

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2013

課題番号：21591997

研究課題名(和文)術後痛対策におけるニューロステロイドの可能性

研究課題名(英文)Effects of Neurosteroids on Postoperative Pain

研究代表者

福田 妙子 (FUKUDA, TAEKO)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：40228911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：ニューロステロイドのアロプレグナノロンが術後痛に対してどのような効果をもたらすかを Brennan のラット術後痛モデルを用いて調べた。アロプレグナノロン合成酵素阻害薬であるフィナステロイドを投与すると7日後の機械的アロデニアが遷延する傾向にあった。さらに、アロプレグナノロン低用量(0.16mg/kg)と高用量(1.6mg/kg)を投与した場合、低用量で機械刺激に対する閾値が高くなった。これは、アロプレグナノロンが複数のメカニズムで痛覚過敏の形成を抑制することを示唆している。また、インドメタシンやアセトアミノフェン併用で相乗効果の確認はできなかったが、ガバペンチン併用では相加的効果が認められた。

研究成果の概要(英文)：Effects of allopregnanolone, which is a neurosteroid, were investigated in Brennan's postsurgical rat pain model. Mechanical allodynia persisted for 7 days after surgery in finasteride, an inhibitor of allopregnanolone synthase, group. Allopregnanolone low dose (0.16 mg/kg ip) group, not high dose (1.6 mg/kg ip) group, showed higher mechanical pain threshold than that of control group after surgery. The results suggest that allopregnanolone inhibits development of hypersensitivity after surgery on multiple mechanisms, because it was not dose-dependent. Furthermore, allopregnanolone increased anti-allodynic effects of gabapentine, not indomethacin and acetaminophen.

研究分野：麻酔学

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：ニューロステロイド 術後痛

1. 研究開始当初の背景

(1) ニューロステロイドの基幹合成酵素(チトクローム P450_{scc})は知覚神経の伝達経路に多く分布していることから疼痛コントロールにも深く関与していると考えられている。さらに、数種類確認されているニューロステロイドの中にはアロプレグナロン、プレグナロン、THDOC (allotetrahydrodeoxycorticosterone) といった鎮痛及び鎮静効果を示すものが幾つか報告されている。

しかし、これまでに行われてきたニューロステロイドに関連した疼痛実験は、正常組織において熱・電気・機械刺激に対する閾値の変化を測定しており、術後疼痛についての効果は検討していない。

また、合成ニューロステロイド・アルファドロロンは、唯一ヒトの膝の整形外科手術後に投与され有効な鎮痛効果を示しているが、モルヒネと併用している。

2. 研究の目的

今回我々は、ニューロステロイドの中でも鎮痛作用を持つことが証明されているアロプレグナロンに焦点を絞り、術後痛に対する基礎研究を行いたいと考えた。

本研究の目標は以下の4点である。

(1)ラットにおける手術創モデル (Brennanの方法) の確認

(2)術後疼痛モデルにおけるアロプレグナロンの関与の検討

(3)アロプレグナロンの手術創に対する鎮痛効果の検討

(4)他の鎮痛薬をアロプレグナロンと併用した場合の効果の検討

3. 研究の方法

(1)手術創モデル (Brennanの方法) の確認
セボフルラン麻酔下に 8-9 週齢雄の Sprague-Dawley ラットの足底皮膚を 1cm 長

軸方向に切開し、1度屈筋腱を牽引した後 5-0 ナイロンで 2 糸マットレス縫合する。術後 1、3、7 日後に、von Frey filaments を用いた機械的アロデニアと 52 度の熱刺激に対する逃避反応および患肢に対する荷重の程度を観察する。

(2)術後疼痛モデルにおけるアロプレグナロンの関与の検討

上記のモデルにおける中枢神経内のアロプレグナロンの変化を抗アロプレグナロン抗体での免疫染色で評価する予定であったが、定量的分析が可能なレベルの染色が困難であったため、以下の方法に変更した。

8-9 週齢雄の Sprague-Dawley ラットにアロプレグナロン合成酵素阻害薬 Finasteride 50 mg/kg を腹腔内投与し、60 分後に上記疼痛モデルを作成し、7 日後に機械的アロデニアの程度と患肢に対する荷重の程度を対照群と比較する。

(3)アロプレグナロンの手術創に対する鎮痛効果の検討

7 週齢雄の Sprague-Dawley ラット 45 匹を、アロプレグナロン低用量群 (0.16mg/kg)、高用量群 (1.6mg/kg)、対照群 (溶媒のみ) の 3 群に分ける。各薬液を腹腔内投与 15 分後に上記疼痛モデルを作成し、2, 24, 48, 168 時間後に、機械的アロデニアと患肢に対する荷重の程度を観察する。

(4)他の鎮痛薬をアロプレグナロンと併用した場合の効果の検討

当初、インドメタシン及びアセトアミノフェンの併用を試みたが、消化管の潰瘍および投与時のストレスによって信頼性の高いデータが取れなかったため、ガバペンチンとアロプレグナロンの併用効果を検討した。

7週齢雄のSprague-Dawleyラット36匹を、対照群（溶媒のみ）、アロプレグナノロン群（0.16mg/kg）、ガバペンチン群（100mg/kg）、アロプレグナノロンとガバペンチンの併用群の4群に分ける。20分前にガバペンチンあるいは生理食塩水を皮下注射し、15分前にアロプレグナノロンあるいは溶媒を腹腔内投与した後に、上記疼痛モデルを作成する。術後2, 6, 12, 24, 36, 48, 168時間に、機械的アロデニアと患肢に対する荷重の程度等の観察を行う。

4. 研究成果

(1)手術創モデル（Brennanの方法）の確立
Brennanらの実験結果はほぼ追試可能であり、術後疼痛モデルの作成手技は確立したと判断された。熱刺激は再現性の良いデータが得られたが、それ自体が刺激となることが危惧されたため途中で放棄した。

(2)術後疼痛モデルにおけるアロプレグナノロンの関与の検討

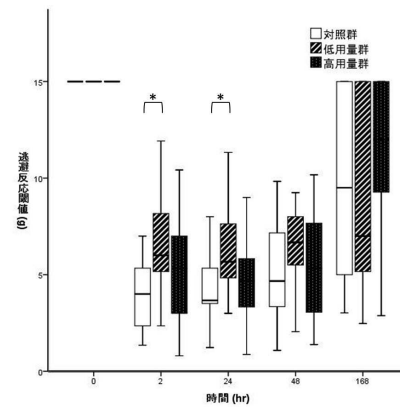
通常 Brennan の手術創モデルでは、7日後の機械的アロデニアはほぼ対照値に回復してくる。しかし、Finasteride 投与群では有意差はでなかったものの約40%疼痛閾値が低下していた。これはアロプレグナノロンが痛覚過敏の発生を抑制している可能性を示唆している結果と考えられた。

(3)アロプレグナノロンの手術創に対する鎮痛効果の検討

自発痛を示す足への荷重をスコア化したデータには有意差はなかった。

時間(hr)	姿勢スコア				
	0	2	24	48	168
対照群	120	60	73	93	120
	-	(45 - 71)	(69 - 95)	(71 - 105)	(116 - 121)
低用量群	120	60	82	105	120
	-	(53 - 100)	(73 - 99)	(68 - 107)	(111 - 123)
高用量群	120	60	60	81	120
	-	(60 - 88)	(57 - 86)	(52 - 102)	(101 - 124)

median (95%CI)



一方、機械的アロデニアのデータでは、アロプレグナノロン低用量群で2と24時間後に対照群と比較して有意に閾値の上昇がみられた。

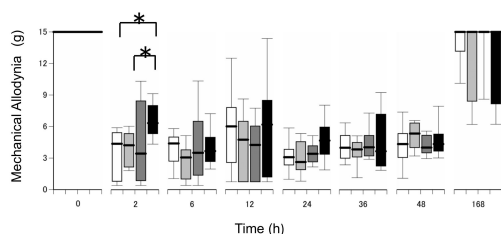
高用量群で有意差がなく、低用量群で有意に閾値が上昇したことは、アロプレグナノロンの鎮痛メカニズムが単一でないことを意味すると考えられた。

(4)他の鎮痛薬をアロプレグナノロンと併用した場合の効果の検討

インドメタシン：1~10mg/kgとアロプレグナノロンの併用を試みたが、インドメタシン単回投与では効果がなく、持続投与では消化性潰瘍のため十分な効果確認ができなかった。
アセトアミノフェン：アセトアミノフェン300mg/kg/日の経口投与とアロプレグナノロンの併用では、アセトアミノフェン単独に比較して12時間後と36時間後に有意に機械的アロデニアを抑制していた。ただし、対照群も含めて全体的に閾値の低下が認められたことは、複数回のアセトアミノフェン経口投与操作が動物にとってストレスとなった可能性を示していた。

ガバペンチン：術後2時間の時点で、ガバペンチンとアロプレグナノロンの併用群は対照群やガバペンチン単独群に比べて機械的

アロデニアの閾値が有意に上昇していた。
アロプレグナノロンは、術後早期のガバペンチンの効果を高めたと推測された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計1件)

- 1 佐藤恭嘉、福田妙子、田中誠。「ラット手術創モデルにおけるアロプレグナノロンの鎮痛効果の検討」日本麻酔科学会第59回学術集会(2012.6.8 神戸市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

福田 妙子 (FUKUDA, TAEKO)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：40228911

(2)研究分担者

久野 節二 (HISANO, SETSUJI)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：70136216

(3)連携研究者

なし