、様々な刺激を抑制するか検証する。

この結果により、「ブシ」は 受容体にも作用することで、鎮痛作用として、脳幹部を通じて大脳より脊髄に至る下行性抑制系を刺激するかを立証し、 受容体に選択的に作動性を示す薬剤としてナルフラフィン塩酸塩との比較を行う。

現在我々は間質性膀胱炎の痛みに関しては、ほぼコントロールできているが、痛みのコントロールには、局所刺激、求心性経路の興奮、

下行抑制系等の総合的なコントロールが必要と思われる。「ブシ」の求心性経路については、徐々に知見が発表されてきているが、局所刺激に対しては、DMSOの膀胱内注入、ボツリヌス毒素の膀胱筋層内注入等、侵襲的な治療が主になっており、治療効果は短期間であり、繰り返しの治療が必要になっているのが現状である。また、治療抵抗性間質性膀胱炎については慢性疼痛症候群として、オピオイドが処方追加され、痛みに応じて増量されている。膀胱痛モデルに対して、「ブシ」の下行抑制系への効果を証明することは、治療的意義が高い。

漢方の治療効果を証明する事は非常に困難であるが、基礎的研究の結果と臨床的な結果を示すことで、漢方の有効性を証明したい。附子の鎮痛効果については、中枢において神経障害性疼痛を緩和することは、実証されつつある。漢方薬は生薬の組み合わせにより、様々な場所に少しずつ働きかける特徴を持つ。附子の鎮痛効果の更なる効果として、脳幹部を通じて大脳より脊髄に至る下行性抑制系を介するとされており、その経路の中で、セロトニン系、 $\alpha$ 2 アドレナリン系、オピオイド系受容体が関与しているとされている。今回新しい視点から、間質性膀胱炎に類似した膀胱刺激モデルラットを作成し、その抑制に附子の効果があるかを検証する。またこれは、かゆみに対しての「ブシ」の新しい効果も期待出来る可能性がある。

### 4. 研究成果

神経障害性疼痛における「ブシ」の鎮痛効果について調べるため、神経障害性疼痛モデルマウスを用いて検討した。その結果 「ブシ」は形成期に鎮痛効果を示さず、慢性期においてのみ有意な鎮痛効果を呈すること、形成期は活性化ミクログリアが、慢性期には活性化アストロサイトが疼痛を引き起こす

原因細胞となっていること、「ブシ」はアストロサイトの活性化を抑制することによって慢性期の疼痛を抑制している可能性があること。アストロサイトは、シナプスを取り囲むように存在し、シナプス伝達をダイナミックに制御する細胞であることが知られている。「ブシ」によって活性化アストロサイトを脱活性化するが示唆された。また臨床的には、2008年から間質性膀胱炎患者に対しての「ブシ」を含む漢方による治療を開始し、膀胱痛に対して劇的な効果を認めている。また漢方の他の利点として、経済的であり、非侵襲性であること、かつ内服管理で長期的効果を得ていることである。「ブシ」の鎮痛効果の更なる効果として、脳幹部を通じて大脳より脊髄に至る下行性抑制系を介するとされており、その経路の中で、セロトニン系、

2 アドレナリン系、オピオイド系受容体が関与しているとされている。今回 受容体に選択的に作動性を示す薬剤としてナルフラフィン塩酸塩が開発された。この薬剤は、当初鎮痛作用を目的とした薬剤であったが、副作用のため難治性掻痒症への薬剤となっている。痛みの伝達経路とかゆみの伝達の経路が類似していることが示され、また、オピオイド受容体の作用発現特性は、サブタイプごとに異なり、受容体は $\mu$ 受容体と相反する薬理作用を示すとともに、 $\mu$ 受容体を介した作用を抑制する働きを有することが知られている。サブスタンスPは痛覚の伝達物質で血管に広く分布し、炎症にも関連し、軸索反射により放出されると紅斑（フレア）が出る。今回はこの物質を過剰に膀胱内に投与することで、膀胱刺激モデルマウスの作成し、今までにない新しい膀胱刺激モデルラットの作成を行った。摺り寄せ的ではあるが、ナルフラフィン塩酸塩の実験系において「ブシ」の効果を検証した。

オピオイド受容体拮抗薬ノルビナルトルフィンを前処置で投与するグループと比

較して効果判定に利用した。これは オピオイド受容体拮抗薬ノルビナルトルフィン「ブシ」の抗侵害受容作用が減弱するという結果に基づいている。また 受容体に選択的に作動性を示す薬剤としてナルフラフィン塩酸塩を投与するグループとの比較を検討した。

ナルフラフィン塩酸塩の実験系において「ブシ」の効果を検証したが、検討する「ブシ」の容量については、様々な容量について検討したが、有意な結果は得られなかった。

「ブシ」の実験系とナルフラフィンの実験系との摺合せに苦慮した。

少なくとも「ブシ」とナルフラフィンを併用することで単独使用よりもさらにオピオイド受容体 型に作用することが予想され、今後の展開が期待される。

## 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)

〔学会発表〕(計 1 件)

土田孝之

附子を含んだ漢方の膀胱痛に対する作用機序の基礎的解明と臨床的検討

日本泌尿器科学会総会(招待講演)

2015年4月19日

石川県立音楽堂(石川県金沢市)

〔図書〕(計 1 件)

土田孝之

臨床情報センター

Science of Kampo Medicine 2015、3 ページ

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

土田 孝之(TSUCHIDA, Takayuki)

山梨大学・総合研究部・医学研究員

研究者番号: 30217327

(3)連携研究者

宮本 達也(MIYAMOTO, Tatsuya)

山梨大学・総合研究部・助教

研究者番号: 80456459

(2016年5月31日まで連携研究者)

小林 英樹(KOBAYASHI, Hideki)

山梨大学・総合研究部・講師

研究者番号: 50402053

(2016年2月28日まで連携研究者)

座光寺 秀典 (ZAKOUJI, Hidenori)  
山梨大学・総合研究部・准教授  
研究者番号：60345717  
(2017年9月30日まで連携研究者)

武田 正之 (TAKEDA, Masayuki)  
山梨大学・総合研究部・教授  
研究者番号：80197318