

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593046

研究課題名(和文)ドーパミン性抗侵害神経をターゲットとした難治性疼痛の克服戦略

研究課題名(英文)Therapeutic strategy of intractable pain as targeting to antinociceptive dopaminergic neurons.

## 研究代表者

大谷 法理(Ohtani, Norimasa)

東北大学・歯学研究科(研究院)・大学院非常勤講師

研究者番号：60338879

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：術後痛の発生にドーパミン作動性抗侵害神経活動の修飾が関わっているのかを明らかにするために、D2作動薬・遮断薬の効果調べた。さらに、切開部位でのヒスタミンの関与、脊髄レベルでのBDNF産生の関連性もあわせて検討した。D2作動薬により抗侵害作用が認められたが遮断薬は明らかな効果を示さなかった。肥満細胞安定剤は抗侵害作用を示し、手術切開により産生されたBDNFはミクログリア抑制剤であるミノサイクリンにより抑制されなかった。以上より、ドーパミン作動性抗侵害神経活動は手術切開により修飾を受けていないこと、術後痛軽減に肥満細胞安定は有効であるが、ミノサイクリンの効果が期待できないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To investigate whether the modification of dopamine antinociceptive neuron is involved in development of postoperative pain, we examined effects of IT administration of D2 agonist and antagonist on pain responses in a postoperative pain model. We also examined effects of a mast cell stabilizer, cromoglycate, and a microglia inhibitor, minocycline, on pain responses and BDNF production in the spinal cord, respectively. D2 agonist showed antinociceptive effects but D2 agonist did not change any pain responses. In addition, cromoglycate reduced pain behaviors whereas minocycline did not decrease both the pain threshold and the BDNF production. These results suggest that the modification of dopamine antinociceptive neuron could not be involved in the development of postoperative pain.

研究分野：麻酔疼痛管理学

キーワード：術後痛 ドーパミン BDNF 下行性抑制性伝導路 鎮痛薬

## 1. 研究開始当初の背景

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、この術後疼痛状態を十分にコントロールすることは困難である。手術後、約半数の人がこれらの痛みに悩んでいると報告されている。

痛覚伝導路には下行性抑制性伝導路をはじめとする複雑な疼痛制御機構があり、手術による組織損傷で放出される神経因子、NGF(nerve growth factor), BDNF (brain-derived neurotrophic factor)が痛覚伝導路に存在する神経細胞に作用し、抑制性の伝達を興奮性に変えることが複雑な術後疼痛の一因とされている。したがって、末梢、中枢神経レベルでこの因子を調節することで鎮痛作用が認められることが明らかとなっている(Kang S et.al., Pain 2010, Hyashida K et.al., Pain 2008)。

下行性抑制性伝導路は視床下部、脳幹部から脊髄後角に投射している系で、主にノルアドレナリン、セロトニン、ドーパミンの3系統がよく知られているが、ドーパミン系の果たす役割についての報告は少ない。近年、脊髄後角でドーパミン2 (D2)レセプター刺激薬が痛覚伝導細胞の興奮性を抑制し(Taniguti W et al, Pain 2011), また、D2レセプターの抑制により疼痛反応が増強される(Lapirot O et.al., Pain 2011)ことが明らかとなってきた。これらの事実は下行性抑制性伝導路に存在するドーパミン作動性抗侵害神経が脊髄レベルで疼痛制御に大きな役割を果たしている可能性を示している。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は手術侵襲により放出される神経修飾因子等により、いまだその役割が明らかとされていないドーパ

ミン作動性抗侵害神経が修飾を受け、複雑な術後痛が発生するのか、そしてそれらを制御する方法を検討することである。

## 3. 研究の方法

術後痛ラットモデルにおいて超短時間性ベーター遮断薬であるエスモロール、D2レセプター作動薬、遮断薬のキンピロール、スルピリド、マイクログリア活性抑制剤のミノサイクリンを脊髄内に投与し、機械、熱刺激逃避反応時間を測定し、また、健側と比較することにより、それぞれのベーター遮断薬、ならびにドーパミン抗侵害神経、脊髄マイクログリアの術後痛に与える影響を調べ、また、行動評価の後に脊髄を摘出しBDNF産生を免疫組織学的に評価した。

(1)ラット脊髄カテーテルの挿入:ヤクシュらの方法により脊髄カテーテル挿入ラットを作成。

(2)術後痛モデルラットの作成:術後痛モデルはブレンナンらの方法でラット後足切開により作成。

(3)薬剤投与:脊髄カテーテルよりマイクロシリンジを用い薬剤を注入。

(4)鎮痛効果の測定:Von Frey filamentによる機械刺激、赤外線熱刺激試験により、経時的に評価する。

(5)抗BDNF抗体を用い、脊髄後角でのBDNF産生を評価する。

さらに、局所ヒスタミン産生の術後痛へ影響を評価するため、肥満細胞安定剤のクロモグリケイドを切開足底に投与し、機械・熱刺激に対する反応を術後痛マウスモデルを用い調べた。

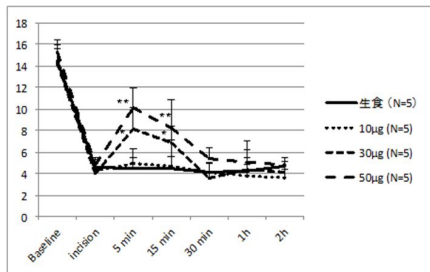
## 4. 研究成果

(1)ドーパミン抗侵害神経

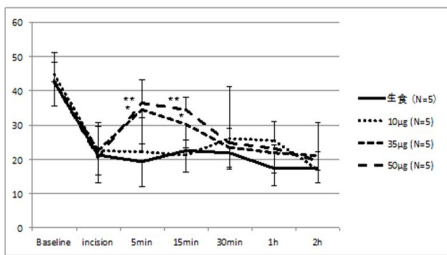
D2作動薬の術後痛に与える影響

D2作動薬のキンピロールにより足底切開により生じた、熱・機械刺激による疼痛過敏は抑制されたがその効果は一時的であった。

Quinpirole 10 $\mu$ g, 30 $\mu$ g, 50 $\mu$ g 熱刺激



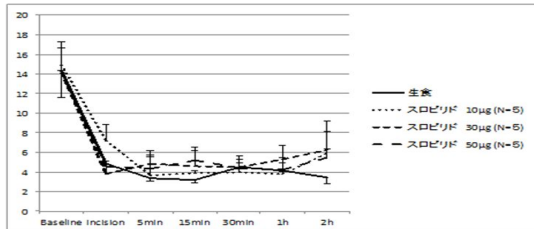
Quinpirole 10 $\mu$ g, 30 $\mu$ g, 50 $\mu$ g 機械刺激



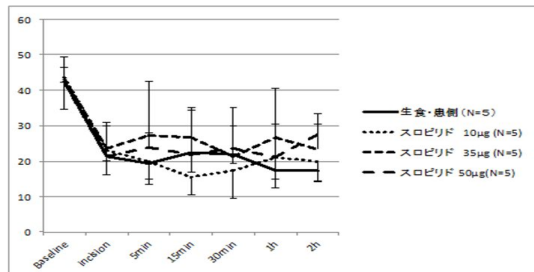
### D 2 遮断薬の術後痛に与える影響

D 2 作動薬のスルピリドは足底切開により生じた、熱・機械刺激による疼痛過敏反応には影響を及ぼさなかった。

Sulpiride 10 $\mu$ g, 30 $\mu$ g, 50 $\mu$ g 熱刺激



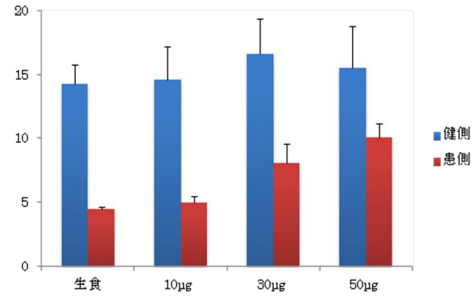
Sulpiride 10 $\mu$ g, 30 $\mu$ g, 50 $\mu$ g 機械刺激



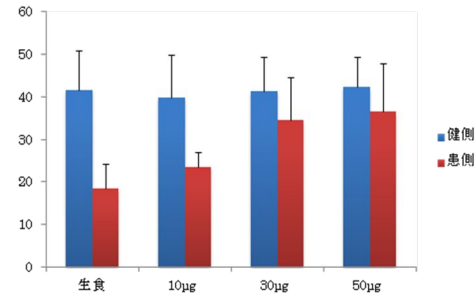
D 2 作動薬・遮断薬の手術側・健常側に与える影響

キンピロールが手術側で鎮痛効果を認めただのに対しキンピロール・スルピリドとも健

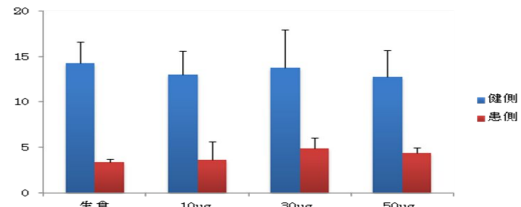
常側では術後痛に対し影響を与えなかった。



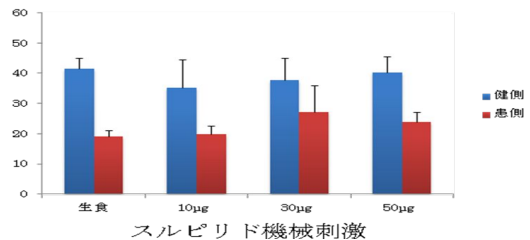
キンピロール 熱刺激



キンピロール 機械刺激



スルピリド熱刺激

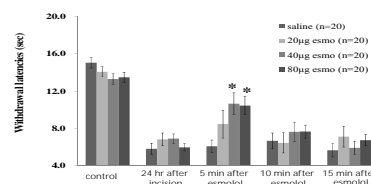


スルピリド機械刺激

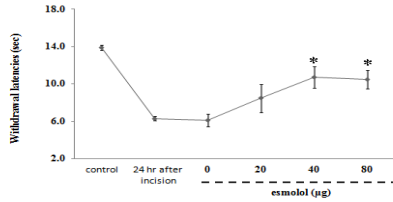
### (2) エスモロール

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モ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、熱刺激に対する回避反応潜時間は24時間後に短縮した。エスモロール脊髄腔内投与により、回避反応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。

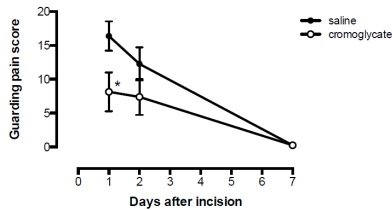


エスロールの効果は濃度依存的であった。

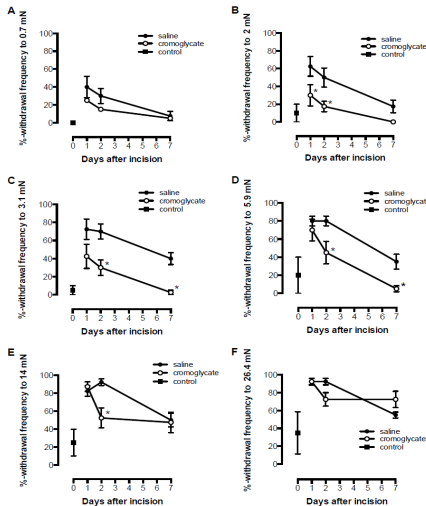


(3) 肥満細胞が術後痛に与える影響

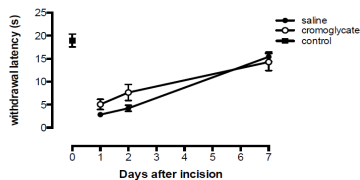
肥満細胞安定剤であるクロモグリケイドの手術部位への投与により、自発痛、熱・機械刺激による疼痛反応は抑制された。



Effect of cromoglycate on guarding pain Scores are expressed as mean  $\pm$  SD values. \* $P < 0.05$ .



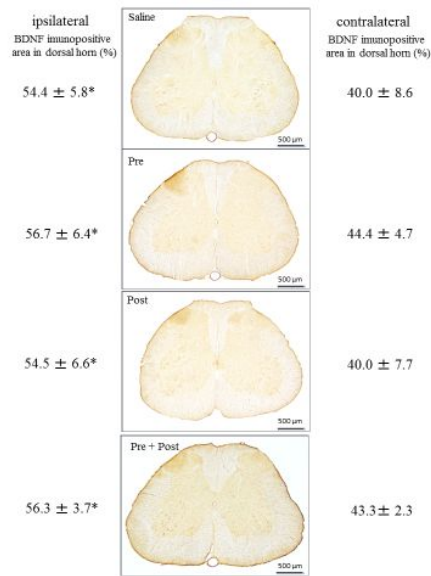
Effect of cromoglycate on mechanical allodynia. Response frequency scores are expressed as mean  $\pm$  SD values. A: 0.7 mN; B: 2 mN; C: 3.1 mN; D: 5.9 mN; E: 14 mN; F: 26.4 mN. \* $P < 0.05$ .



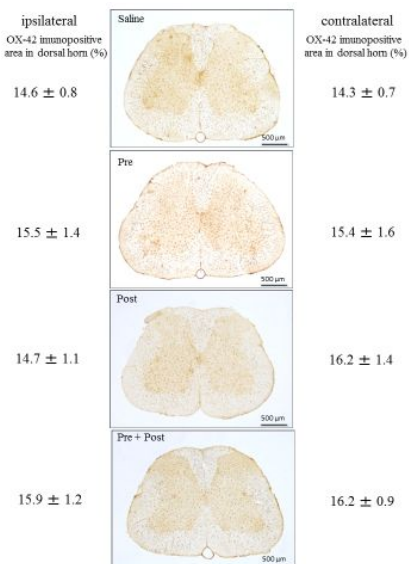
Effect of cromoglycate on heat withdrawal latency. Heat withdrawal latency scores are expressed as mean  $\pm$  SD values. \* $P < 0.05$

(4) 手術切開が脊髄BDNF産生に与える影響

足底切開により、脊髄後角でのBDNF過剰産生が、術後1日目に認められた。増加したBDNFはミクログリア活性抑制剤のミノサイクリンの、術前、術後、術前+術後脊髄内投与により抑制されなかった。また、ミクログリア活性は足底切開では認められず、したがって、ミノサイクリン投与により影響を受けなかった。



手術切開後のBDNF産生



手術切開後のミクログリア活性

(5) 考察

D 2 作動薬により術後痛は抑制され、遮断薬が何の効果を示さなかったこと、また、健常側との比較で、作動薬・遮断薬ともに奇異的な効果を示さなかったことから、下向性抑制性伝道路のドーパミン抗侵害神経は手術切開により修飾(抑制性の伝達が興奮性になるような)を受けない可能性が高いことが示された。しかしながら、術後鎮痛効果が見られることから、抗侵害ドーパミン作動性神経系は何らかの有用な疼痛管理方法のターゲットとなりうるかもしれない。

エスモロールは短時間作用性の抗侵害効果を示したため、有用な術後鎮痛薬となりうる可能性があるが、持続投与など作用時間を延長させる工夫が必要である。

肥満細胞の安定化により抗侵害効果が術後痛モデルで見られたため、切開局所でのクロモグリケイドの投与は術後痛管理に有用であるかもしれないが、肥満細胞の安定化が脊髄BDNF産生や1次神経異常興奮状態に与える影響をさらに検討する必要性がある。

手術切開により過剰産生されたBDNFはミクログリア活性抑制剤のミノサイクリンにより抑制されなかったことより、BDNFは1次神経など他の放出源より産生されたと考えられ、また、脊髄後角のBDNF過剰産生は抗侵害ドーパミン神経系には影響を及ぼさないと思われた。

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2件)

- (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. Am J Ther. 2015; 22;111-6. doi:10.1097/MJT.0b013e318274e0a1.

- (2) 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. doi:10.2147/JPR.S41527.

[学会発表](計1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 USA, Oct 14, 2012: A719.

[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:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大谷法理(OHTANI NORIMASA)  
東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師  
研究者番号: 60338879

(2) 研究分担者

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

城戸幹太 (KIDO KANTA)  
東北大学・大学病院・助教  
研究者番号：40343032

水田健太郎 (MIZUTA KENTARO)  
東北大学・大学院歯学研究科・準教授  
研究者番号：40455796

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：