

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5月31日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791456

研究課題名（和文） 術後痛におけるD体アミノ酸の作用に関する研究

研究課題名（英文） Effect of D-amino acid on postoperative pain

研究代表者

松田 光正（MATSUDA MITSUMASA）

東海大学・医学部・助教

研究者番号：10384918

研究成果の概要（和文）：本研究では、グルタミン酸受容体サブタイプの1つである N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体グリシン結合部位の内在性リガンドである D セリンの下行性疼痛抑制経路における作用を明らかにすることを目的として研究を行った。D セリンを脳室内投与することにより鎮痛効果を示した。また、グルタミン酸受容体サブタイプの1つである α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メソオキサゾール-4-プロピオン酸 (AMPA) 受容体拮抗薬を脳室内に投与すると鎮痛効果を示し、D セリンの鎮痛効果を相加的に増強することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The role of glutamate receptors in descending pain modulation after noxious is unclear. In an animal model of acute and tonic nociception, we examined the effects of intracerebroventricular administration of AMPA receptor antagonist, with/without NMDA receptor agonist. Intracerebroventricular administration of YM 872, AMPA antagonist, significantly and dose-dependently decreased the number of flinches in both early and late phase of the formalin test without abnormal motor function. Intracerebroventricular administration of YM872 with D-serine, an endogenous and obligatory co-agonist for the NMDA receptor glycine site, decreased significantly and dose-dependently the number of flinches in both early and late phase of the formalin test. These results suggest that the inhibition of AMPA receptors and activation of NMDA receptor at the supraspinal level could induce the 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	800000	240000	1040000
2011年度	1400000	420000	1820000
2012年度	800000	240000	1040000
年度			
年度			
総計	3000000	900000	3900000

研究分野：医歯薬学

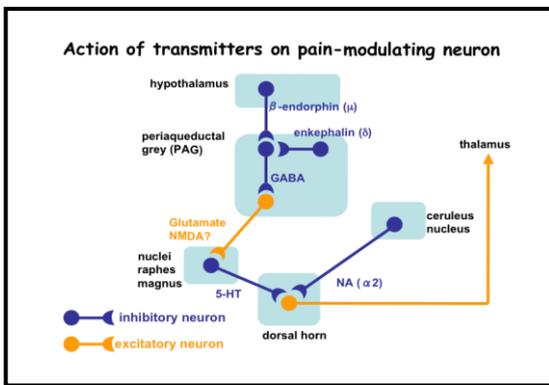
科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：疼痛、ラット、Dセリン、YM-872

1. 研究開始当初の背景

麻薬性鎮痛薬は、下行性疼痛抑制経路などに作用して抗侵害効果を示す。これまでに下行性疼痛抑制経路における大縫線核の N-メチ

ル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体を介してセロトニン系を亢進して抗侵害効果を発現することが知られている。しかし、疼痛時に大縫線核のニューロン上の NMDA 受容体に作



用する内在性リガンドは明らかにされていない。

2. 研究の目的

DセリンはNMDA受容体グリシン結合部位の内在性リガンドでNMDA受容体活性の調節因子である。本研究では、Dセリン代謝系の下行性疼痛抑制経路における作用を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

供試動物；Wistar系雄性ラット（7週齢，180-230g）。

□供試薬物；Dセリン、YM-872を、脳室内へ投与（マイクロシリンジポンプを用いて10 μl/minで投与）

□脳室内カニューレ挿入；Paxinos&Watsonの脳図譜に従いガイドカニューレを挿入し固定/手術後3～5日経過/薬剤はカニューレ（30ゲージ歯科用注射針）を介して第三脳室（AP：-3.0 mm，V：8.0 mm，L：0.0 mm）に投与

慢性疼痛モデル（術後痛モデル）ラットの作成

ラットの後肢足底に1cmの長さで筋膜まで切開、筋肉を剥離し、皮膚を5-0ナイロン糸にて2カ所マットレス縫合を行う。手術後経時的に7日目まで熱刺激による鎮痛試験などを行う。

熱刺激：ラットをホットプレート上にのせ後肢足底（1足は損傷足、他方はSham足）に熱刺激を与え、逃避するまでの時間を測定する。

von Frey test：ラットを網板上にのせ、Von Frey Filamentsを用いて両後肢足底に加重をかけ、逃避する重さを測定し、アロディニアの程度を検査する。

Tail-flick test；薬剤投与後、摂氏55度の温水槽に尾を浸し各時間

（5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120分）で尾を振り上げる迄の潜時を測定（Cut-off timeは5秒）。

Formalin test；5%ホルマリン50μlを前肢足底に注入し、足上げ行動の回数を60分間計測する。急性痛（0～15分）および炎症性持続痛（15～60分）のモデルである。

鎮痛効果は%MPE（percent maximum possible effect）

□ = [(test latency - baseline latency) / (5 - baseline latency)] × 100

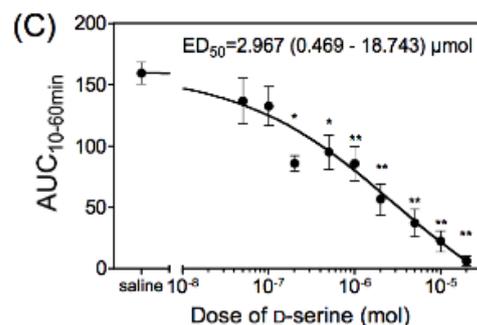
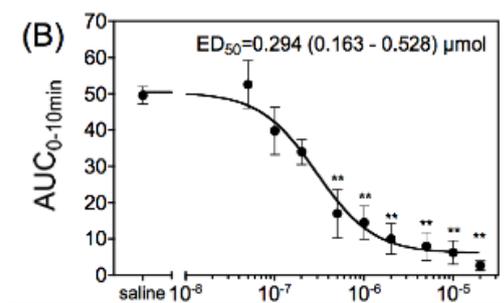
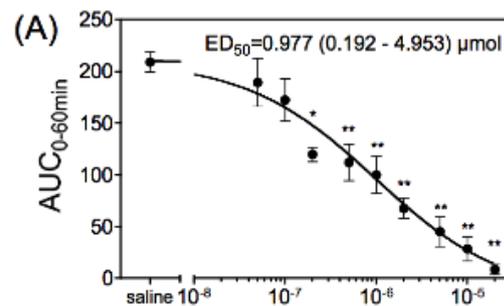
あるいは

□縦軸に%MPE、横軸に時間をとったときのArea under the curve（AUC）で表した。統計処理は%MPE：Two way ANOVA, Dunn's multiple comparison testまたはAUC：Kruskal-Wallis test, Dunn's multiple comparison testで検定し、有意水準0.05とした。

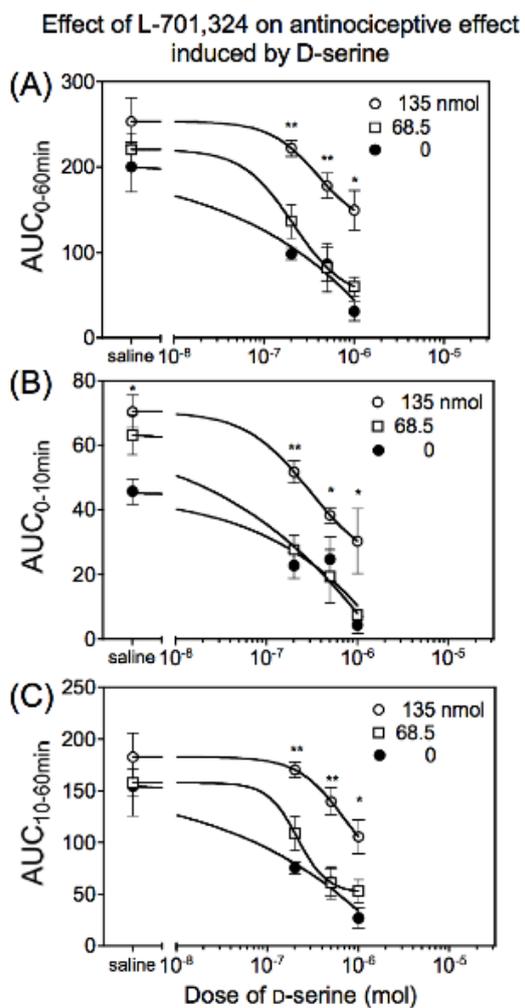
4. 研究成果

(1)ホルマリンテストに対するDセリンの鎮痛効果

ホルマリンテストではホルマリン投与から5分以内（第1相）はホルマリン自身の化学的刺激による急性疼痛、5-40分（第2相）は炎症メディエーターが関与した局所の炎症反応による侵害受容性興奮と脊髄後角に誘発される過敏反応による持続性疼痛が現れる。Dセリン（20nmol-20μmol）を脳室内投与した結果、第1相（下図B）、第2相（下図C）のいずれに対しても用量依存的に鎮痛効果を現すことが示された。

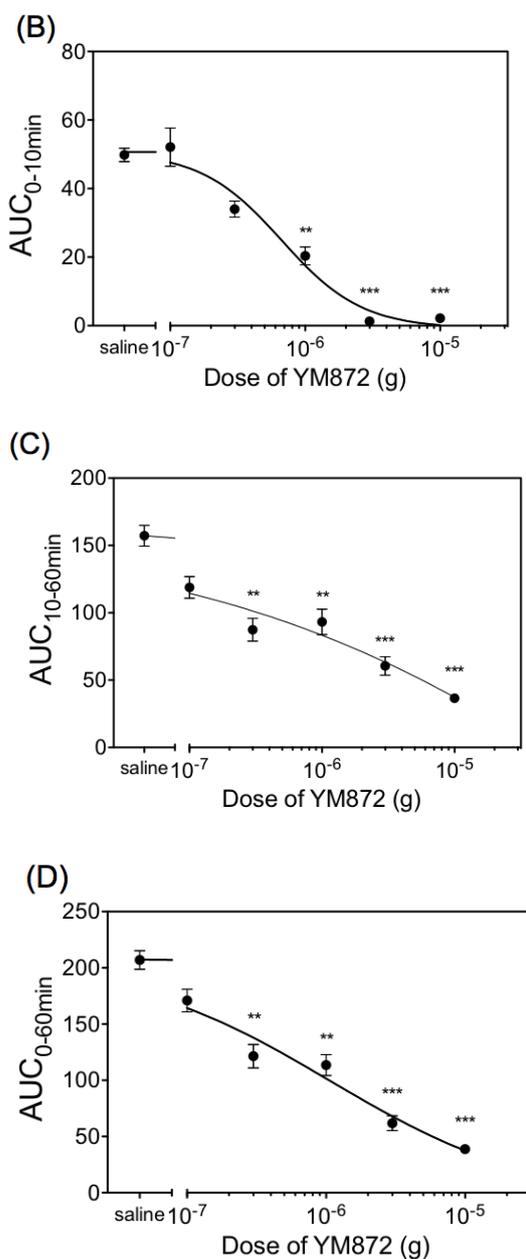
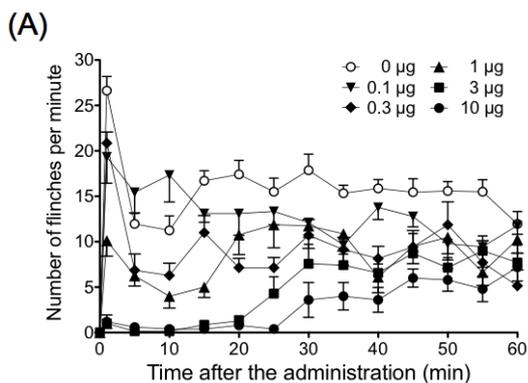


これらの鎮痛効果は NMDA 受容体グリシン結合部位選択的拮抗薬 L-70,324 によって第 1 相(下図 B)、第 2 相(下図 C)のいずれの鎮痛効果も拮抗された。これらの結果は、NMDA 受容体グリシン結合部位の活性化により下行性疼痛抑制経路を賦活化し鎮痛効果を示すことが示唆された。

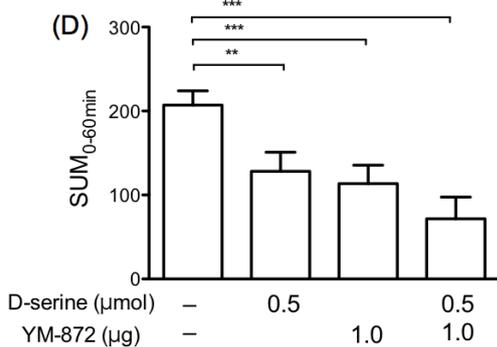
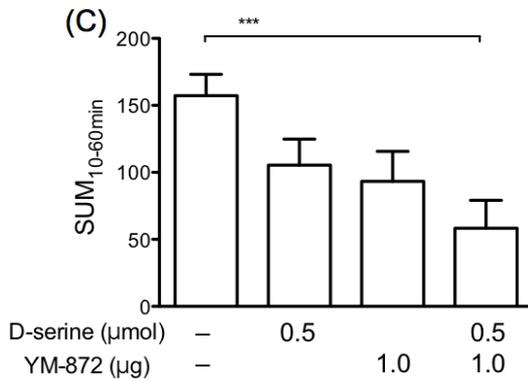
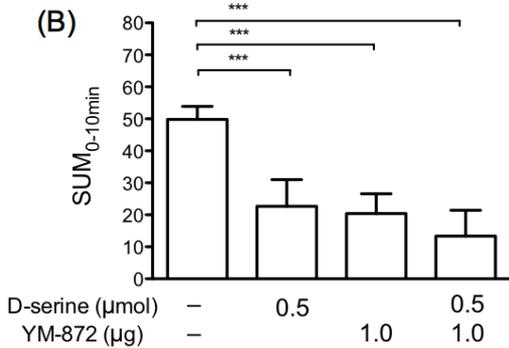
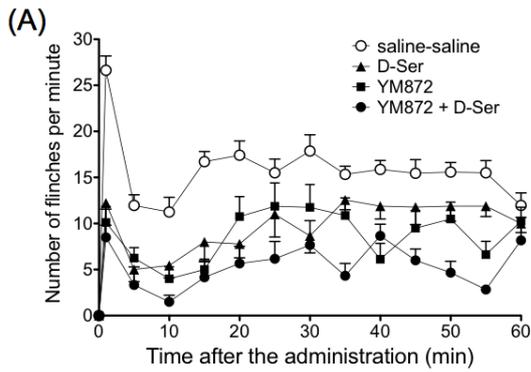


(2)ホルマリンテストに対する YM872 の鎮痛効果

YM872 (100ng-10 μ g) を脳室内投与した結果、第 1 相(下図 B)、第 2 相(下図 C)のいずれに対しても用量依存的に鎮痛効果を現すことが示された。



(3)Dセリン、YM872 共存下における鎮痛効果
Dセリン(0.5 μ mol)とYM-872(1 μ g)を併用した場合、ホルマリンテストの第 1 相(下図 B)、第 2 相(下図 C)に対して鎮痛効果を相加的に表した。



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)

[学会発表] (計 1 件)

1 村田智彦、渡邊真理子、松田光正、吉川正信、高橋滋、鈴木利保 メチオニンエンケファリンの鎮痛効果に及ぼすオピオイドペプチド分解酵素阻害剤の影響 日本麻酔科学会第 58 回学術集会 神戸ポートピア(神戸) 2011 年 5 月 19 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 光正 (MATSUDA MITSUMASA)

東海大学・医学部・助教

研究者番号：1 0 3 8 4 9 1 8