

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24年6月1日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591994

研究課題名（和文）

妊娠に伴う内因性鎮痛機序の薬理的、電気生理学的検索と臨床応用への検討

研究課題名（英文）

Electrical Physiology and pharmacology of pregnancy-induced analgesia

研究代表者

岩崎 寛（IWASAKI HIROSHI）

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：70223386

研究成果の概要（和文）：

妊娠ラットを用いて分娩直前にのみ疼痛閾値の上昇が内臓性および体性侵害刺激にて確認され、この疼痛閾値の上昇が麻薬拮抗薬ナロキソンおよび $\alpha 2$ 受容体拮抗薬にて影響うけることが示され、妊娠にともなう内因性鎮痛機序にはオピオイド系のみならずカテコラミン系も関与している可能性が示唆された。癌性疼痛患者にて麻薬性鎮痛薬ケタミン軟膏を患部に塗布することにより疼痛緩和が確認され（アメリカ麻酔学会 2010A308）、また、頸部交感神経節への Xe レーザー照射による鼓膜温度の上昇が確認され（アメリカ麻酔学会 2011A470） 今後はこの現象をリウマチなどの慢性疼痛疾患やがん性疼痛管理に応用していきたい。

研究成果の概要（英文）：

Neuropathic pain is often resistance to opioids. It is demonstrated that NMDA receptor antagonist, ketamin ointment is a useful cancer pain treatment(ASA2010A308). Cervical sympathetic ganglion may produce to increase neuropathic pain clinically. It is shown that transcutaneous Xe light irradiation around stellate ganglion significantly increase the drum temperature immediately(ASA2011,A470). These findings may contribute to treat neuropathic pain in a clinical practice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：内因性鎮痛、GABA受容体、NMDA受容体

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究にて妊娠ラットにて麻薬拮抗薬ナロキソンにより拮抗されるナイン性鎮痛機序が存在することを示してきた。その機序はオピオイド系以外の鎮痛機序の関与の有無については不明であった。また、ヒトにて同様なことが認められるかどうかについても明確なものはない。本研究は慢性痛に対する内因性鎮痛の効果を坐骨神経結紮によるカウザルギーモデルおよびフォルマリンテストを用いて、Neuropathic pain に対する妊娠に伴い誘導される内因性鎮痛機序の鎮痛効果を実験的に経時的に検討する。さらに、妊娠末期に誘導される内因性鎮痛機序が脊髄後角における各種の神経ペプチドや glycine や GABA などのアミン類の変動、および脊髄後角細胞内カルシウムイオンの経時変化および c-fos の発現に対する影響について検討を加え、妊娠に伴う内因性鎮痛機構およびこれと各種の薬物との相互作用の機序解明を目的とする。C-FOS に関しては、吸入麻酔薬セボフルランがラットの後肢足底に投与したホルマリンによる侵害刺激に対して抑制効果を示すことを報告 (Anesthesiology 1999;91:A776) し、その測定評価法は確立している。

一方、近年、炎症や末梢神経損傷に伴い末梢神経が持続的に刺激されると脊髄後角や後根神経節では可塑性変化が生じ、その結果痛覚過敏状態など疼痛閾値の低下や異常感覚などが生じる。この変化の要因として GABA などの抑制性伝達物質の減少や GABA 産生酵素、GABAA 受容体の減少などの脱抑制の作用が示唆されている。一方、臨床においては急性疼痛に鎮痛効果を示す非ステロイド性消炎鎮痛薬 (NSAID) や麻薬性鎮痛薬オピオイドは神経因性疼痛では効果を認めない。この機序を妊娠ラットによる内因性鎮痛機序発

現状態で神経因性疼痛モデルを作成し、behavior test および脊髄後根での電気生理学検討を行い検討するものである。本研究は、神経因性疼痛の機序を解明する糸口となることに加えて、臨床における慢性疼痛患者の有効な薬物治療の可能性を探るものである。

2. 研究の目的

これまでの妊娠ラットを用いた実験にて分娩直前に麻薬拮抗薬ナロキソンにより拮抗される内因性鎮痛機序が発現することが示されていた。今回はこの内因性鎮痛機序発現に麻薬以外の鎮痛機構が関与している可能性を検討するとともにヒトにて同様の現象が認められるか否かについて検討することであった。本研究では炎症性疼痛や神経因性疼痛での脊髄後角の疼痛伝達機構を妊娠による内因性鎮痛機序が坐骨神経結紮によるカウザルギーモデルを用いて、妊娠による内因性鎮痛の behavior test にてその効果を検討するとともに、内因性疼痛抑制系の脊髄後角における可塑性に関して脊髄後角の各層よりホールセルパッチにより、主に抑制性シナプス後電流 (IPSC) を記録する電気生理学的検討を行い、抑制性神経伝達の可塑性変化や薬物の作用機序を解析することを目指とする。このような妊娠という生理学的な現象にともなう内因性鎮痛機序存在下での種々の薬物との相互作用やこの鎮痛機構の解明は癌性疼痛や関節リウマチなどの慢性疼痛疾患患者の疼痛管理の臨床応用につながる可能性を持つものである。

3. 研究の方法

妊娠ラットを作成し妊娠初期、中期、分娩直前、そして産褥期に体性および内臓性侵害刺激を加え、オピオイド系のみならずカテコラミン系などの他の下降性抑制系についての

関与を検討した。S.D系雌ラット 50 匹を対象とし、膣粘液スメアを参考に適切な時期に雄ラットと交尾させ妊娠ラットを作成する。ケージ内の plug の存在により妊娠を確認する。妊娠 3-5 日ラットをセボフルラン吸入全身麻酔下に、坐骨神経を 4 個所で結紮することにより Neuropathic pain (Bennet らの chronic constriction injury model: Pain 33:87:1988) を作成する。このようにして作成した慢性疼痛刺激に対する疼痛閾値の測定を、Hot plate test (50 W projector lamp ; 既存) および von Fry filament (既存) を用いて、妊娠 14 日、妊娠 21 日 (分娩直前) および分娩 7 日後まで疼痛閾値を測定する。対照群として、非妊娠ラット (対象群 sham 群) 20 匹にて同様な全身麻酔下に座骨神経部位の皮膚のみを切開・縫合した群と比較検討する。また、既述の方法により妊娠させた後、妊娠 3-5 日にセボフルラン全身麻酔下に、座骨神経を結紮することにより neuropathic pain モデルを作成する。通常用いられている Hot plate test (50W projector lamp ; 既存) および von Fry filament (既存) を用い hyperalgesia であることを確認する。対照群は同様に全身麻酔下に座骨神経部皮膚を切開、縫合のみとした。この対照群および妊娠ラット群の妊娠 21 日目に既記の方法により hyperalgesia の程度を測定後、セボフルラン麻酔下に仙骨より切開をし脊髄腔を酸素化した冷却した rodent Ringer 液 (mM: 146NaCl, 2CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 HEPES) で素早く灌流する。その後、ラット第 4 および第 5 脊髄神経根細胞を単離し、0.16% collagenaseD (Boehringer Mannheim), 0.04% trypsin (Boehringer Mannheim), および 0.01% deoxyribonuclease 1 (Sigma) で 35 分間、35°C、pH7.4 で shaker bath で incubate する。通常、神経後根細胞はその大きさによ

り 3 種類 (large, medium, small cell) 細胞が単離される (Neuroscience Letters 1985;61:189)。最終的には 95% 空気と 5% 二酸化炭素をバブルした poly-L-lysine それぞれについてパッチピペットを用いて、whole cell による current-clamp (J Neurophysiol 1992;68:1834) し、パッチクランプ用増幅器 (CEZ2400) を用い、8-pole Bessel filter を介して 3KHz で filter する。この signal は A/D コンバーター (Macintosh 用 ITC16) を介して解析 (フジヨテック社製パッチアナリスト) する。特に inward -calcium current (I_{Ca} flux) および Ca²⁺ activated K⁺ current (I_{KCa}) に注目しその特性を検討する。神経根細胞での個々のサイズの細胞で検討し、神経損傷において主要な役割を果たしているのはどのサイズの細胞か、およびそれが妊娠に伴う内因性鎮痛機序により影響を受ける程度を測定する。

また、妊婦 20 例にて本研究の趣旨に同意して頂き、妊娠経過中の妊娠中期、妊娠末期、娩直前および分娩後の 4 時点で電流知覚検査 (2000, 250, 5Hz) を経時的に疼痛閾値測定し非妊娠女性 20 例にての測定結果と比較検討する

4. 研究成果

妊娠ラットを用いて基礎的動物実験 (沈痛の下降性抑制系の機序及び発現を解明するための実験) を行った際、カルシウムチャネル拮抗薬など数種類の薬剤が妊娠に伴う下降性抑制系を増強するという興味深い実験結果が得られた。この実験結果により、臨床における疼痛治療に関して、数種類の薬剤が影響する可能性が強く示唆され、人における臨床的検討をまず行うことが重要であることが示された。最近臨床使用が可能となった簡便な疼痛閾値測定装置 Pain vision (ニプロ社) を用いて妊婦の産前、産後の疼痛閾値の

推移を検討した。これまでのラットの結果と同様に帝王切開手術前日は術後1日目や6日目に比較して疼痛閾値が上昇していることが、予定帝王切開術患者で示された。

妊娠ラットでは分娩直前にのみ内因性鎮痛機序が発現し、この疼痛閾値の上昇にはオピオイド系ばかりでなくカテコラミン系の疼痛抑制系が関与していることが判明した。また、ヒト妊婦にても同様に分娩直前にのみ疼痛閾値の上昇が認められた。この妊娠に伴う種々の下降性抑制系の発現機序を詳細に解明し癌やリウマチなどの慢性疼痛疾患患者における疼痛管理につなげていく道筋がついた。

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2件)

(1) Mamiya K, Harada S, Abe Y, Sasada T, Iwasaki H. Keatmin ointment for cancer pain (2010 annual meeting of American Society of Anesthesiologists A308).

(2) Onodera Y, Mamiya K, Ueno M, Honma Y, Tanaka H, Sugawara A, Kanaki K, Iwasaki H. Changes in the drum temperature after transcutaneous Xenon light irradiation around the stellate ganglion (2011 annual meeting of American Society of Anesthesiologists A470).

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0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

岩崎 寛 (IWASAKI HIROSHI)
旭川医科大学・医学部・教授
研究者番号：70223386

(2) 研究分担者

藤田 智 (FUJITA SATOSHI)
旭川医科大学・医学部・教授
研究者番号：10173428

間宮 敬子 (MAMIYA KEIKO)
旭川医科大学・医学部・准教授
研究者番号：80231603

(3) 連携研究者

無し