

## 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 10 日現在

機関番号：	34401
研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2010～2012
課題番号：	22591753
研究課題名（和文）	アクロメリン酸誘導体を用いた神経障害性疼痛治療薬の開発と痛みの定量化
研究課題名（英文）	Treatment and measurement of neuropathic pain using acromelic acid analogues
研究代表者	
南 敏明	(Minami Toshiaki)
	大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号：	00257841

研究成果の概要（和文）：毒茸ドクササコの成分であるアクロメリン酸をマウス脊髄腔内に投与し触覚刺激を加えると神経障害性疼痛の症状であるアロディニアが出現することを明らかにした。今回、アクロメリン酸誘導体を合成し、神経障害性疼痛を特異的に抑制する化合物を見出すこと、PET プローブを作製し痛みを定量化（可視化）することを目的とした。その結果、アクロメリン酸誘導体は、脳・脊髄でカイニン酸受容体に結合するが、後根神経節においてカイニン酸とは異なる反応を示し、既知のカイニン酸受容体拮抗薬とは異なること、神経障害性疼痛の発現・維持機構の解明と新規の神経障害性疼痛治療薬開発の一助になることが示された。

研究成果の概要（英文）：We previously showed that intrathecal (*i. t.*) administration of acromelic acid A (Acro-A), a major causing substance of the mushroom (*Clitocybe acromelalga*) poison, provoked allodynia in conscious mice. To clarify a mechanism of Acro-A, we synthesized [<sup>14</sup>C]-labeled Acro-A analogue (PSPA-4) that can competitively block the Acro-A-induced allodynia. In vitro autoradiography, [<sup>14</sup>C]PSPA-4 was specifically bound to the rat brain and spinal cord, and the binding was significantly displaced by kainic acid, but not by antagonists of kainate receptor. PSPA-4 attenuated the Acro-A-induced allodynia at low doses and induced allodynia at high doses via a binding site different from known kainate antagonists. The development of a radio-labeled Acro-A analogue will enable us to promote the understanding of the action mechanism not only of Acro-A, but also of pain transmission in the periphery and central nervous system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
2012年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：アクロメリン酸, アロディニア, 神経障害性疼痛

## 1. 研究開始当初の背景

毒茸ドクササコの成分であるアクロメリン酸をマウス脊髄腔内に投与し触覚刺激を加えると神経障害性疼痛の症状であるアロディニアが出現すること、アクロメリン酸によるアロディニアは長時間持続すること、特にアクロメリン酸 A は  $10^{-15}$  g と非常に微量な用量でアロディニアを出現させること、アクロメリン酸によるアロディニアは、NSAID、オピオイドでは抑制されないことを明らかにした (Br. J. Pharmacol. 142: 679-688, 2004.)。アクロメリン酸は、カイニン酸と類似構造を持ちカイニン酸と同様 non-NMDA 受容体に作用すると考えられている。しかし、カイニン酸をマウス脊髄腔内投与してもアロディニアは惹起されないこと、アクロメリン酸によるアロディニアは、non-NMDA 受容体拮抗薬 NBQX では抑制されないことより、アロディニアを惹起させる異なった経路が存在することが示唆される。

## 2. 研究の目的

アクロメリン酸誘導体を用いて、1) 神経障害性疼痛を特異的に抑制する化合物を見出すこと、2) PET プローブを作製し、痛みを定量化 (可視化) することを目的とする。

## 3. 研究の方法

1) 神経障害性疼痛を抑制する化合物の選定  
アクロメリン酸誘導体を設計・合成

↓

アクロメリン酸誘導体をマウス脊髄腔内投与によるアロディニアの検討

↓

アロディニアが出現しないアクロメリン酸誘導体の選定

↓

アクロメリン酸 A 惹起のアロディニアを脊髄腔内投与・経口投与で抑制する化合物の選定

↓

神経障害性疼痛モデル (L5SNT モデル) を脊髄腔内および経口投与で抑制する化合物の選定

脊髄の NADPH 染色を行い、一酸化窒素合成酵素活性を指標に効果を判定する。

2) PET による痛みの定量化 (可視化)

アクロメリン酸誘導体を設計・合成

↓

アクロメリン酸誘導体で PET プローブ候補化合物の選定

↓

脊髄スライスを用いた ex vivo

autoradiography で、脊髄における binding を確認

↓

ラットを用いての PET 撮影

PET 集積画像を解析して病態との相関を明らかにし、定量的な痛みの画像診断技術を確認する。

## 4. 研究成果

放射線同位体  $^{14}\text{C}$  で標識が可能な新規のアクロメリン酸誘導体 PSPA-4 を合成し、PSPA-4 の神経障害性疼痛に対する効果、in vitro autoradiography 法による作用結合部位の同定、後根神経節のカルシウムイメージング法を用いて、以下の知見を得た。

(1) PSPA-4 は、高用量でアロディニアを誘発し、低用量では、アクロメリン酸 A 惹起のアロディニアを抑制した。

(2) [ $^{14}\text{C}$ ]PSPA-4 は、ラットの脳、特に海馬、尾状核被殻、皮質および脊髄全体に結合し、その結合は、PSPA-4、カイニン酸で阻害された。一方、[ $^3\text{H}$ ]カイニン酸は、[ $^{14}\text{C}$ ]PSPA-4 と類似し、脊髄では、後角に強い結合を認め、その結合は、カイニン酸、PSPA-4 で阻害された。

(3) PSPA-4 は後根神経節培養細胞内のカルシウム濃度を上昇させたが、カイニン酸とは異なる反応を示した。また、カイニン酸受容体を脱感作させる concanavalin A で前処置を行うと、PSPA-4 による細胞内カルシウム濃度の上昇は減弱した。

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 9 件)

- 1) Miyazaki, S., Minami, T., Mizuma, H., Kanazawa, M., Doi, H., Matsumura, S., Lu, J., Onoe, H., Furuta, K., Suzuki, M., Ito, S.  
The action site of the synthetic kainoid (2S, 3R, 4R)-3-carboxymethyl-4-(4-methylphenylthio)pyrrolidine-2-carboxylic acid (PSPA-4), an analogue of Japanese mushroom poison acromelic acid, on allodynia (tactile pain). *Eur. J. Pharmacol.* 査読有  
710: 120-127, 2013.  
doi: 10.1016/j.ejphar.2012.10.023.
- 2) Lu, J., Katano, T., Nishimura, W., Fujiwara, S., Miyazaki, S., Okasaki, I., Aritake K, Urade, Y., Minami, T., Ito, S.  
Proteomic analysis of the cerebrospinal fluid before and after intrathecal injection of steroid into patients with postherpetic pain. *Proteomics.* 査読有  
12: 1-8, 2012.  
doi: 10.1002/pmic.201200125.
- 3) Okuda-Ashitaka, E., Minami, T., Tsubouchi, S., Kiyonari, H., Iwamatsu, A., Noda, T., Handa, H., Ito, S.  
Identification of NIPSNAP1 as a nocistatin-interacting protein involving pain transmission. *J. Biol. Chem.* 査読有  
287: 10403-10413, 2012.  
doi: 10.1074/jbc.M111.271866.
- 4) Kanazawa, M., Furuta, K., Doi, H., Mori, T., Minami, T., Ito, S., Suzuki, M.  
Synthesis of an acromelic acid A analog-based <sup>14</sup>C-labeled PET tracer for exploration of the site of action of acromelic acid A in allodynia induction. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 査読有

21: 2017-2020, 2011.

doi: 10.1016/j.bmc.2011.02.018.

[学会発表] (計 13 件)

- 1) 岡本和哉, 南 敏明, 伊藤誠二, 芦高恵美子  
神経ペプチドノシスタチン結合タンパク質の炎症性疼痛への関与  
第 85 回日本生化学会大会 2012 年 12 月 15 日 (福岡)
- 2) Miyazaki, S., Minami, T., Mizuma, H., Kanazawa, M., Doi, H., Matsumura, S., Lu, J., Onoe, H., Furuta, K., Suzuki, M., Ito, S.  
The action site of the synthetic kainoid (2S, 3R, 4R)-3-carboxymethyl-4-(4-methylphenylthio)pyrrolidine-2-carboxylic acid (PSPA-4), an analogue of Japanese mushroom poison acromelic acid, for allodynia (tactile pain).  
The 14<sup>th</sup> World Congress on Pain. 29<sup>th</sup> August, 2012 (Milan).
- 3) Omoto, H., Minami, T., Matsumura, S., Miyazaki, S., Ito, S.  
Comparison of mechanisms of allodynia induced by acromelic acid A between early and late phases.  
The 14<sup>th</sup> World Congress on Pain. 29<sup>th</sup> August, 2012 (Milan).
- 4) Ito, S., Sasaki, A., Unezaki, S., Andoh, T., Matsumura, S., Katano, T., Nishio, N., Nakatsuka, T., Kuraishi, Y., Minami, T.  
Characterization of postherpetic neuralgia in mice with knock-in mutation of NMDA receptor.  
The 14<sup>th</sup> World Congress on Pain. 31<sup>th</sup> August, 2012 (Milan).
- 5) 西村 渉, 藤原俊介, 南 敏明  
術後急性痛：遷延性術後痛の機序と予防外科手術に関連した神経障害性疼痛  
日本ペインクリニック学会第 46 回大会  
2012 年 7 月 7 日 (松江)
- 6) 宮崎信一郎, 南 敏明, 水間 広, 尾上浩隆, 古田享史, 伊藤誠二  
アクロメリン酸誘導体を用いたオートラ

ジオグラフィー・カルシウムイメージング  
による脳・脊髄の痛みの可視化  
日本麻酔科学会第59回学術集会 2012年6  
月7日(神戸)

[図書](計4件)

1) 南 敏明

V. 神経障害性疼痛の治療  
1. 薬物療法  
K. 将来に期待できる疼痛治療薬  
-For Professional Anesthesiologists-  
神経障害性疼痛  
編: 真下 節  
克誠堂出版, 東京, 298-304, 2011.

2) 南 敏明

第3部治療臨床を意識したこれからの疼  
痛治療薬開発動向  
第1章有望な鎮痛カスケードの開発動向  
第14節プロスタグランジン拮抗薬  
慢性疼痛における薬剤選定と治療薬開発  
企画編集: 佐藤章弘,  
発行人: 高薄一弘  
技術情報協会, 東京, 370-375, 2010.

[産業財産権]

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.osaka-med.ac.jp/deps/ane/Ane-index-J.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南 敏明 (Minami Toshiaki)  
大阪医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 00257841

(2) 研究分担者

莊園 雅子 (Soen Masako)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 90445982

藤原 俊介 (Fujiwara Shunsuke)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 60535813

森本 賢治 (Morimoto Kenji)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 20388250

宮崎 信一郎 (Miyazaki Shinichiro)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 30411359

日下 裕介 (Kusaka Yusuke)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号: 60636075

(3) 連携研究者

古田 享史 (Furuta Kyoji)  
岐阜大学大学院医学系研究科再生医科学  
専攻・医学(系)研究科(研究院)・准教授  
研究者番号: 40173538