

## 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3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22659362

研究課題名（和文） 麻薬プロドラッグを用いた新たな疼痛管理法への挑戦

研究課題名（英文） Challenging of new therapeutic modalities for pain management with narcotic pro-drug.

研究代表者

正木 英二 (MASAKI EIJI)

東北大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：40221577

研究成果の概要（和文）：麻薬プロドラッグ開発を施行したが結果的に作成には至らなかった。麻薬であるフェンタニル、モルヒネと基質たんぱくの組み合わせに問題があったと思われる。ナノバブル、新たな鎮痛薬、疼痛調節因子遺伝子導入の鎮痛効果を検討した。脊髄内エスモロール、ミノサイクリンは短時間作用性の鎮痛効果を示したが、ナノバブルはその効果を増強しなかった。また、ナノバブルにより導入されたGDNF遺伝子により抗侵害作用が認められた。

研究成果の概要（英文）：The development of narcotic pro-drugs has been tried intensively. However, we have not yet succeeded to produce the pro-drugs. Because the combination between substrate protein and narcotics could not be matched well, the pro-drugs would not be produced. IT administration of esmolol and minocycline resulted in antinociceptive effects of short duration in a postoperative pain rat model. Moreover, induction of the gene for pain modulating factor, GDNF revealed antinociceptive effects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	0	1,800,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	2,900,000	330,000	3,230,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：麻薬、プロドラッグ、ナノバブル、遺伝子導入、鎮痛薬

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 手術侵襲に伴う末梢神経損傷、それに引き続く炎症反応により複雑な疼痛状態が引き起こされ、様々な試みが行われているが、十分にこの術後疼痛状態をコントロールす

るにはいたっていない。また、近年の高齢化社会、ならびに医学進歩によりこれまでは行われなかった高齢者に対する複雑な手術が行われるようになり、全身麻酔手術後には、

麻酔薬、麻薬の副作用の一部であると考えられる、認知機能障害、覚醒遅延、呼吸抑制などが問題視されている。特に、術後痛のコントロールには強力な鎮痛作用を有した麻薬を中心とした薬剤が用いられているが、重篤な副作用のため、その投与量が制限されている。このため、麻薬に頼らない術後鎮痛法の開発が試みられ、痛覚伝導路に作用するいわゆる鎮痛薬とは異なった種類の薬剤による術後痛管理が試みられている。

(2) 超音波とナノ・マイクロバブル (直径  $1 \mu\text{m}$  未満の微小気泡) を用いた分子・薬剤デリバリー法はがん治療などの分野で研究が試みられているが (Pitt WG et. al, Expert Opin Drug Deliv 2004), 疼痛制御系の報告は皆無である。本手法の原理は、ナノ・マイクロバブルに超音波を照射することによってナノバブルを崩壊させ、この際に発生するキャビテーションバブルの衝撃波によって一過性の細胞膜透過性を誘導し、細胞外の分子・薬剤を細胞内へと移行させると考えられている。実際、ナノ・マイクロバブルを利用し、マウス脊髄硬膜に遺伝子導入が可能なることが示された (Takahashi et. al., J Control Release 2007)。

申請者らは、薬剤活性のない麻薬のプロドラッグを開発し、ナノ・マイクロバブルを利用した遺伝子導入法を用い、麻薬プロドラッグを局所にて活性化する方法を検討することは、呼吸抑制などの麻薬全身投与に伴う重篤な副作用をなくし、効率的な疼痛管理法を提供できる治療戦略につながる有意義な研究であると判断し、本研究を立案した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、プロドラッグと物理的手法の1つである超音波とナノ・マイクロバブルを利用した分子・薬剤デリバリー法を用い、効率的かつ副作用のない新たな疼痛管理法を確立することである。具体的には、薬物活性のない全身に投与された麻薬性鎮痛

薬のプロドラッグを、局所にて活性型に変え、その発生部位にて疼痛をコントロールすることで、麻薬全身投与による呼吸抑制などの重篤な副作用をない鎮痛法を開発することである。

## 3. 研究の方法

### (1) 麻薬プロドラッグの開発

麻薬プロドラッグは dendritic 型のプロドラッグ開発を目指す。図に示すように dendritic は化合物の修飾のしやすさ、機能性から現在注目を浴びている物質の一つで、Tel Aviv 大学の Prof. Shabat により dendritic 末端に薬物 (Drug) および酵素基質 (Enzyme Substrate) を結合させたプロドラッグを設計した。このプロドラッグは酵素基質が酵素によって分解されることが引き金となって活性薬物が放出される。実際に抗がん剤であるカンプトテンシンでこのタイプのプロドラッグの開発に成功している。さらに、どのような薬物であっても原理的に適応可能という高い応用性発展性が示唆されている。したがって、薬物として一般的に広く用いられている麻薬である、モルヒネ、フェンタニール、レミフェンタニールを使い、酵素としては疼痛部位や脊髄に存在せず、その遺伝子を導入した際に生体に影響をおよぼさないような酵素を選択していくことが重要である。このためにはいくつかの考えられる候補のプロドラッグを開発し下記に示す In vivo 実験を行う必要がある。

### (2) 行動計測

ナノ・マイクロバブルを用い酵素遺伝子をラット脊髄内に導入し、麻薬プロドラッグ投与後侵害刺激に有用であるかを調べる。さらに、疼痛遺伝子導入後、超短時間性ベーター遮断薬など、新たに鎮痛効果が注目されてい

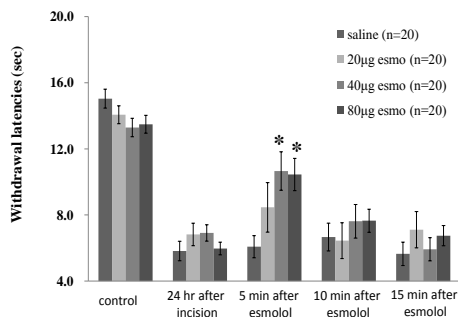
る薬剤の効果が超音波とナノ・マイクロバブルによりどのような修飾を受けるかを明らかとする。プロドラッグ投与、局所的活性化による呼吸抑制などの副作用、遺伝子導入、薬剤投与の安全性についても検討する。

#### 4. 研究成果

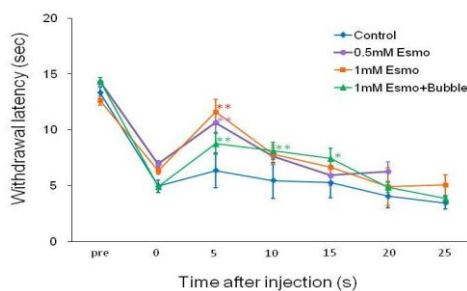
(1) 様々な基質、麻薬の組み合わせをして、麻薬プロドラッグの生成を行ったが、プロドラッグを生成するには至らなかった。したがって、プロドラッグを用いた研究を行うことができず、研究成果の中心は新たな鎮痛薬になりうる薬剤の効果と、鎮痛調整因子遺伝子導入による鎮痛効果であった。

#### (2) 行動計測

①術後痛モデルラットにおいて、超短時間性ベーター遮断薬であるエスマロール脊髄内の投与は鎮痛効果を示したが、その効果は一時的であった。ラット足底切開により、熱刺激に対する退避反応潜時間は24時間後に短縮した。エスマロール脊髄腔内投与により、退避反応潜時間延長で示される抗侵害作用が投与5分後に認められたが、10分後には消失した。



エスマロールにナノバブルを加えその修飾効果を検討したが、ナノバブルはエスマロールの効果を変化させなかった。



②術後痛モデルラットにおいて、マイクログリア抑制作用があるミノサイクリンの脊髄内の投与は鎮痛効果を示したが、その効果は一時的であった。ラット足底切開により、熱・機械刺激に対する退避反応潜時間は24時間後に短縮した。エスマロール脊髄腔内投与により、熱・機械刺激退避反応潜時間延長で示される抗侵害作用が投与30分後に認められたが、120分後には消失した。ミノサイクリンの脊髄内投与は、手術切開により誘発された、BDNF産生を抑制しなかった。

Effect of Minocycline on BDNF production induced by plantar incision in spinal cord

	Contralateral	Ipsilateral
Saline	36.1 ± 11.8	54.2 ± 6.6
Pre	44.3 ± 5.4	58.4 ± 5.9
Post	44.6 ± 5.7	54.4 ± 6.6
Pre + Post	41.7 ± 2.3	55.0 ± 5.8

③ラット脊髄内への疼痛関連調節因子であるGDNFの脊髄遺伝子導入をナノバブルを用いて試みたが、標識たんぱく質の発現を確認できなかった。そこで、手術部位への遺伝子導入を行った。足底部筋肉内にナノバブルとともにGDNF遺伝子を含んだベクターを注入し、その後超音波を与えたところ、筋肉内での遺伝子標識たんぱく質を確認した。

遺伝子導入を行った術後痛モデルラットにおいて、行動評価をしたところ、術後1日以降に、それぞれ自発痛、熱・機械刺激による疼痛反応の抑制が観察された。

#### 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4件)

① Yasuda M, Kido K, Ohtani N, Masaki E. Mast cell stabilization promotes

antinociceptive effects in a mouse model of postoperative pain. J Pain Res 2013;6:161-166.

② Ono H, Ohtani N, Matoba A, Kido K, Yasui Y, Masaki E. Efficacy of intrathecal esmolol on heat evoked responses in a postoperative pain model. Am J Ther 2012 In press.

③ Ohtani N, Yasui Y, Watanabe D, Kitamura M, Shoji S, Masaki E. Perioperative infusion of dexmedetomidine at a high dose reduces postoperative analgesic requirements: A randomized control trial. J Anesth 2011;25:872-878.

④ Yasui Y, Masaki E, Kato F. Esmolol facilitates inhibitory neurotransmission in the substantia gelatinosa of the spinal trigeminal nucleus of the rat. BMC Anesthesiol 2011;11:15. doi: 10.1186/1471-2253-11-15

[学会発表] (計4件)

① Ono H, Matoba A, Kido K, Watanabe D, Ohtani N, Masaki E. Efficacy of Intrathecal Minocycline on Heat and Mechanical Stimuli Evoked Responses in a Postoperative Pain Model. The annual meeting of American society of Anesthesiologist. Washington, DC, Oct 14, 2012: A719.

② 小野瞳、的場あつ子、正木英二. ナノバブルとエスモロールの脊髄内投与の術後疼痛モデルラットにおける抗侵害作用. 日本歯科麻酔学会. 平成23年10月16日. 神戸

③ Ohtani N, Tachibana Y, Aoi A, Yasui Y, Masaki E. Efficacy of intrathecal esmolol on heat-evoked responses in postoperative pain model. The 2010 annual meeting of American society of Anesthesiologist. San Diego, California, Oct 15, 2010A228.

[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  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

正木 英二 (MASAKI EIJI)  
東北大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号：40221577

### (2) 研究分担者

的場 (青井) あつ子 (MATOBA ASTUKO)  
東北大学・大学院歯学研究科・助教  
研究者番号：70547257

栗原 淳 (KURIHARA JUN)  
東北大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号：10508899

安井 豊 (YASUI YUTAKA)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教  
研究者番号：80459651

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：