

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462812

研究課題名(和文) 神経伝達物質トランスポーター阻害効果に着目した新規神経障害性疼痛治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of the new drugs for the neuropathic pain which focus on a neurotransmitter transporter inhibition

研究代表者

十川 千春 (Sogawa, Chiharu)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・講師

研究者番号：10253022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：痛覚伝導路における神経伝達物質トランスポーターによる伝達物質の調節は疼痛制御にとって重要な役割を果たす。本研究では、疼痛制御に関わる神経伝達物質トランスポーターの中でもモアミントランスポーター(MAT)およびGABAトランスポーター(GAT)に焦点をあて、MATおよびGATに対する阻害効果を併せ持つ薬物の神経障害性疼痛への有効性を確立した。また疼痛発症後の病態変化に伴った神経伝達物質トランスポーターの発現機能変化の鎮痛効果に対する影響を調べ、難治性慢性疼痛に対する有効な鎮痛薬の開発と、治療薬選択のためのエビデンスを得た。

研究成果の概要(英文)：Neuropathic pain is defined with for a chronic or persistent pain to be generated by a pathophysiological alteration on the peripheral and/or central nervous system. Antidepressants are known as the inhibitors of monoamine neurotransmitter transporters (MAT) are therapeutically useful ligands for the treatment of neuropathic pain. However, they do not sometimes provide enough effects. In this study, we were aimed for the development of an effective therapeutic drug for neuropathic pain. We focused on the inhibition of MAT or GABA transporters (GAT). One of GAT inhibitors that display moderate selectivity for GAT, had an antiallodynic action on neuropathic pain model mice. The antiallodynic action of the GAT inhibitor is due to the inhibition of both GAT and MAT. We also observed how an expression of MAT change after the neuropathic pain onset influences an antiallodynic action. In this study, we confirmed that the change of MAT expression and antiallodynic effect included correlation.

研究分野：医歯薬学 歯科薬理学 神経伝達物質トランスポーターと疼痛制御

キーワード：疼痛治療薬 神経障害性疼痛 モアミントランスポーター GABAトランスポーター

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛は、神経傷害に伴い誘導され、侵害受容器への刺激がないにもかかわらず生じる難治性の慢性疼痛で、口腔領域においても、外傷、帯状疱疹などからしばらく後に口腔粘膜、舌、歯に発症し、歯科臨床上問題となることが多い。現在神経障害性疼痛の第一選択薬として、三環系抗うつ薬(TCA)、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬、Caチャンネル α_2 サブユニット結合薬、局所麻酔薬といった薬物が使用されている。薬剤の有効性の指標であるNNT(疼痛が50%軽減する患者1人得るために必要な投与患者数)が、最も有効とされるTCAでもその値は3.1となっており患者の苦痛を十分に軽減できているとは言い難い。さらにTCAは様々な受容体阻害作用による副作用が出現しやすいため、十分な鎮痛効果を得られる用量まで増量できないことが問題となる。TCAの鎮痛機序は、痛みの伝導路を制御する下行性抑制系神経(ノルアドレナリンやセロトニン神経)の神経終末に存在するノルアドレナリントランスポーター(NET)およびセロトントランスポーター(SERT)を阻害し、下行性抑制路を賦活化することによるとされているが、鎮痛作用は単一の作用機序ではないとされている。NETやSERTはモノアミントランスポーター(MAT)と呼ばれ、GABAトランスポーター(GAT)やグリシントランスポーター(GLYT)と同じく Na^+/Cl^- 依存性に神経伝達物質を細胞内へ再取り込みする神経伝達物質トランスポーターである。神経障害性疼痛の研究においても、従来のMAT阻害による下行性抑制路の賦活化のみならず、抑制性神経伝達を調節するGLYTやGAT特異的阻害薬の鎮痛効果が明らかにされ、脊髄後角の痛覚伝導路における神経伝達物質トランスポーターによる神経伝達物質調節は、疼痛制御にとって重要な機序の一つであり、神経伝達物質トランスポーターの制御が今後の神経障害性疼痛治療にとって重要であるといえる。これまでに我々は、11種のTCAについて4つのGATサブタイプ(GAT:GAT-1, 2, 3, BGT-1)に対する阻害効果を検討した結果、どのTCAも

GATサブタイプの中でBGT-1に対して最も強い阻害作用が見られることを見出した。さらに、最近、抗てんかん作用が報告されているBGT-1阻害薬の一つであるNNC 05-2090が神経障害性疼痛モデル動物に対して強い鎮痛効果を示すことを見出し、その鎮痛機序にBGT-1阻害作用とMAT阻害作用が相乗的に関わっている可能性を示唆する結果を得た。以上の知見から、MAT阻害作用による下行性抑制系の賦活化とGAT阻害作用による抑制系神経伝達調節の協調が神経障害性疼痛に対する鎮痛効果に重要な役割を果たすと考えた。また、神経障害性疼痛は単一の病態ではなく、その複雑さが薬物治療効果に大きく影響しており、神経障害性疼痛発症時のMATおよびGAT発現機能変化は薬物治療効果に大きな影響を及ぼす可能性がある。このような観点から、薬物による神経障害性疼痛治療の有効性をより高めるためには、神経障害性疼痛治療の複雑な病態それぞれに引き起こされている神経調節の異常についてさらに検討を進める必要があると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、疼痛制御に関わる神経伝達物質トランスポーターの中でもMATおよびGATに焦点をあて、すでに鎮痛効果を見出している両トランスポーターに対する阻害効果を併せ持つベータトランスポーター(BGT)阻害薬NNC05-2090(NNC)の神経障害性疼痛への有効性を確立すると同時に、MATおよびGAT阻害効果の協調に基づく有効な神経障害性疼痛治療薬の開発と、鎮痛効果に対する疼痛発症後の病態変化に伴った神経伝達物質トランスポーターの発現機能変化の影響を調べることによって、歯科臨床上問題となる口腔領域に発症する難治性慢性疼痛に対する有効な鎮痛薬の開発と、治療薬選択のためのエビデンスを得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) NNC の副作用の検討

NNC の鎮痛効果以外の副作用として、TCA の代表的な副作用である便秘作用についてマウス小腸輸送能試験(炭末を経口投与 20 分後に全小腸を摘出し、幽門部から炭末までの距離を測定し小腸輸送能として評価した。)を用いて検討した。

(2) NNC 05-2090 の各種疼痛モデル動物に対する鎮痛効果の検討

代表的な鎮痛薬の評価法である機械的刺激(Haffner 法:マウスの尾の先端部を持ち、尾をやや持ち上げ、圧刺激用動脈クレンメの中央で尾根部をはさんだ時、マウスが振り向き、刺激部位にかみつく反応を仮性疼痛反応とした。)および化学的刺激(酢酸法:腹部をくびらせるようにして床方向に押し付け、後肢を真後ろに伸展して下半身を背部に大きくそらせる Stretching 反応を仮性疼痛反応とした。)、急性炎症モデル(マウス後肢足蹠内に 10%ホルマリンを投与し、その直後より生じる投与部位への licking(なめ)行動の回数と持続時間を 5 分間隔で、30 分間測定した。注入後)を用いて NNC の鎮痛効果を検証した。さらに、神経障害性疼痛モデルとして、坐骨神経部分損傷(PSL)モデルの他に、糖尿病性ニューロパチーモデル(ストレプトゾトシン 70mg/kg をマウス腹腔内に単回投与後、1 週間後の血糖値 400mg/dl 以上を高血糖とし、アロディニア反応を確認した。)、完全フロインドアジュバンド誘発炎症モデル(完全フロインドアジュバンド 30 μ l をマウス右側後肢足蹠皮下に投与後 2 週間後にアロディニア反応を確認した。)における各種神経障害性疼痛に対する鎮痛効果を検証した。アロディニア反応評価は、決まった力を与えることのできるいくつかのフィラメントを(von Frey)を右側後肢足底にあて、逃避反応を示す閾値を計測することによって評価した。

4 . 研究成果

NNC における TCA に見られる便秘作用についての検討の結果、代表的な TCA であるアミトリ

プチリン投与後には小腸輸送能が有意な減少(便秘作用)がみられたが、NNC では、神経障害性疼痛に効果の見られた用量の約 20 倍の用量まで小腸輸送能の減少は見られなかった。したがって、NNC には TCA にみられるような便秘の副作用は発現しないと考えられる。

実験結果から機械的侵害刺激に対して NNC は機械的侵害刺激に対する鎮痛作用は示さないことが明らかとなった。一方、酢酸による疼痛反応に対して鎮痛効果が認められたことにより、NNC は炎症性疼痛に対する鎮痛作用を有することが明らかとなった。このことは、ホルマリン投与による急性炎症モデルを用いた実験において、炎症性疼痛であると考えられる第 2 相の疼痛を抑制していたことから、さらに裏付けられた。今後、NNC がアスピリンのような酸性非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)と類似した抗炎症効果を持つのかについても検証を進めていく必要があるが、NNC に NSAIDs と同様の炎症性疼痛に対する鎮痛効果がみられた本研究の結果は大変興味深い。

すでに神経障害性疼痛発症モデルの一つである坐骨神経部分結紮(PSL)モデルについて NNC の鎮痛効果を明らかにしている。本研究では、糖尿病性ニューロパチーモデルおよび、完全フロインドアジュバンド(CFA)投与モデルにおける鎮痛効果を検討したところ、糖尿病性ニューロパチーモデルに対しても PSL と同等の濃度で鎮痛効果を得ることが出来た。一方、CFA 投与モデルでは、十分な鎮痛効果が見られなかった。PSL モデル、糖尿病性ニューロパチーモデル、CFA 投与モデルにおける疼痛発症後脳幹内 MATmRNA 発現変化を解析した先の我々の研究成果では、NET および SERT 発現は、PSL モデルおよび糖尿病性ニューロパチーモデルでは対照群と比較して有意な差はなかったが、CFA 誘発炎症モデルでは、NET および SERT 発現量いずれも有意な減少がみられた。これらの結果から、CFA 投与により引き起こされる慢性炎症時には中枢神経系の可塑的变化が MAT 発現低下を

引き起こし、すでに下行性抑制路におけるモノアミン神経系が賦活化している可能性が考えられた。このような病態時には、MAT 阻害作用による下行性抑制路の賦活化により鎮痛効果が期待される薬物は無効となる可能性が高いのではないかと。NNC は当初 GAT サブタイプの中でも BGT-1 に対して比較的特異性の高い阻害薬として報告され、抗痙攣薬としての有用性が着目された。しかし、先の報告で NNC は GAT 阻害と同等かそれ以上に、MAT に対する阻害作用を持つことが見出されたことから、鎮痛薬としての応用が検討されてきた。本研究の成果から、NNC は TCA と同様中枢における MAT 阻害によって神経障害性疼痛に対する鎮痛効果を引き起こし、さらに TCA に見られる便秘作用といった副作用のみ見られない有用な鎮痛薬となる可能性がある。一方で、すでに中枢系における MAT が病態に伴い変化している場合には無効となる可能性があり、このような病態において有用な鎮痛薬の開発が今後の課題である。

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 6 件)

1. Kitayama T, Morita K, Motoyama N, Dohi T: Down-regulation of zinc transporter-1 in astrocytes induces neuropathic pain via the brain-derived neurotrophic factor - K^+ -Cl⁻ co-transporter-2 signaling pathway in the mouse spinal cord., *Neurochem Int.* 2016 Dec; 101:120-131. doi: 10.1016/j.neuint., 2016.11.001. (査読有)
2. Sogawa C, Ikegame M, Miyazaki I, Ara T, Imamura Y, Okusha Y, Ohyama K, Asanuma M, Sogawa N, Yamamoto T and Kozaki K: Changes in metallothionein isoform expression in the bones of ovariectomized rats, *J Hard Tissue Biol.*,25(1), 21-26, 2016. (査読有)
3. 森田克也、本山直世、北山友也、白石成二、土肥敏博: がん性疼痛の新規治療薬の開発-マウス大腿骨がんモデルにおける血小板活性化因子(PAF)阻害薬の鎮痛作用., *日薬理誌*, 146, 87-92, 2015. doi: 10.1254/fpj.146.87.(査読有)
4. Minakuchi H, Sogawa C, Miki H, Hara ES, Maekawa K, Sogawa N, Kitayama S, Matsuka Y, Clark GT, Kuboki T: Sleep bruxism frequency and platelet serotonin transporter activities in young adult subjects., *Sleep Breath.* 2016 Mar; 20(1):271-6. doi: 10.1007/s11325-015-1281-0. (査読有)
5. Motoyama N, Morita K, Shiraishi S, Kitayama T, Kanematsu T, Uezono Y, Dohi T.: Relief of cancer pain by glycine transporter inhibitors. *Anesth Analg.* 2014 Oct;119(4):988-995. doi: 10.1213/ANE.0000000000000388. (査読有)
6. Minakuchi H, Sogawa C, Hara ES, Miki H, Maekawa K, Sogawa N, Kitayama S, Matsuka Y, Clark GT, Kuboki T: Comparison of platelet serotonin transporter activity in subjects with severe sleep bruxism and control. *Journal of Prosthodont Research*, 2014, 58, 217-222. doi: 10.1016/j.jpor.2014.06.003. (査読有)

[学会発表](計 5 件)

1. Chiharu Sogawa, Yuka Okusha, Kazumi Ohyama, Takanori Eguchi and Ken-ichi Kozaki: Establishment of an imaging model for invasion and metastasis using a high-metastatic murine adenocarcinoma cell line. 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 8 日, 横浜.
2. 十川紀夫, 十川千春, 大山和美, 今村泰弘, 荒 敏昭, 小崎健一: ノルアドレナリントランスポーターの機能および発現抑制-ヒスタミン H3 受容体の関与- 第 80 回松本歯科大学学会, 2015 年 7 月 11 日, 塩尻.
3. 十川千春, 大山和美, 十川紀夫, 小崎健一: ニコチンによるノルアドレナリントランスポーター発現調節機構の解明. 第 57 回歯科基礎医学学会学術大会, 2015 年 9 月 13 日, 新潟.

4. Norio Sogawa, Chiharu Sogawa, Kazumi Ohyama, Xue-fang Wen, Ken-ichi Kozaki: Expression of rat H3 receptor isoforms. 第88回日本薬理学会年会, 2015年3月19日, 名古屋.
5. 十川千春, 秦泉寺紋子, 大山和美, 森田克也, 十川紀夫, 小崎健一: NNC05-2090の抗アロディニア効果とその他の薬理作用について. 第56回歯科基礎医学会学術大会, 2014年9月26日, 福岡.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

名称: 疼痛治療薬
発明者: 十川千春, 秦泉寺紋子, 十川紀夫
権利者: 国立大学法人岡山大学
種類: PCT
番号: JP2014/063850
出願年月日: 2014年5月26日
国内外の別: 国外

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

十川 千春 (SOGAWA CHIHARU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・講師
研究者番号: 10253022

(2)研究分担者

十川 紀夫 (SOGAWA NORIO)
松本歯科大学・歯学部・教授
研究者番号: 30236153

森田 克也 (MORITA KATSUYA)
広島文化学園大学・看護学部・教授
研究者番号: 10116684

小崎 健一 (KOZAKI KEN-ICHI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 50270715
(H26 H27)

(3)連携研究者

()

研究者番号:

(4)研究協力者

()