

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4月22日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791435

研究課題名（和文） 神経障害性疼痛に対する抗うつ薬の鎮痛機序の解明

研究課題名（英文） The nociceptive mechanism of serotonin-noradrenaline reuptake inhibitor in neuropathic pain.

研究代表者

中島邦枝 (NAKAJIMA KUNIE)

群馬大学・医学部・助教

研究者番号：50436309

研究成果の概要（和文）：5-HT/NA 再取り込み阻害薬 (serotonin noradrenalin reuptake inhibitor: SNRI) ミルナシプラン、選択的 5-HT 再取り込み阻害薬 (selective serotonin noradrenalin reuptake inhibitor: SSRI) パロキセチン、選択的 NA 再取り込み阻害薬 (selective noradrenalin reuptake inhibitor: NRI) マプロチリンを静脈内投与し、脊髄後角での NA/5-HT の変化と痛覚過敏抑制作用との関係を検討した。全ての薬剤が、ラット神経障害性疼痛モデル (spinal nerve ligation: SNL) の痛覚過敏を抑制し、脊髄後角での NA/5-HT (特に NA) の上昇が、痛覚過敏抑制作用に強く関与していることが示された。神経損傷後の 2 週間では下行性抑制系は活性化しており、抗うつ薬は脊髄後角での再取り込み抑制によってさらに NA/5-HT を増加させ、神経障害性疼痛を抑制することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Antidepressants are often used for the treatment of neuropathic pain. Clinical studies suggest that the efficacy of serotonin (5-HT) and noradrenaline (NA) reuptake inhibitors (SNRIs) for neuropathic pain is greater than that of selective 5-HT reuptake inhibitors (SSRIs). In the present study, we determined the efficacy and mechanisms involved in the antihyperalgesic effects of milnacipran, an SNRI, compared to paroxetine, an SSRI, and maprotiline, a selective NA reuptake inhibitor, using a rat model of neuropathic pain. Male Sprague-Dawley rats underwent spinal nerve ligation (SNL), and the withdrawal threshold to paw pressure was measured. Intraperitoneal injection of milnacipran (3-30 mg/kg) produced a dose-dependent antihyperalgesic effect. The effect was reversed by intrathecal injection of the α 2-adrenoceptor antagonist, idazoxan (30 μ g), but not by various 5-HT receptor antagonists. Paroxetine produced an antihyperalgesic effect only at the highest dose tested (10mg/kg). This effect was reversed by intrathecal injection of both idazoxan and ondansetron (30 μ g), a 5-HT₃ receptor antagonist. Maprotiline produced an antihyperalgesic effect (10 and 30mg/kg), and the effect was reversed by intrathecal idazoxan. In microdialysis studies, NA and 5-HT concentrations in the spinal dorsal horn were increased after injection of either milnacipran or paroxetine, and only NA was increased after maprotiline. Furthermore, the NA content in the spinal cord of SNL rats was greater than that in normal animals. These findings suggest that an increase in NA in the spinal cord plays an important role in the antihyperalgesic effects of not only NA reuptake inhibitors but also SSRIs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：疼痛治療学

1. 研究開始当初の背景

脳幹から脊髄後角にいたるノルアドレナリン(NA)/セロトニン(5-HT)作動性下行性抑制系は、神経損傷からの時期によって大きく変化している可能性がある。抗うつ薬は神経障害性疼痛に有効であるが、その機序は脊髄においてNA/5-HTを増加させることによることが、これまでの研究で明らかになっている。

2. 研究の目的

目的1：抗うつ薬(SNRI)を投与して得られる鎮痛効果はNAと5-HTでどちらが重要な役割を果たしているか。

目的2：選択的セロトニン再取り込み阻害薬(selective serotonin reuptake inhibitor:SSRI)との比較検討。

目的3：神経障害性疼痛モデル作成後の異なった時期に脊髄後角でNA/5-HTを測定し、下行性抑制系の可塑的变化と抗うつ薬の鎮痛効果との関連を検討する。

目的4：脊髄でNA/5-HTを増加させると考えられている他の薬剤でも検討する。

3. 研究の方法

1). 神経障害性疼痛モデルの作成

L5脊髄神経切断モデルを作成する(spinal nerve ligation: SNL)。すなわちイソフルレン麻酔下に腰部を正中切開し、左側L6腰椎横突起を切除する。そのとき直下に見える左側L5脊髄神経を5.0絹糸で強く結紮してその遠位で切断する。この手術後2ないし3日目から感覚過敏が認められるが、機械的痛覚過敏をpaw pressureテストによって判定する。

2). Paw pressureテストによる行動実験

抗うつ薬による鎮痛効果を確認する。paw pressureテストとはラットの後肢に機械的侵害刺激を与え、徐々にその刺激を増加させ、後肢が逃避した時の圧を逃避閾値として算出して痛みを定量化する方法である。正常ラットの逃避閾値は200g程度であるが、SNLラットでは100g前後まで低下する。正常ラッ

トに薬剤を投与し、逃避閾値を測定したときには急性痛に対する鎮痛作用を判定することができる。一方、SNLラットに対して薬剤を投与したときには、神経障害性疼痛の際に認められる痛覚過敏に対する効果を判定することになる。ここがpaw-pressureテストの優れた点であり、急性痛への反応と神経障害性疼痛への効果を比較できる。SNRI(ミルナシプラン: 1, 3, 10, 30 mg/kg)を腹腔内投与し30分毎に閾値を測定する。SSRI(パロキセチン)に関しても同様に実験を行う。

3). 行動実験の拮抗試験

2)で得られた逃避閾値の上昇が、NAによるものか5-HTによるものかを確認するためそれぞれの拮抗薬(methysergide: 5-HT1/2 receptor antagonist, ketanserin: 5-HT2A receptor antagonist, idazoxan: α 2 receptor antagonist)を髄腔内投与し、逃避閾値の変化を検討する。髄腔内カテーテルはYakshらの方法によって行動実験の5日前に留置する。イソフルラン麻酔下に、後頭部から32-Gカテーテルを先端が腰膨大部まで来るように約8cm挿入して固定する。

4). マイクロダイアリシス法による脊髄後角浅層でのNA/5-HT量の測定

イソフルラン吸入麻酔下にラットの第一腰椎前後で椎弓切除を行い脊髄を露出する。マニピュレーターを用いて脊髄後角に長さ1ミリの直管型プローベを約20度の角度で浅層に向けて挿入する。灌流液としてリンゲル液を、マイクロシリンジポンプで1 μ l/minの速度で灌流する。Baselineが安定するまで2~3時間必要である。薬剤を投与するために大腿静脈にあらかじめ静脈路を確保する。SNRI(ミルナシプラン)を30分間隔で1-3-10-30 mg/kgと投与してcumulative dose response curveを作成し、SNLラットと正常動物とでNA/5-HT放出の比較検討を行う。また、SNRIボラス投与後のNA/5-HT増加の時間経過を観察する。申請者の予備実験では

SNRI 投与後、正常ラットに比べ SNL ラットでは有意に多くの NA の増加が認められた。SNRI を用いた実験終了後、SSRI (パロキセチン) を投与して同様の実験を行う。

5). 脊髄ホモジェネートの NA/5-HT 量の測定

マイクロダイアリシスで得られた 5-HT と NA の測定量は絶対値ではないので、実際の脊髄中の含有量を測定し、マイクロダイアリシス法のデータと一致した結果が得られるか検討する。ラットを吸入麻酔下に断頭して腰膨大部を取り出し左右半分に分割した後、神経切断側 (左側) を用いる。除タンパクし、超音波ホモジナイザーを用い 20000 回転で 20-30 秒攪拌する。遠心分離 20000 回転後、上清を採取しフィルター濾過したものを測定する。測定は HTEC-500 analyzing system® (Eicom Co, Kyoto, Japan) で行う。実験 4) と 5) については神経結紮後 1、2、4、8 週間の SNL ラットを用いて実験を行う。

6). 免疫組織化学的検討

正常ラットまたは術後 2 週間の SNL ラットを用いる。ペントバルビタール (50 mg /kg) を腹腔内投与して深麻酔後、経心臓的に 4% パラムアルデヒドで還流固定する。脊髄 L4 ~5 の部分を取り出し、30% sucrose 液中に数日保存する。その後、マイクロトームを用いて 40 μ m の切片を作成し、浮遊法によって DAB 発色による免疫染色を行う。NA (dopamine- β -hydroxylase; D β H) 線維、5-HT 線維やそれぞれのトランスポーターの抗体を用いて染色を行う。得られた標本は顕微鏡で観察する。

4. 研究成果

5-HT/NA 再取り込み阻害薬 (serotonin noradrenalin reuptake inhibitor: SNRI) ミルナシプラン、選択的 5-HT 再取り込み阻害薬 (selective serotonin noradrenalin reuptake inhibitor: SSRI) パロキセチン、選択的 NA 再取り込み阻害薬 (selective noradrenalin reuptake inhibitor: NRI) マプロチリンを静脈内投与し、脊髄後角での NA/5-HT の変化と痛覚過敏抑制作用との関係を検討した結果、全ての薬剤が、ラット神経障害性疼痛モデル (spinal nerve ligation: SNL) の痛覚過敏を抑制し、脊髄後角での NA/5-HT (特に NA) の上昇が、痛覚過敏抑制作用に強く関与していることが示された。さらに SNL モデルを用いて、脊髄腰膨大部のホモジェネートを作成し NA/5-HT 量を測定したところ、SNL 作成後 2 週間では正常ラットに比べて NA/5-HT が増加していた。以上より神経損傷後の 2 週間では下行性抑制系は活性化しており、抗うつ薬は脊髄後角での再取り込み抑制によってさらに NA/5-HT を増加させ、神経障害性疼痛を抑制す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 6 件)

1. Kunie Nakajima, MD, PhD; Hideaki Obata, MD, PhD; Nobuhisa Iriuchijima, MD, PhD; Shigeru Saito, MD, PhD
Increased noradrenaline in the spinal cord strongly contributes to the antihyperalgesic effect of antidepressants after peripheral nerve injury in rats. *Pain*. 2012. [Epub ahead of print]
2. 中島邦枝, 肥塚史郎, 齋藤繁. イメージガイド神経ブロックの現状 The trend of image-guided neural blockade. *臨床麻酔* 2011;9:1409-1415. (査読あり)
3. Uchida S, Nakajima K, Saito S. Woman with mitochondrial encephalomyopathy who died of cardiogenic shock after surgery. *Masui*. 2010 Jun;59(6):784-7. (査読あり)
4. Peters CM, Hayashida K, Ewan EE, Nakajima K, Obata H, Xu Q, Yaksh TL, Eisenach JC. Lack of analgesic efficacy of spinal ondansetron on thermal and mechanical hypersensitivity following spinal nerve ligation in the rat. *Brain Res*. 2010 Sep 17;1352:83-93. (査読あり)
5. Obata H, Kimura M, Nakajima K, Tobe M, Nishikawa K, Saito S. Monoamine-dependent, opioid-independent antihypersensitivity effects of intrathecally administered milnacipran, a serotonin noradrenaline reuptake inhibitor, in a postoperative pain model in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010 Sep 1;334(3):1059-65. (査読あり)
6. Kunie Nakajima, Hideaki Obata, Naomi Ito, Fumio Goto, Shigeru Saito. The nociceptive mechanism of 5-hydroxytryptamine released into the peripheral tissue in acute inflammatory pain in rats. *European Journal of Pain*, 2009;13(5):441-7. (査読あり)

〔学会発表〕(計6件)

1. Nakajima K, Iriuchijima N, Kimura M, Sekimoto k, Saito S. The comparison of interscalene and supraclavicular approach of brachial plexus block using ultrasound-guided regional anesthesia for arthroscopic shoulder surgery. International Symposium on Spine and Paravertebral Sonography for Anaesthesia and Pain Medicine, March 19, 2011, Hong Kong.
2. Shiro Koizuka, Shigeru Saito, Kunie Nakajima. Percutaneous radio-frequency rhizotomy of the Gasserian ganglion guided by new CT fluoroscopy. The European Society of Regional Anaesthesia Annual Meeting, September 10, 2009, Salzburg, Austria.
3. 中島邦枝 肥塚史郎 齋藤繁 CTガイド下胸部傍脊椎神経ブロックの経験
日本ペインクリニック学会
2011年7月21日 松山
4. 中島邦枝、小幡英章、齋藤繁 ミルナシブランおよびパロキセチンの鎮痛メカニズム
第57回 日本麻酔科学会
2010年6月3日 福岡
5. 中島邦枝 入内島伸尚 関本研一 久保和弘 木村雅史 齋藤繁 エコーガイド下神経ブロックにおける可視カテーテルの有用性の検討
日本ペインクリニック学会
2010年7月1日 京都
6. 中島邦枝、小幡英章、齋藤繁 Serotonin noradrenaline reuptake inhibitor (SNRI)の鎮痛メカニズム
日本疼痛学会
2009年7月16日 名古屋

6. 研究組織

(1)研究代表者

中島邦枝 (NAKAJIMA KUNIE)
群馬大学医学部附属病院・助教
研究者番号：50436309

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：