

## 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：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791951

研究課題名（和文） 安全な疼痛抑制遺伝子治療法の確立

研究課題名（英文） Establishment of a safe gene therapy for pain management

研究代表者

的場 あつ子（青井 あつ子）(ATSUKO MATOBA)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：70547257

研究成果の概要（和文）：

術後疼痛モデルラットへの疼痛関連薬剤とナノバブルの髄腔内投与により抗侵害作用持続時間の延長が見られた。また、同ラットの切開部位へ疼痛関連遺伝子をナノバブルによって導入したところ、熱刺激・機械刺激に対する抗侵害作用が見られた。

以上より、疼痛部位・脊髄腔内へナノバブルを利用して疼痛関連分子を導入することで、安全に作用持続時間を延長し、抗侵害効果を得ることが可能であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Intrathecal administration of pain-related drugs and nanobubbles extended duration of antinociceptive action in a postoperative pain rat model. Pain-related gene transfer into surgical site with nanobubbles also produced antinociceptive effects on heat and mechanical stimuli.

These results suggest that introducing pain-related molecules into surgical site or spinal cord using nanobubbles extends the duration of action and produces antinociceptive effect safely.

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	540,000	2,340,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
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：歯学・外科系歯学

キーワード：ナノバブル、分子導入、術後疼痛制御

## 1. 研究開始当初の背景

現在臨床の間では、術後の急性疼痛や癌性疼痛に対する疼痛管理として、局所麻酔薬を局所注入する方法や麻酔薬を静脈内に持続投与する方法が主体であるが、それぞれ作用持続時間が短い、意識レベルの低下や呼吸抑制等の副作用が大きいという欠点がある。この欠点を補うため、近年さまざまな代替方法が考案されている。鎮痛関連遺伝子の神経細胞内への導入もその一つである。その手法としてはウイルスベクターを利用する方法などが考案されているが、安全性の問題が常につきまとう。

これに代わる新たな手法として、超音波とナノバブル（直径1  $\mu\text{m}$ 未満の微小気泡）を利用する分子デリバリー法がある。現在、様々な物理学的方法が医療分野に応用されるようになっている。たとえば、持続的な振動による骨癒合促進作用や、超音波を用いた結石破碎・皮膚からの薬剤吸収促進作用がこれにあたり、本手法も物理学的方法の一つである。本手法はがん治療などの分野で研究が試みられているが、疼痛制御系での報告は皆無である。本手法の原理は、ナノ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、細胞外の分子を細胞内へと移行させると考えられている。ナノバブルはすでに、超音波診断用造影剤として臨床応用されており、人体への安全性が確認されている。また本手法は、これまでの遺伝子導入法と比較して、毒性・免疫抗原性の点でより安全で侵害の少ない手法として近年注目を浴びている。

本研究では、手術後急性疼痛や慢性疼痛、癌性疼痛の制御の手段として、物理学的手法の一つである超音波とナノ・マイクロバブルを利用した分子デリバリー法を用い、疼痛部位や支配神経周囲へ疼痛抑制関連遺伝子を導入することによって、安全かつ副作用が少なく、良好な覚醒状態を維持した鎮痛療法を確立することは、臨床での疼痛制御の質の向上に有意義な研究であると判断し、研究を行った。

## 2. 研究の目的

手術後急性疼痛や慢性疼痛、癌性疼痛の制御の手段として、物理学的手法の一つである超音波とナノ・マイクロバブルを利用した分子デリバリー法を用い、疼痛部位や支配神経周囲へ疼痛抑制関連分子を導入することによって、安全かつ副作用が少なく、良好な覚醒状態を維持した鎮痛療法を確立すること

## 3. 研究の方法

(1) 鎮痛関連薬剤とナノバブルによる疼痛制御に関する研究

### ① ナノバブルの安全性の確認

ナノバブルをラットの髄腔内へ投与後、熱刺激に対する疼痛閾値を測定し、ナノバブルの刺激性の有無を確認した。

### ② ナノバブルと薬剤の髄腔内投与による抗侵害作用の検討

既に静脈内投与で抗侵害作用があると知られている超短時間作用型  $\beta 1$  遮断薬であるエスモロール塩酸塩とナノバブルを術後疼痛モデルラットの髄腔内へ投与し、その抗侵害作用を検討した。術後疼痛モデルラットはブレンナンらの後足切開法にて作成し、髄腔内への投与はヤクシュらの方法で脊髄腔内カテーテルを留置して行った。機械刺激に関しては von Frey フィラメントを用いて逃避反応時の圧力値を測定し、熱刺激に関しては集中放射熱源を用いて逃避反応までの時間を測定することで、疼痛閾値の変化を評価した。

### (2) 鎮痛関連遺伝子の脊髄への導入と疼痛制御に関する研究

グリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF) のプラスミドを術後疼痛モデルラットの髄腔内へ投与し、抗侵害作用を検討した。機械刺激・熱刺激に対する疼痛閾値の変化を評価した。

### (3) 鎮痛関連遺伝子の疼痛部位への導入と疼痛制御に関する研究

グリア細胞株由来神経栄養因子のプラスミドを術後疼痛モデルラットの切開部位へ投与し、抗侵害作用を検討した。機械刺激・熱刺激に対する疼痛閾値の変化を評価した。

## 4. 研究成果

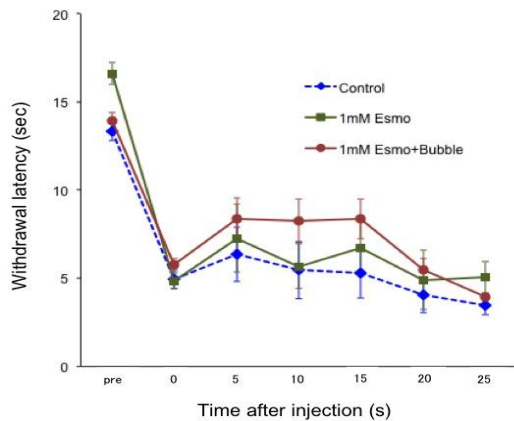
(1) 鎮痛関連薬剤とナノバブルによる疼痛制御に関する研究

### ① ナノバブルの安全性の確認

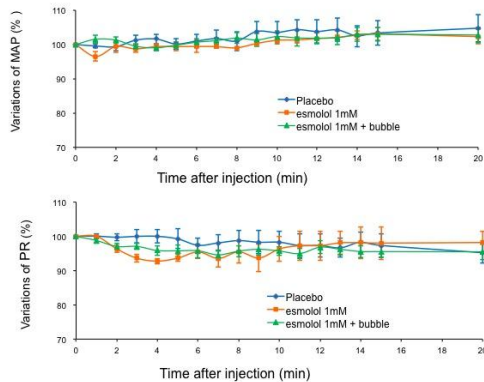
2種類のナノバブルを髄腔内へ投与し、熱刺激に対する疼痛閾値の変化を確認したところ、一方のナノバブルで疼痛閾値の低下が認められたが、ナノバブルを希釈することで侵害刺激を回避することができた。このナノバブルの濃度において分子導入が可能であることは既に確認しており、ラットに侵害刺激を加えることなく安全に分子導入ができる可能性が示唆された。

### ② ナノバブルと薬剤の髄腔内投与による抗侵害作用の検討

エスモロール塩酸塩とナノバブルの髄腔内投与により、熱刺激に対する抗侵害作用持続時間の延長と作用の増強が認められた。



また、この際にエスモロール塩酸塩の作用である $\beta$ 1遮断作用は有意に認められなかった。



以上より、ナノバブルは薬剤の作用持続時間の延長、作用増強を引き起こすため、従来使用されている薬剤の使用量を減量することが可能であると予想される。ゆえに、副作用も減弱させることが可能であると考えられる。

### (2) 鎮痛関連遺伝子の脊髄への導入と疼痛制御に関する研究

グリア細胞株由来神経栄養因子プラスミドを術後疼痛モデルラットの脊髄へ、ナノバブルを利用した分子デリバリー法によって導入を試みたが、抗侵害作用を確認することはできなかった。

### (3) 鎮痛関連遺伝子の疼痛部位への導入と疼痛制御に関する研究

グリア細胞株由来神経栄養因子プラスミドの術後疼痛モデルラットの切開部位への導入により、機械刺激・熱刺激に対する抗侵害作用を確認する事ができた。また、自発痛も抑制した。

本研究の成果は、薬剤の作用持続時間を延長させることから従来使用されている鎮痛

剤の使用量を減少させることができる可能性があり、疼痛部位へ疼痛抑制関連分子を導入することによって、安全かつ副作用が少なく、良好な覚醒状態を維持した鎮痛療法に対する新たな手法を提示するものである。

### 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3件) (全て査読有り)

① 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.

American Journal of Therapeutics. 2013 Feb. in press.

[http://journals.lww.com/americantherapeutics/Abstract/publishahead/Efficacy\\_of\\_Intrathecal\\_Esmolol\\_on\\_Heat\\_Evoked.99447.aspx](http://journals.lww.com/americantherapeutics/Abstract/publishahead/Efficacy_of_Intrathecal_Esmolol_on_Heat_Evoked.99447.aspx)

② 渡辺泰輔、水田健太郎、猪狩敏郎、門馬祐子、的場あつ子、正木英二.

全身麻酔下歯科治療後に代理ミュンヒハウゼン症候群を強く疑うにいたった一例. 日本歯科麻酔学会雑誌 40(2), 2012-04-15, 227-228.

③ Kodama T, Aoi A, Watanabe Y, Horie S, Kodama M, Li L, Chen R, Teramoto N, Morikawa H, Mori S, Fukumoto M.

Evaluation of transfection efficiency in skeletal muscle using nano/microbubbles and ultrasound. Ultrasound Med Biol. 2010 Jul;36(7), 1196-205.

DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.04.016

[学会発表] (計8件)

① Ono H, Matoba A, Kido K, Wayanabe D, Ohtani N, Masaki E.

Efficacy of intrathecal minocycline on heat and mechanical stimuli evoked response in a postoperative pain model American Society of Anesthesiologists 2012 Annual meeting

2012年10月14日 USA ワシントン

② 小野瞳、的場あつ子、佐藤港、堀之内節、正木英二

ミノサイクリン脊髄腔内投与の術後痛モデルラットにおける抗侵害作用 第59回日本麻酔科学会学術集会

2012年6月8日 神戸市

- ③ 小野瞳、的場あつ子、渡辺泰輔、正木英二  
Perioperative Infusion of  
Dexmedetomidine Decreases Analgesic  
consumption : A Meta-Analysis  
第3回 Evidence-based Anesthesia 研究会  
2011年11月5日 那覇市
- ④ 小野瞳、的場あつ子、正木英二  
ナノバブルとエスモロール脊髄腔内投与  
の術後疼痛モデルラットにおける抗侵害  
作用  
第39回日本歯科麻酔学会学術集会  
2011年10月8日 神戸市
- ⑤ 的場あつ子、小野瞳、正木英二  
Assessment of blood loss in bone  
surgery under hypotensive anesthesia  
第2回 Evidence-based Anesthesia 研究会  
2010年11月6日 徳島市
- ⑥ 青井あつ子、水田健太郎、正木英二  
多剤に対するアナフィラキシーを頻回に  
起こした1症例  
第38回日本歯科麻酔学会学術集会  
2010年10月8日 横須賀市
- ⑦ 青井あつ子、渡辺泰輔、水田健太郎、正  
木英二  
多剤アレルギーの既往を有する患者の全  
身麻酔下歯科治療経験  
第25回歯科麻酔学会東北地方会  
2010年8月1日 秋田市
- ⑧ Ohtani N, Tachibana Y, Aoi A, Yasui Y,  
Masaki E.  
Efficacy of intrathecal esmolol of  
heat evoked responses in a  
postoperative pain model  
American Society of Anesthesiologists  
2010 Annual meeting  
2010年10月18日 USA サンディエゴ

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

的場 あつ子 (青井 あつ子)

(ATSUKO MATOBA)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：70547257