

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11112

研究課題名（和文）神経障害後の脳脊髄内伝達物質の鎮痛作用機序と下行性抑制系の経時的変化

研究課題名（英文）Changes in the analgesic action of cerebrospinal transmitters and the descending inhibitory system after neuropathy

研究代表者

星野 一（Hoshino, Hajime）

福島県立医科大学・公私立大学の部局等・助教

研究者番号：60420775

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）：神経が障害を受けた時の痛みは治療しがたく、作用機序も明確ではない。本研究では神経を傷害したラットに治療薬である抗うつ薬を投与したところ、痛覚過敏の軽減が確認できた。次に脊髄内のノルアドレナリン神経線維を破壊した後にも同じ実験を行い、効果の減弱が確認された。また、薬剤投与後に脊髄後角と呼ばれる部位での変化を観察したところ、ノルアドレナリンの増加が確認でき、脳の青斑核と呼ばれる部位の変化を観察したところ、細胞の興奮が認められた。以上の結果から、鎮痛にはノルアドレナリンという物質が重要であり、抗うつ薬は脊髄のみならず、脳にも作用し鎮痛を起こしていることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経が傷害を受けたときの痛みは治療薬による鎮痛が難しいのが現状である。本研究の結果から、脊髄で鎮痛効果を発揮するとされている薬剤が脳の部分にも作用することでも鎮痛効果が得られることが分かった。このことは、今後、神経障害による痛みの作用機序の解明とその治療薬開発の手助けになる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Pain when nerves are damaged is difficult to treat, and the mechanism of action is unclear. In this study, administration of an antidepressant, a therapeutic drug, to nerve-injured rats was confirmed to reduce hyperalgesia. Next, the same experiment was performed after destroying the noradrenaline nerve fibers in the spinal cord, and it was confirmed that the effect was diminished. Moreover, when changes in the area called the dorsal horn of the spinal cord were observed after drug administration, an increase in noradrenaline was confirmed, and when changes in the area called the locus coeruleus of the brain were observed, cell excitement was observed. From the above results, a substance called noradrenaline is important for analgesia, and it is considered that the antidepressant acts not only on the spinal cord but also on the brain to cause analgesia.

研究分野：麻酔神経学

キーワード：下行性抑制系

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

1．研究開始当初の背景

神経障害性疼痛についてはいまだ不明な点が多く、治療薬の一つであるセロトニン-ノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）をはじめとした抗うつ薬の作用機序、特に脳内での作用に関しても報告が少ない。抗うつ薬で言われている脊髄後角以外での作用機序解明として、鎮痛に重要な役割を果たしていると考えられるノルアドレナリン神経核（青斑核）への影響を検討することとした。

2．研究の目的

脳幹から脊髄後角に至るノルアドレナリン（NA）/セロトニン（5-HT）作動性下行性抑制系は、神経損傷後に生じる神経障害性疼痛の発症機序に重要であること、またその治療として脊髄におけるNAおよび5-HTを増加させる抗うつ薬が有効であることがこれまでの研究からわかっている。治療の第一選択薬であるSNRIは脊髄後角でのNA及び5-HTを増加させ鎮痛を起こしているが、脊髄へ投射する青斑核および延髄吻側腹内側核の変化は不明である。本研究は、抗うつ薬がその起始核へ及ぼす影響と鎮痛効果の関係を検討する。またNA/5-HTを増加させるが作用機序の違う他の抗うつ薬についても脳脊髄における作用を検討する。

3．研究の方法

実験1）脊髄第5腰髄神経を結紮し、神経障害性疼痛モデルラット（spinal nerve ligation model: SNLモデル）を作成する。次に、抗うつ薬の一つでSNRIであるデュロキセチンまたはノルアドレナリン作動性・特異的セロトニン作動性抗うつ薬（NaSSA）であるミルタザピンを腹腔内投与したのち、患側後肢に加圧式鎮痛効果測定装置で一定の速度で連続的に増加する圧を与え、後肢の逃避閾値を測定する。

実験2）モデルラット作製後14日目に全身麻酔下に第一頸椎-頭蓋骨間膜部に切開を加え、32Gカテーテルを7cmほど尾側に向けて脊髄腔内に挿入し、ノルアドレナリン神経毒としてDSP-4を300μg投与する。その10日後に腹腔内にミルタザピンまたはデュロキセチンを投与し、逃避閾値を測定する。

実験3）全身麻酔下に脊髄腰膨大部の椎弓切除を行い、脊髄を露出後に患側脊髄後角へ外径0.22mmのマイクロダイアリシスプローブを5mm程度挿入する。その後、カテーテルを通して抗うつ薬の腹腔内投与を行い、マイクロダイアリシス法を用いた高速液体クロマトグラフィーで脊髄後角でのNAの経時的変化を測定する。

実験4）抗うつ薬の腹腔内投与30分後、全身麻酔下に生理食塩水及び4%パラホルムアルデヒドで還流固定を行ったのち脳を取りし、青斑核部位を含む脳組織スライスを作成する。その後、間接法による染色として、スライドガラス上の組織にcfos（抗ウサギ抗体 500倍希釈）、D-H（抗マウス抗体 500倍希釈）の1次抗体による処理を施したのち、2次抗体としてそれぞれCy3（抗ウサギ抗体 600倍希釈）、Cy2（抗マウス抗体 200倍希釈）抗体で処理をおこなう。エタノール及びキシレンによる処理をおこなったのち封入し、蛍光顕微鏡で観察する。青斑核におけるcfos陽性細胞およびD-H陽性細胞をカウントし、cfos陽性率を比較する。

4．研究成果

成果1）抗うつ薬腹腔内投与後の加圧による逃避閾値測定では、両薬剤とも容量依存性に痛覚過敏が抑制された。

成果2）ノルアドレナリン神経破壊後に抗うつ薬を投与した行動実験では、両薬剤ともに痛覚過敏抑制効果が減弱された。

成果3）抗うつ薬投与後の脊髄後角でのノルアドレナリン測定では、両薬剤ともに有意な増加が認められた。

成果4）抗うつ薬投与後の青斑核の免疫染色では、両薬剤ともcfos陽性率の有意な上昇が認められた。

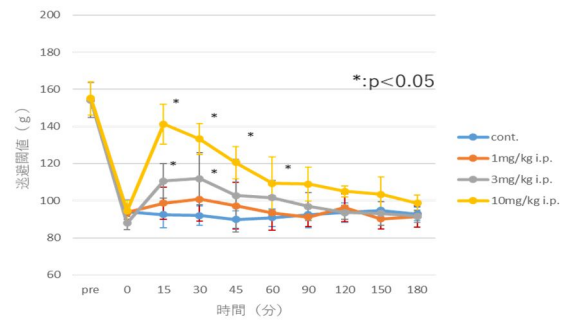
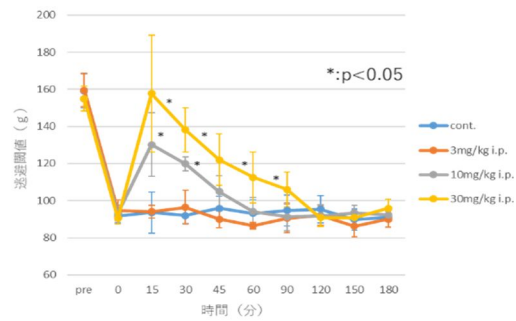
考察として、ミルタザピンは神経シナプス間においてNA神経シナプス前2アドレナリン自己受容体を遮断およびNA細胞体の2アドレナリン自己受容体を遮断することでNA神経を活性化し、NA遊離を促進する。今回のマイクロダイアリシス法を用いた実験から、脊髄後角でもNA遊離の促進が確認され、痛覚過敏抑制に寄与していることが示唆された。

デュロキセチンは、作用機序から神経シナプス間におけるNA再取り込みを阻害し鎮痛効果を発揮すると思われる。今回の実験では作用機序は不明だが、NA細胞体である青斑核も興奮することが確認された。青斑核の興奮が脊髄後角でのNA遊離増加に関与し、再取り込み阻害以外の機序として鎮痛効果を起こしている可能性があると思われる。

また、デュロキセチン投与による脊髄後角での経時的なNA増加は、再取り込み阻害作用だけでなく、細胞体自体の興奮が続くことによるシナプス間の持続的なNA遊離が生じている可能性があると思われる。

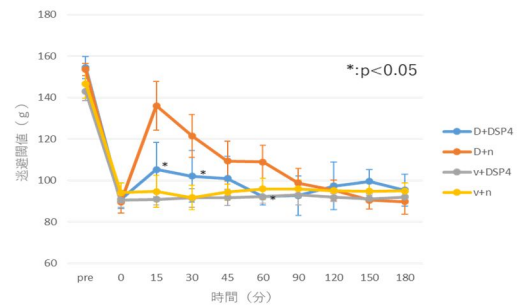
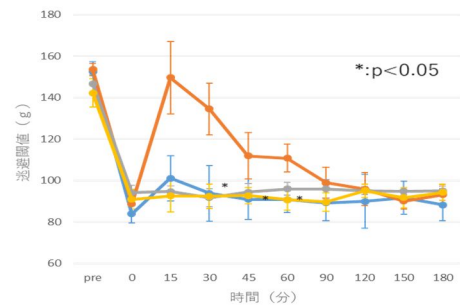
実験 1) 行動実験

ミルタザピン（左）及びデュロキセチン（右）で容量依存性に痛覚過敏抑制が認められた



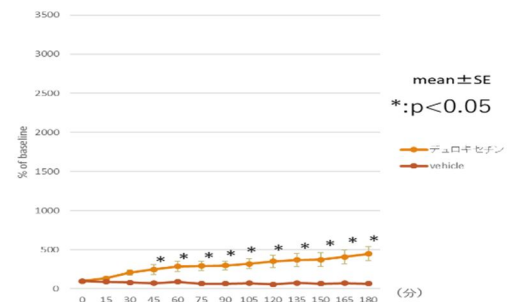
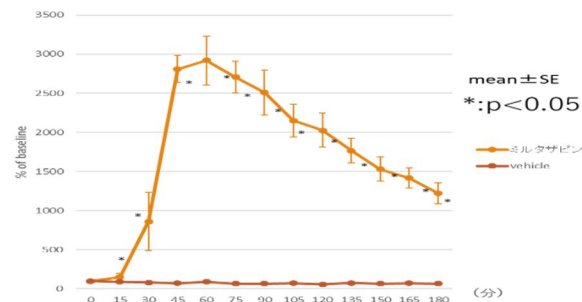
実験 2) ノルアドレナリン神経破壊後の行動実験

ミルタザピン（左）およびデュロキセチン（右）で痛覚過敏抑制効果の減弱が認められた



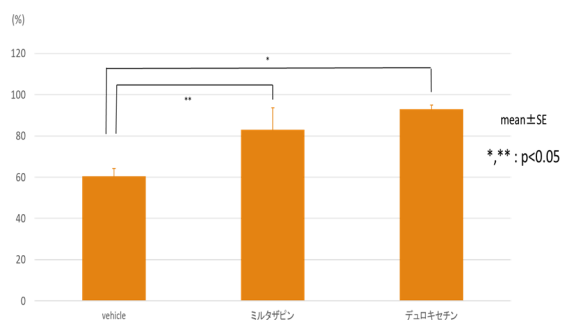
実験 3) 脊髄後角マイクロダイアリシス

NA の有意な増加が認められた



実験 4) 青斑核における免疫染色 (cfos 陽性率)

両薬剤とも有意上昇が認められた



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 星野一、小幡英章
2. 発表標題 ラット神経障害性疼痛モデルを用いたNaSSAおよびSNRIの青斑核における鎮痛効果の検討
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会 熊本
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 星野一、廣木忠直、齋藤繁、村川雅洋、小幡英章
2. 発表標題 ラット神経障害性疼痛モデルを用いた抗うつ薬NaSSAおよびSNRIの鎮痛効果の検討
3. 学会等名 日本麻酔科学会 横浜
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 星野一、小幡英章
2. 発表標題 ラット神経障害性疼痛モデルにおける抗うつ薬の痛覚過敏抑制効果
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会 岐阜
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 星野一、廣木忠直、齋藤繁、村川雅洋、小幡英章
2. 発表標題 ラット神経障害性疼痛モデルを用いた抗うつ薬NaSSAおよびSNRIの鎮痛効果の検討
3. 学会等名 日本麻酔科学会 横浜
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----