

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22591739

研究課題名（和文） ラット疼痛モデルにおける新規化合物 DHLHZN の有用性の検討

研究課題名（英文） Evaluation of the analgesic effect of new compounds DHLHZN on adjuvant-induced pain in the rat

研究代表者

竹島 直純 (TAKESHIMA NAOZUMI)

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：40305058

研究成果の概要（和文）：ラットでの亜急性疼痛モデルを使用し DHLHZN を連日皮下に投与した結果、副作用が少ない事が判明した。プランターテストで逃避時間が延長した事、組織標本で炎症細胞の浸潤が抑制された事、組織中 MPO 濃度が低下した事から、抗炎症作用により鎮痛効果を有する可能性が示唆された。次に、DHLHZN が用量依存性に鎮痛効果を有するかどうか、後投与でも鎮痛効果を有するかどうかを検討したが、残念ながら証明できなかった。

研究成果の概要（英文）：It was found that fewer side effects where use adjuvant-induced pain model in the rat, was administered subcutaneously daily to DHLHZN. Because that withdrawal latency by plantar test increased, infiltration of inflammatory cells was inhibited, the tissue MPO(Myeloperoxidase) concentration decreased, likely to have analgesic effect of DHLHZN by anti-inflammatory action was suggested. Next, we examined DHLHZN whether having an analgesic effect in dose-dependency, whether having an analgesic effect in after the administration subcutaneously, but was not proven.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

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：抗酸化物質・亜急性疼痛・鎮痛効果・ $\alpha$ リポ酸・フリーラジカル

## 1. 研究開始当初の背景

アメリカ連邦会議は 2001 年 1 月 1 日から

の 10 年間に疼痛管理と疼痛研究の 10 年間に決定し、最近ではアメリカを始め、世界的に

も疼痛分野での研究が進んでいる。非ステロイド性消炎鎮痛薬は、長期連用すると消化性潰瘍や腎障害等の副作用を生じる。麻薬性鎮痛薬は、鎮痛効果は高いが、嘔気・便秘・眠気等の副作用がある。効果、副作用の面からもその中間に存在するような新しい鎮痛薬の出現が望まれている。

フリーラジカルは、抑制されない状態にあると体内に蓄積し、既に損傷した組織をさらに障害する。最近、抗酸化物質がフリーラジカルの除去を促進させることにより、疼痛を抑制する可能性が指摘され始めている。

$\alpha$ リポ酸はビタミン C やビタミン E の約 400 倍の強力な抗酸化力を持ち、体内のフリーラジカルを中和する働きを有している。 $\alpha$ リポ酸誘導体の新規化合物であるヒスチジンジチオオクタナミド Na/亜鉛(DHLHZN)が鎮痛効果を有する可能性があるのではないかと考え、本研究を計画した。

ヒスチジンジチオオクタナミド Na/亜鉛(DHLHZN)は、 $\alpha$ リポ酸の安定化と $\alpha$ リポ酸の効果をより強めるために、 $\alpha$ リポ酸にヒスチジンを付け、更に亜鉛で還元させて活性化させキレート化したものである。

## 2. 研究の目的

$\alpha$ リポ酸は体内にも存在する脂肪酸で化粧品への配合が認可されているが、ヒスチジンジチオオクタナミド Na/亜鉛(DHLHZN)は化粧品へはまだ配合されていない。従って、まずラットに投与し、安全性を確認し、その後鎮痛効果を有するかどうか検討することを目的とする。

次に、鎮痛効果に関しては、ラットの亜急性疼痛モデルを使用し、鎮痛効果の有無、至適投与量の決定、鎮痛効果の用量依存性についての評価、後投与での有効性を確認し、評価検討する事を目的とする。

## 3. 研究の方法

S D系雄性ラットを用いて、セボフルレンを用いた全身麻酔下に FCA(Freund's complete adjuvant:フロイント完全アジュバント)を足底に投与し亜急性疼痛モデルを作成する。

次に、ラットを無作為に生食投与群、DHLHZN 投与群に群わけし、疼痛改善効果について検討する。投与方法は、セボフルレン吸入麻酔下に、DHLHZN を 1 日 2 回皮下に同時投

与する。また、次に FCA 投与後の DHLHZN 投与での効果を検討する。検討項目は、プランターテストによる痛みの評価、足底組織標本、炎症の指標として組織中

MPO(Myeloperoxidase)濃度を検討する事により、DHLHZN の有効性に関するメカニズムを検討する。プランターテストとは、非接触型熱刺激でラットの疼痛を誘発し、足を上げて逃避するまでの時間を測定する事で疼痛の程度を評価する試験の事である。更に、本薬剤の安全性を確認するために、DHLHZN 投与後の各種臓器における障害の有無を検討する。

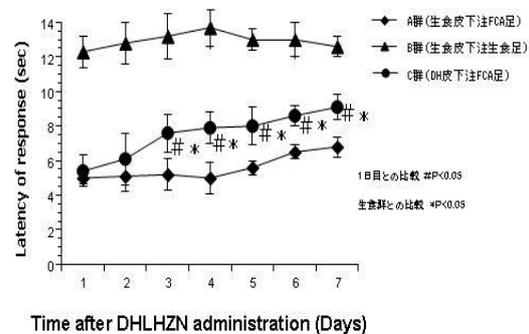
## 4. 研究成果

S D系雄性ラット(体重 250-300g)を用いて、FCA を足底に 0.15ml 投与し亜急性疼痛モデルを作成する事に成功した。

次に、ラットを無作為に生食投与群、DHLHZN 投与群に分け、セボフルレン吸入麻酔下に前述の薬剤を 1 日 2 回 7 日間連日皮下に投与し、DHLHZN は 10mg/Kg 投与では腎障害をはじめとした臓器障害を生じることもなく副作用がなく、安全に使用できる薬剤である事を確認した。

次に DHLHZN を FCA と同時投与し、その有効性を生食投与群、DHLHZN 投与群に分け、検討した。連日プランターテストで痛みを評価を行い、DHLHZN が鎮痛効果を有するかどうかを検討したところ、DHLHZN (10mg/Kg) 投与群で、投与 3 日目以降で有意に逃避時間が延長した。(Figure 1 に結果を示す。▲が生食のみ投与したコントロール群を、■が FCA 投与群を、●が DHLHZN+FCA 投与群の値を示す。)

Figure 1

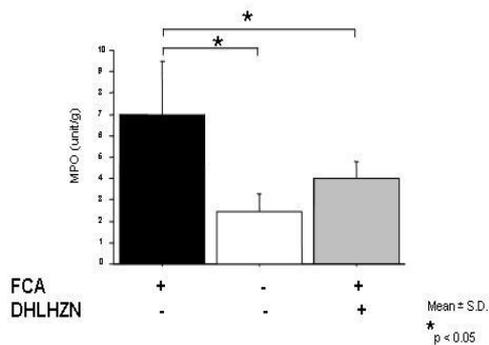


FCA 投与 7 日後の時点において採取した足底組織標本を HE 染色にて観察したところ、生食投与群に比べて、DHLHZN 投与群で炎症細胞の浸潤が抑制されていた。

また、組織中の好中球細胞の浸潤度合いを測定する指標として、組織中 MPO 濃度を測定したところ、FCA 投与群に比べて DHLHZN 投与群で MPO 濃度が低下していた。以上のことから、DHLHZN は、抗炎症作用により鎮痛効果を有する可能性が示唆された。

(Figure 2 に足底中の MPO 濃度を測定した結果を示す。左から黒のカラムが FCA 投与群を、中央の白カラムが生食のみ投与したコントロール群を、右の灰色のカラムが DHLHZN +FCA 投与群の値を示す。)

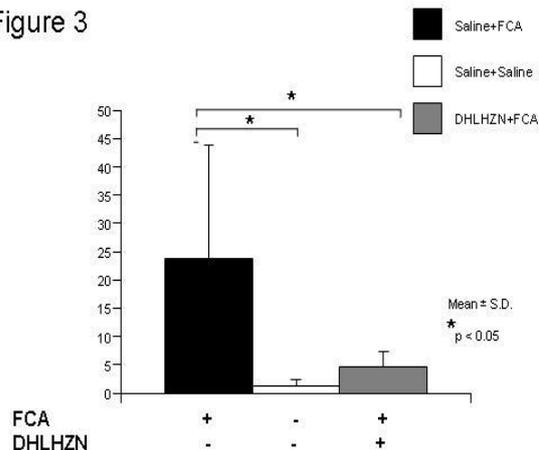
Figure 2



更に、炎症細胞の浸潤度合いの違いを明らかにするため、各群における炎症細胞数について計測を行った。この結果においても MPO と同様に FCA 投与により上昇した炎症細胞数を DHLHZN 投与により有意に抑制することが出来た。

(Figure 3 に足底中に浸潤した炎症細胞数を測定した結果を示す。左から黒のカラムが FCA 投与群を、中央の白カラムが生食のみ投与したコントロール群を、右の灰色のカラムが DHLHZN+FCA 投与群の値を示す。)

Figure 3



以上の結果より、今回ターゲットとした新規  $\alpha$  リポ酸誘導体である DHLHZN には、抗酸化作用を介した炎症細胞浸潤抑制効果・抗炎症効果を有し、結果として鎮痛効果につながる可能性が示唆されたと考えられる。

そこで我々は、より臨床に即した状況での有効性を検討するため、DHLHZN の最適投与量を模索するために用量依存性並びに後投与での有効性について検討を行ったが、用量依存性について明確な回答を本研究期間中に得ることはできず、また、FCA 投与 1 日後に生食投与群、DHLHZN 投与群に分けて皮下投与し、鎮痛効果を有するかどうかを検討したが、後投与での DHLHZN の鎮痛効果を証明することはできなかった。

以上のことから、今回の研究において、新規合成  $\alpha$  リポ酸誘導体 DHLHZN には疼痛抑制効果があり、かつ目立った有害事象がないことから、新規の鎮痛剤として開発できる可能性が示唆されたが、後投与での有効性等をもたせるために、投与方法等の更なる工夫が必要であることが示唆された。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

- ① 竹島直純、ラット疼痛モデルにおける新規抗酸化化合物 DHLHZN の鎮痛効果の検討、日本ペインクリニック学会第 44 回大会、2010 年 7 月 3 日、国立京都国際会館 (京都)

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

竹島 直純 (TAKESHIMA NAOZUMI)

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：40305058

### (2) 研究分担者

高谷 純司 (TAKATANI JUNIJI)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：50537107

奥田 健太郎 (OKUDA KENTARO)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：60284808

### (3) 連携研究者

該当なし