

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 6月1日現在

機関番号：16101
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2010年度～2012年度
 課題番号：22592289
 研究課題名（和文） 新規歯科用局所麻酔薬の開発と無針注射器（シリジェット）への応用について
 研究課題名（英文） Development of a new dental local anesthetic and apply for the needless syringe (SYRIJET)
 研究代表者
 中川 弘（NAKAGAWA HIROSHI）
 徳島大学・病院・助教
 研究者番号：70192218

研究成果の概要（和文）：動物行動学および免疫組織学的方法により、QX-314 を痛覚感知ニューロンに送り込むためには、TRPV1 を利用した方がよいことがわかった。また、その麻酔効果は侵害熱刺激に対してのみ有効であった。また、カプシエイト（辛くない唐辛子の成分）でも QX-314 を痛覚感知ニューロンに送り込むことができることがわかった。このことは、カプサイシンに代わる薬剤として、カプシエイトが有効である可能性が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The capsaicin/QX-314 group induced longer withdrawal-response latency at 60 to 300 minutes after injection than the control. The fluorescence in small- and medium-sized neurons was conspicuous in only the dorsal root ganglia injected with capsaicin/QX-314-FAM. These results indicate that TRPA1 and TRPM8 are ineffective in the transport of QX-314 compared with TRPV1. The capsiate (non-pungent analogue of capsaicin) show the same effects of capsaicin. For this reason, the capsiate may be seen as an alternative to the capsaicin.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児歯科学

キーワード：歯学、脳・神経、局所麻酔薬、イオンチャネル、

1. 研究開始当初の背景

通常の局所麻酔薬は容易に細胞膜を通過し、痛覚以外にも作用し不快な痺れや麻痺が起る。近年、Binstokらは細胞膜を通過できない局所麻酔薬 QX-314 とカプサイシン（CAP：TRPV1 アゴニスト）を用いて痛覚のみを選択的に抑制した。しかし、その方法には CAP 自身が痛みを引き起こすという問題が存在する。本研究の目的は CAP に代わる薬剤を見つけることである。

2. 研究の目的

(1) TRPA1 や TRPM8 を用いても TRPV1 と同様の QX-314 による麻酔作用が現われるかどうかを検討した。
 (2) TRPV1 アゴニストであるカプシエイトやアナンドアミドをもちいてもカプサイシンと同様の QX-314 による麻酔作用が現われるかどうかを検討した。
 (3) カプザゼピン（TRPV1 の阻害剤）により、カプサイシンと QX-314 の併用投与による麻酔作用を抑制できるかどうかを検討した。

3. 研究の方法

(1) TRPA1、TRPM8、TRPV1の比較

①動物行動学的方法

投与薬剤にTRPV1、TRPA1、TRPM8のアゴニストであるCAP、アリルイソチオシアネート、メンソール (MEN) を用いた。ラットを4群に分け後ろ足の足底部に各チャンネルのアゴニストとQX-314の混合液、アゴニスト単独、QX-314液単独および溶媒のみを投与した。侵害熱刺激は赤外線照射、機械的刺激はvon Freyフィラメントを用いて測定した。

②電気生理学的方法

ラットの後根神経節の細胞を用いパッチクランプ法でナトリウムチャンネルの電流を記録した。TRPV1陽性細胞およびTRPA1陽性細胞に混合液を15分間投与し、投与前後のナトリウムチャンネルの電流を比較した。

③免疫組織学的方法

ラットの足底部に、各チャンネルのアゴニストと QX-314 (蛍光色素標識) を同時に投与する。投与1ヶ月後、ラットの後根神経節 (L4、L5、L6) を摘出する。摘出した神経節の凍結切片を作成し、蛍光顕微鏡で観察する。切片の神経細胞に蛍光色素が取り込まれているかを検証する。

(2) カプシエイトとアナンドアミドの効果

ラットを4群に分け後ろ足の足底部にカプシエイトと QX-314 の混合液、カプシエイト単独、QX-314 液単独および溶媒のみを投与した。侵害熱刺激は赤外線照射を用いて測定した。アナンドアミドについても同様の実験を行った。

(3) カプザゼピン (TRPV1 の阻害剤) による麻酔作用の抑制効果

ラットの後ろ足の足底部に CAP と QX-314 の混合液を投与する30分前に、カプザゼピンを投与した。侵害熱刺激は赤外線照射を用いて測定した。

4. 研究成果

(1) TRPA1、TRPM8、TRPV1の比較

①動物行動学的方法

侵害熱刺激の TRPV1 の実験群では、QX-314 との混合液群に麻酔効果が見られた。また、混合液群と CAP 単独群の間にも有意差が認められた。TRPM8 の実験群では、混合液群と MEN 単独群に麻酔効果が見られた。一方、TRPA1 の実験群では麻酔効果が見られなかった (図1)。機械的刺激の実験群では全てに麻酔効果は見られなかった (図2)。

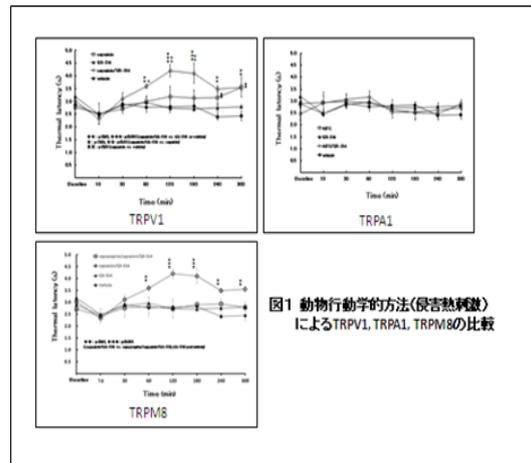


図1 動物行動学的方法(侵害熱刺激)によるTRPV1、TRPA1、TRPM8の比較

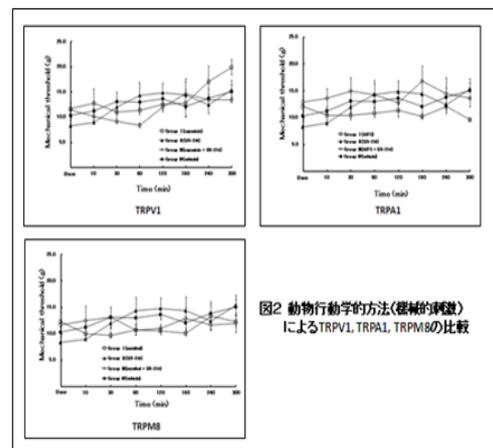


図2 動物行動学的方法(機械的刺激)によるTRPV1、TRPA1、TRPM8の比較

②電気生理学的方法では、TRPV1 陽性細胞のみ電流が抑制された (図3)。

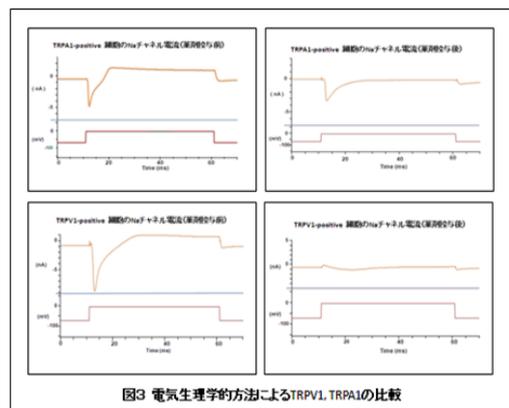


図3 電気生理学的方法によるTRPV1、TRPA1の比較

③免疫組織学的方法では、CAP と QX-314 (蛍光色素標識) を同時に投与した場合のみに、傾向色素が神経細胞 (小型~中型) に取り込まれていた (図4、表1)。

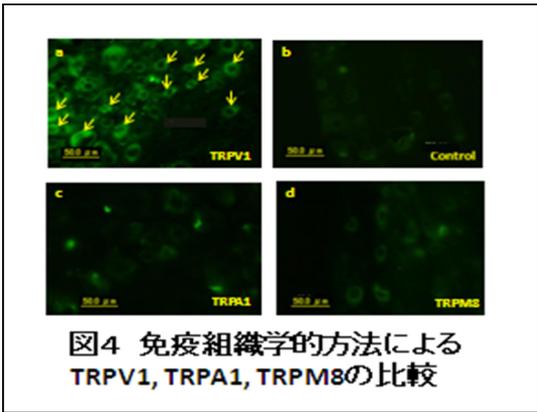


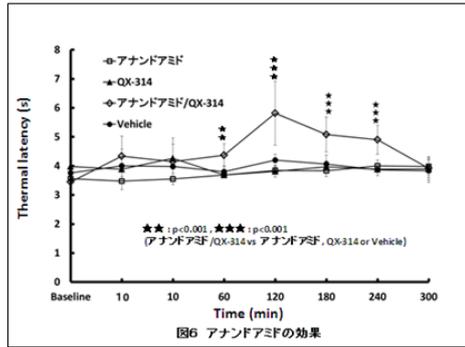
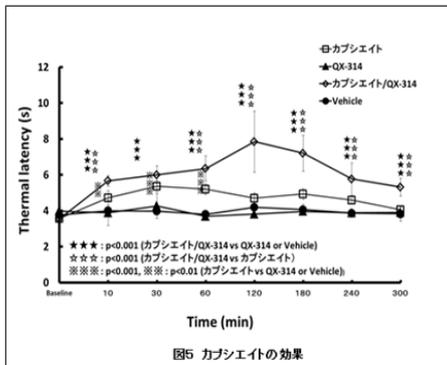
表1 蛍光色素を取り込んだ神経細胞の大きさの分布

size	dia. (μm)	number	%
small	16-20	7	40.7
	21-25	6	
	26-30	11	
medium	31-35	10	54.2
	36-40	6	
	41-45	8	
	46-50	8	
large	51-55	1	5.1
	56-60	2	

以上のことから、QX-314 を痛覚感知ニューロンに送り込むためには、TRPV1 を利用した方がよいことがわかった。また、その麻酔効果は侵害熱刺激に対してのみ有効であった。

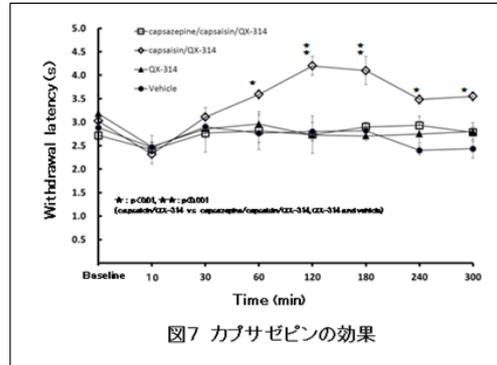
(2) カプシエイトとアナンドアミドの効果
カプシエイトとQX-314との混合液群に麻酔効果が顕著に見られた(図5)。また、アナンドアミドとQX-314との混合液にも効果が見られた(図6)。

このことから、CAPに代わる薬剤として、カプシエイトが有効である可能性が明らかとなった。



(3) カプサゼピン (TRPV1 の阻害剤) による麻酔作用の抑制効果について

TRPV1 の阻害剤であるカプサゼピンを事前に投与すると、カプサイシンと QX-314 の併用投与による麻酔作用を阻害することができた(図7)。



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 3件)

① Hiroshi Nakagawa, Akio Hiura, Comparison of the transport of QX-314 through TRPA1, TRPM8 and TRPV1 channels, Journal of Pain Reserch, 査読有, vol.6, 2013, pp. 223-230
DOI: 10.2147/JPR.S41614

② Akio Hiura, Hiroshi Nakagawa, Roles of Glia, Immune Cells and the Thermo-TRP Channels, TRPV1, TRPA1 and TRPM8, in Pathological Pain, The Open Neuroscience Journal, 査読有, vol.6, 2012, pp. 10-26
<http://www.benthamscience.com/open/to neurj/articles/V006/10TONEURJ.pdf>

③ Akio Hiura, Hiroshi Nakagawa, An Overview of the Actions of Capsaicin

and Its Receptor, TRPV1, and Their Relations to Small Primary Sensory Neurons, Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents, 査読有, vol.10, 2011, pp. 2-9
DOI:10.2174/187152311795325505

[学会発表] (計 3件)

- ① Akio Hiura, Hiroshi Nakagawa, Paradoxical behaviors in response to nociceptive stimuli after inflammation in mice pretreated with capsaicin at neonate, 8th FENS Forum of Neuroscience, 2012.7.16, Centre Convencions Internacional Barcelona (Spain)
- ② Hiroshi Nakagawa, Akio Hiura, Trial to development a new local anaesthetic using TRP channels of TRPV1, TRPA1 and TRPM8, Society for Neuroscience 2011, 2011.11.13, Washington Convention Center (USA)
- ③ 中川弘、山本愛美、尼寺理恵、郡由紀子、TRP チャネルを用いた新しい局所麻酔薬の開発 -TRPV1 チャネルと TRPA1 チャネルの比較-、第28回 日本障害者歯科学会、2011.11.5、福岡国際会議場 (福岡県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 弘 (NAKAGAWA HIROSHI)
徳島大学・病院・助教
研究者番号：70192218

(2) 研究分担者

樋浦 明夫 (HIURA AKIO)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・准教授
研究者番号：00106353