

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：32404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17096

研究課題名(和文) 歯痛適応漢方薬の作用機序解明と応用適応の検討

研究課題名(英文) Elucidation of action mechanism and drug repositioning of therapeutic Chinese herbal medicine for toothache

研究代表者

長尾 隆英 (NAGAO, TAKAHIDE)

明海大学・歯学部・客員講師

研究者番号：70737006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：立効散は、古来より歯痛などの口腔内疼痛に「立ち処に効く」鎮痛薬として用いられてきた漢方薬で、その薬効ならびに投与用量は東洋医学的見地から経験則でのみ評価されている。そこで本研究では、立効散の処方西洋医学的に確立する為に体内動態と鎮痛効果の関連性を研究した。その結果、立効散は経口投与で速やかに代謝され血中に移行することが明らかになった。鎮痛効果は用量依存的に増強され、酸性NSAIDs(アスピリン)と同様のレベルまで達することが明らかになった。加えて、前処置時間を延長することで鎮痛効果が更に増強された。これらの結果は立効散を慢性処方することで難治性疼痛の緩和に寄与できる可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科領域で頻用される酸性非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)は、抜歯後疼痛などの強い疼痛をも管理しえる。しかしながら、薬物アレルギー患者、喘息既往患者などへは投与が行えず、また、胃腸障害を併発しやすいなどの欠点も存在する。

そのような患者への代替療法として漢方はその貢献度が大きく認められており、立効散はアスピリンならびにアセトアミノフェンと同等の効果を示すことが明らかになった。そして、立効散の代謝産物が鎮痛効果と相関性を持つ可能性が示唆されたことから、代謝産物の発現による投与時間の策定。また、投与が行えない症例への大きな貢献になると考えている。

研究成果の概要(英文)：Rikkosan is a traditional Chinese herbal medicine that has been used as an acute analgesic for oral pain such as, but its efficacy and dosage have been determined by only oriental empirical aspect. This study aimed to establish appropriate prescription of Rikkosan by western medical method such as relationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics. Results: Rikkosan was rapidly metabolized and expressed in serum. Analgesic effect of Rikkosan was increased in dose-dependent manner and similar with acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs (e.g., aspirin). In addition, analgesic effect of Rikkosan was significantly increased by prolongation of pretreatment period. These results suggested that chronic treatment of Rikkosan may contribute to treat refractory pain.

研究分野：薬理学

キーワード：漢方薬 立効散 薬物動態

1. 研究開始当初の背景

歯科領域で頻用される酸性非ステロイド性抗炎症薬は、シクロオキシゲナーゼ阻害による高い鎮痛・解熱作用を発現する。中でも、ジクロフェナクナトリウムは、抜歯後疼痛などの強い疼痛をも管理しえる。しかしながら、シクロオキシゲナーゼ阻害薬は薬物アレルギー患者、喘息既往患者などへは投与が行えず、また、胃腸障害を併発しやすいなどの欠点も存在する。このような場合、塩基性非ステロイド性抗炎症薬(チアラミド)や解熱性鎮痛薬(アセトアミノフェン)の選択、または副作用発現予防には胃腸薬の併用やプロドラッグ(ロキソプロフェンナトリウム)の選択が臨床では行われている。酸性非ステロイド性抗炎症薬の効果範囲は一般的に炎症性疼痛であり機械的刺激誘発疼痛や内臓痛などの深部痛には効果を示さないことが知られているが、その他にも、神経因性疼痛ならびに抗悪性腫瘍薬投与やヘルペスウイルス感染などで発現する口内炎へも奏効しないことが報告されている(Demarosi et al., Minerva Stomato, 2002; Eliav and Max, Orofacial Pain, 2008)(図1)。



図1 歯科臨床における NSAIDs の有効性と非適応患者の苦痛

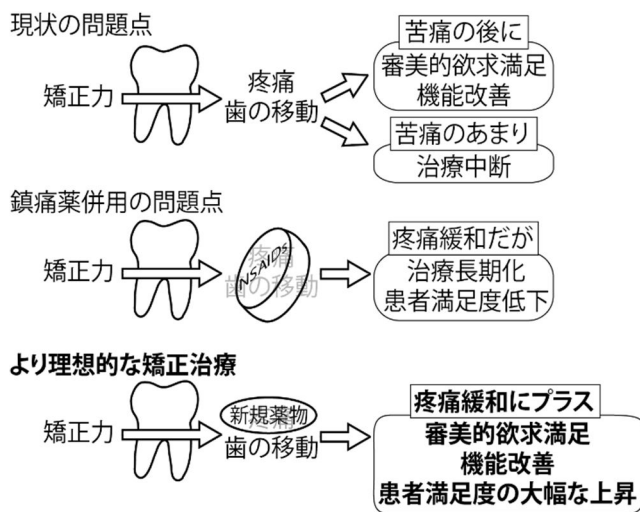
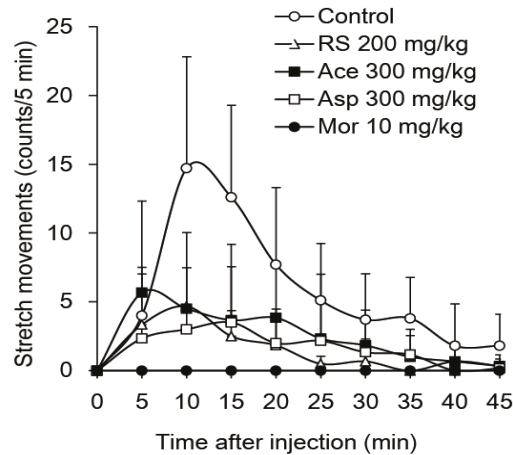


図2 矯正疼痛の管理の重要性と難しさ

上記に加えて、シクロオキシゲナーゼによって産生されるプロスタグランジンやトロンボキサンなどのエイコサノイド類は正常な生理機能の発現に不可欠である事から、これらの産生抑制は治療効果減弱に繋がる場合がある。歯科においては、矯正処置がそれである。矯正治療は小児から成人まで幅広い年齢層を対象として審美的要因から行われている印象があるが、口蓋裂や顎変形症などの重度な咬合障害を改善するためにも不可欠な治療である。矯正処置を開始して間も

ない時期には、患者の多くは頬粘膜に生じる矯正装置由来のびらんや歯の移動に伴う激しい疼痛を訴える。このような激しい疼痛は、摂食障害を引き起こし、矯正治療継続に対するモチベーションを低下させる原因となる。そのため効果的な疼痛管理が求められるが、プロスタグランジンは破骨細胞前駆細胞の分化誘導に不可欠なため、酸性非ステロイド性抗炎症薬は歯の移動を抑制してしまう(図2)。また、歯科領域においてもオピオイドなどの中枢作用性鎮痛薬が用いられることもあるが、耐性や依存の問題から一般的な歯科臨床に適用されるものではない。これらのことから、酸性非ステロイド性抗炎症薬抵抗性症例や不適症例の疼痛管理については有効な手段がなく、患者の苦痛軽減のためにもその確立が強く求められている。そのような症例への代替療法として漢方はその貢献度が大きく認められている処であろう。事実、酸性非ステロイド性抗炎症薬が奏効しない症例への漢方薬(立効散)の効果が報告されている(加藤ら、漢方医学、

2008 ; 河原ら、薬局、2011)。そこで、申請者らはその鎮痛効果をマウスの仮性疼痛反応を用いて定量評価した。その結果、立効散は機械的刺激によって誘発される biting reflex は抑制しないが、化学的刺激によって誘発される Writhing syndrome をアスピリンならびにアセトアミノフェンと同程度に抑制することを明らかにした (図 3) (堀江ら、歯科薬物療法、2014)。加えて、立効散はその名の示すとおり「立ち処に効く」鎮痛薬として処方されてきたが、前処置時間を延長すると鎮痛効果の増強が認められ (堀江ら、歯科薬物療法、2014)、代謝産物にも鎮痛効果が存在することが示唆された。立効散は、*in vitro* ではマクロファージ系細胞に対し、炎症時に産生が増加するシクロオキシゲナーゼ-2 の発現を誘導する一方で、シクロオキシゲナーゼ-2 活性抑制によるプロスタグランジン E₂ 産生抑制という複雑な働きを持つことが示されている (Horie *et al.*, *In Vivo*, 2006 & 2008)。前述の代謝産物では、マクロファージへの効果が、シクロオキシゲナーゼ阻害として認められる可能性がある。これらのことから本研究では、立効散の薬物動態と代謝産物の鎮痛効果の相関、口内炎や矯正装置装着によって生じる疼痛への立効散の鎮痛効果と治療効果の相関を検討することを、核心的な問とした。



RS: 立効散, Mor: モルヒネ,

Asp: アスピリン, Ace: アセトアミノフェン

図 3 立効散の鎮痛効果

2. 研究の目的

本研究では、既に保険適応がなされている「立効散」の新たな効果を検討するだけでなく、同時にその作用機序の解明を最終的な目標としている。元来漢方薬は「症」を基準として処方があるが、歯科臨床で立効散は「抜歯後の疼痛・歯痛」という歯科医学的に定量評価可能な基準の有無で処方が決定される。そのため、歯科臨床で生じる症例に則した動物モデルを用いることで、各症例に対する立効散の効果を定量評価可能と考える。事実、前述のように、立効散は炎症性疼痛を既存鎮痛薬と統計学的に同等に抑制したことから、同様の炎症性疼痛モデルを用いる検討は結果を導きやすいと考える。加えて、薬物動態や代謝産物を同定し、それらの鎮痛効果を測定することは、今まで明らかになっていない立効散の主要効果成分を同定することに繋がる。それらの主要効果成分を抽出したサンプルの鎮痛効果を確立、その作用機序を明らかにすることは、酸性非ステロイド性抗炎症薬が奏効しない、もしくは、投与が行えない症例への大きな貢献になると考えている。さらに、本研究で得られる立効散由来成分への化学 (科学) 的效果判定の見聞集約は、他の生薬由来成分を解析する際に応用が可能と考えられる。このことは、半夏瀉心湯などの漢方薬の主要効果成分や作用機序の検討に役立つものと考えている。

3. 研究の方法

本研究では、マウスの仮性疼痛反応への立効散の鎮痛効果を判定するために設定した薬物与投与時間を参考に実験を行った。則ち、立効散をマウスに経口投与し、その 20 分、40 分、90 分後に採血を行った。採取した血液を遠心分離 (10,000 rpm, 10 min) して得られた血清に、99.9%メタノールを添加し徐タンパク後に乾固保存した。乾固したサンプルの構成成分を明らかにするために、乾固したサンプルに 99.9%メタノールを再度添加しホモジネートすることで成分を抽

出し、上清を UPLC にて解析した。立効散の代謝産物を人為的に得るために、立効散をマウスの薬物代謝酵素を含む二つの肝ミクロソーム画分 (CORNING® Gentest: Mouse CD-1 Pooled Liver Microsomes male (CD-1)、 Mouse CD-1 Liver S9,male (CD-1 S9)) とそれぞれ coincubation (30-90 分、37) し、上記の方法で除タンパク、乾固、抽出を行い、UPLC にて解析を行った。

4 . 研究成果

立効散の鎮痛効果は先行実験により前処置時間をとることで増強され、前処置時間 20 分、90 分において鎮痛作用が顕著であった。UPLC を用いた解析の結果、立効散代謝産物と思われるピークが、鎮痛効果が発現する 20 分に現れるピーク A と、鎮痛効果が増強される 90 分後に現れるピーク B が同定された。これらのピークの他にも、時間経過と共に変動するピークが検出されており、現在それらの変動率を安息香酸を指標として検討している。

立効散を市販のマウス薬物代謝酵素と反応させて *in vitro* で代謝産物を得るために、予備的な検討を行い、プロトコルの確立を行った。則ち、coincubation の時間を調整し、酵素反応を促進するための NaDPH の添加量を検討した。その結果、coincubation 時間は 30、60、90 分、NaDPH は 10 μ g の添加が最適であった。これらの指摘条件下で得られた立効散の人為的代謝産物のピークを、立効散投与マウスから回収した血漿成分 (*in vivo* における代謝産物) のピークと比較したところ、CD-1 と CD-1 S9 のいずれもピーク A を導出することが出来たが、ピーク B を導出することは出来なかった。また、CD-1 S9 の方がピーク A をより強く導出することも明らかになった。これは CD-1 が、CD-1 S9 を精製して得られることから、立効散の代謝を円滑に行うための薬物代謝酵素を欠いている可能性を示唆している。しかしながら、*in vivo* における代謝産物は、より多くの変動ピークを含んでいる。このことは、立効散の代謝にはコマーシャルレベルでは入手出来ない、より多くの薬物代謝酵素が関与していると考えられる。今後は、人為的方法で得られる代謝産物の鎮痛効果を定量的に検討する予定であるが、鎮痛効果が得られない場合には、異なる薬物代謝酵素を利用もしくは併用する必要があることも示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----