

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659691

研究課題名(和文) 青斑核を活性化する薬剤とその機序 下行性抑制系の強化による神経障害性疼痛の治療

研究課題名(英文) Pharmacological mechanisms of locus coeruleus activation -recruitment of descending inhibition for treatment of neuropathic pain-

研究代表者

小幡 英章 (Obata, Hideaki)

群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20302482

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：プレガバリンやガバペンチン(電位依存性Caチャンネル α_2 サブユニットリガンド)は、神経障害性疼痛の治療に第一選択であるが、過去の報告ではこれらの薬剤は下行性抑制系を活性化することが示唆されている。本研究ではプレガバリンの全身投与が、青斑核を活性化して脊髄でノルアドレナリンを増加させ、 α_2 アドレナリン受容体を介して鎮痛作用を発揮するとの結果を得た。またプレガバリンは神経障害性疼痛ばかりでなく、急性痛をも抑制していた。青斑核を活性化する機序に関しては現在も研究を継続中である。

研究成果の概要(英文)：Pregabalin and gabapentin are often used as first-line drugs in the treatment of neuropathic pain. Previous studies suggest that these drugs activate descending inhibitory systems. In the present project, using rats, we observed that systemic administration of pregabalin increased noradrenaline level in the dorsal horn of the lumbar spinal cord through activation of locus coeruleus. The increased noradrenaline inhibit not only neuropathic pain but also acute pain via spinal α_2 adrenoceptors. The mechanisms by which pregabalin activates locus coeruleus are still under active investigation.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：ノルアドレナリン 脊髄 α_2 受容体 ラット

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛の治療法の開発は医療・医学の緊急課題である。治療は薬物療法が主体であり、第一選択となる薬剤は抗うつ薬や電位依存性カルシウムチャンネル $\alpha_2\delta$ サブユニットのリガンド(プレガバリン・ガバペンチン)などである。一方で神経障害性疼痛の治療においては、脊髄におけるノルアドレナリン(NA)の重要性が知られている。たとえば、抗うつ薬は再取り込み抑制によって脊髄後角でNAを増加させ(Nakajima, Obata et al., Pain 2012;153:990-7)、神経障害性疼痛を抑制することが申請者らの研究で明らかになっている。

脳幹から脊髄後角に投射する下行性抑制系の経路の一つ、NA作動性ニューロンは、青斑核(locus coeruleus: LC)から脊髄後角に投射する。脊髄後角で放出されたNAは α_2 アドレナリン受容体を介して鎮痛作用を発揮し、特に神経障害性疼痛に対してはその作用が増強する。一方の5-HT作動性ニューロンはrostral ventromedial medulla(RVM)に細胞体を持ち、神経障害性疼痛時には、痛みを増強する性質がある。このことからLCを特異的に活性化する薬剤は、脊髄後角でNAだけを放出するため、神経障害性疼痛の治療において特に有効な薬剤となる。最近の我々の研究で、ガバペンチンはLCの細胞を直接活性化して脊髄後角にNAを放出し、神経障害性疼痛を抑制することが明らかになっている(Hayashida, Obata et al., Anesthesiology 2008;109:1077-84)。

2. 研究の目的

本邦において神経障害性疼痛の第一選択薬とされるプレガバリンが、LCを活性化することによって神経障害性疼痛を抑制するのかについて検討することと、仮にそのようであればLCを活性化する機序を明らかにすることを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 行動実験

動物は200-220gの雄Sprague-Dawleyラットを用いた。正常動物と神経障害性疼痛モデル(Spinal nerve ligation: SNL)を用いてプレガバリンの鎮痛効果を比較した。Kim and Chung(1992)の変法によってSNLを作成する。イソフルラン麻酔下に右側L5脊髄神経を5.0絹糸で強く結紮し切断する。作成から2-3W後に実験を行った。鎮痛効果はPaw-pressureテストによって下肢の逃避閾値を測定することによって定量化した。すなわち、機械的侵害刺激を動物の後肢に与え、逃避した時の圧を逃避閾値として算出する。正常ラットの逃避閾値は150g程度であるが、SNLラットでは神経切断後数日で100g前後まで低下する。正常ラットに薬剤を投与し、逃避閾値を測定した時には急性痛に対する鎮痛作用を判定できる。一方、SNLラットでは、機械的痛覚過敏に対する効果を判定することになる。すなわちこの方法によって急性痛への反応と神経障害性疼痛への効果を比較できる。

(2) マイクロダイアライシス

脊髄後角におけるNAの変化をマイクロダイアライシスによって検討した。すなわちイソフルラン麻酔下に椎弓切除し脊髄腰膨大部を露出する。右側(L5神経切断側)の硬膜を僅かに切開し、膜長1mmの針型プローブ(A-8-01, Eicom)を水平面から20度の角度で1mm挿入する。リングル液を1 μ l/分で灌流し15分間隔のサンプルを採取する。120分ほど灌流した後、30分間(2サンプル)のbaseline値を測定し薬剤を投与する。サンプルは、オートインジェクタでHTEC-500 analyzing system(Eicom)に打ち込まれ、高速液体クロマトグラフィー法でNA濃度を測定する。プレガバリン(10mg/kg)を腹腔内投与し、SNLと正常ラットでNAの放出の違

いを検討した。

4. 研究成果

(1) 行動実験

正常動物の逃避閾値は 150 g 前後であった SNL を行うことによって 100 g 程度まで低下した。SNL ラットにプレガバリンを腹腔内投与 (1、3、10 mg/kg) すると、投与量依存性に逃避閾値を増加させ、3 mg/kg と 10 mg/kg の投与ではほぼ SNL 作成前の値まで逃避閾値が増加し、その効果は少なくとも 3 時間以上持続していた。10 mg/kg の鎮痛作用は α_2 アドレナリン受容体拮抗薬であるイダゾキササン 30 μg を髄腔内に投与するとほぼ消失した。よってこのことからプレガバリンの SNL に対する鎮痛作用は脊髄の NA の増加が関与している可能性が考えられた。

次に正常動物を用いて同様の実験を行った。正常動物に対してプレガバリンは鎮痛作用を發揮しないのではないかと予想していたが、それに反してプレガバリンの腹腔内投与 (1、3、10 mg/kg) では正常動物でも鎮痛作用を發揮し、10 mg/kg の投与では逃避閾値が 150 g 前後から 200 g まで増加し、少なくとも 3 時間以上持続した。その作用はやはりイダゾキササン 30 μg を髄腔内投与で拮抗された。

(2) マイクロダイアライシス

プレガバリン 10 mg/kg の投与を腹腔内投与すると、正常ラット、SNL ラットのいずれにおいても生食投与群 (対照群) と比較して脊髄の NA が増加し、その作用はやはり 3 時間以上持続していた。一方、NA と同様に下行性抑制系の重要な神経伝達物質であるセロトニンは増加しなかった。

(3) 結果のまとめと今後の予定

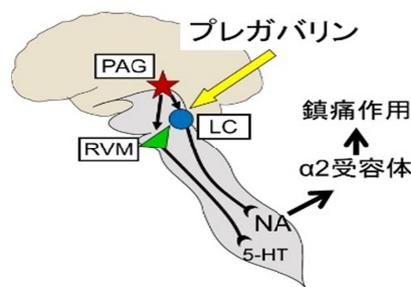
以上の結果をまとめると

- 腹腔内投与したプレガバリンは青斑核を特異的に刺激して、脊髄で NA を増加させる。
- 脊髄で増加した NA は α_2 アドレナリン受

容体に作用して鎮痛作用を発現する。

- この作用は正常動物と SNL ラットでのいずれにおいても起こる。

以上のことが明らかとなった。現在は青斑核での免疫染色法やマイクロダイアライシス法によってプレガバリンの腹腔内投与が青斑核を刺激する機序に関して研究を進めている。これら研究データは未発表であり、十分なデータがそろい次第、学会、論文等で順次発表する予定である。



上図. 実験結果のまとめ

プレガバリンは下行性抑制系の中でもノルアドレナリン (NA) の核である青斑核 (LC) を特異的に活性化して脊髄後角で NA を増加させる。NA は α_2 受容体に結合し鎮痛作用を發揮する。この作用は神経障害性疼痛だけでなく、急性痛に対しても認められる作用であることが示唆された。

(4) 研究協力者らの研究成果

本研究は米国 Wake Forest 大学麻酔科の Ken-ichiro Hayashida 氏を研究協力者としている。Hayashida 氏らの報告によれば、プレガバリンや、作用部位がプレガバリンとほとんど同じであると考えられるガバペンチンを、青斑核にマイクロインジェクションすると、周囲の GABA 濃度が低下することを報告している (Yoshizumi et al., Anesthesiology 2012;116:1347-53)。またガバペンチンやプレガバリンは青斑核周囲のアストロサイトからのグルタミン酸の放出を増加させるとの研究結果も得られている。すなわち、プレガ

バリヤガバペンチンは GABA の減少やグルタミン酸の増加によって青斑核の細胞を活性化し、脊髄後角で NA を増加させることが示唆されている。

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 11 件)

Kimura M, Obata H, Saito S. Peripheral nerve injury reduces analgesic effects of systemic morphine via spinal 5-hydroxytryptamine 3 receptors.

Anesthesiology 掲載決定 査読有

小幡 英章, 神経障害性疼痛の疫学, 臨床麻酔 査読無 38;2014:491-498.

Kimura M, Hayashida K, Eisenach JC, Saito S, Obata H. Relief of hypersensitivity after nerve injury from systemic donepezil involves spinal cholinergic and γ -amino butyric acid (GABA) mechanisms.

Anesthesiology 査読有 118;2013:173-180. doi: 10.1097/ALN.0b013e318277a81c

Suto T, Obata H, Tobe M, Oku H, Yokoko H, Nakazato Y, Saito S. Long-term effect of epidural injection with slow-release lidocaine particles in a rat model of postoperative pain. Br J Anaesth 査読有

109;2012:957-967. doi: 10.1093/bja/aes302.

荻野 祐一, 小幡 英章. 整形外科関連疾患での慢性の痛み III. 部位別の治療方針. 5) 慢性痛, 術後慢性痛, ペインクリニック 査読無 34;2013:S205 ~ 212

Kimura M, Saito S, Obata H.

Dexmedetomidine decreases hyperalgesia in neuropathic pain by increasing acetylcholine in the spinal cord. Neurosci Lett 査読有 529; 2012:70-74. doi:

10.1016/j.neulet.2012.08.008.

Hayashida K, Kimura M, Yoshizumi M,

Hobo S, Obata H, Eisenach JC. Ondansetron

reverses anti-hypersensitivity from clonidine in rats following peripheral nerve injury:

Role of γ -amino butyric acid (GABA) in α 2-adrenoceptor and 5-HT₃ serotonin receptor analgesia. Anesthesiology 査読有 117;2012:389-398. doi:

10.1097/ALN.0b013e318260d381.

Kimura M, Obata H, Saito S.

Antihypersensitivity effects of tramadol hydrochloride in a rat model of postoperative pain. Anesth Analg 査読有

115;2012:443-449. doi:

10.1213/ANE.0b013e31825683c3.

小幡 英章. 痛みのバイオロジー下行性制御: 抑制と促進. Lisa 査読無 19;

2012;484-488.

木村 雅文, 小幡 英章. 術後鎮痛の薬理学的研究, 臨床麻酔 査読無

36;2012:862-868.

木村 雅文, 小幡 英章. ترامドール, 臨床麻酔 査読無 35; 2011;1669-1674.

〔学会発表〕(計 16 件)

木村 雅文, 小幡 英章, 斎藤 繁. 神経障害性疼痛に対するモルヒネの鎮痛作用の減弱に脊髄の 5-HT₃ 受容体が関与している. 日本麻酔科学会第 61 回大会, 2014 年 5 月 15 日, 横浜市.

杉峯 里美, 小幡 英章, 高澤 知規, 斎藤 繁. 健常人の内因性鎮痛系の機能測定. 日本麻酔科学会第 61 回大会, 2014 年 5 月 15 日, 横浜市.

星野 一, 小幡 英章, 斎藤 繁. 神経障害性疼痛モデルラットにおける髄腔内ブプロピオンの鎮痛効果および脊髄後角でのノルアドレナリン・ドパミンの継時的推移. 日本麻酔科学会第 61 回大会, 2014 年 5 月 16 日, 横浜市.

杉峯 里美, 荻野 祐一, 川道 拓東, 小幡 英章, 斎藤 繁. 慢性疼痛患者の多面的評価と脳形態学的考察. 日本麻酔科学会第

61 回大会、2014 年 5 月 16 日、横浜市。
Kimura M, Obata H, Saito S. Peripheral nerve injury reduces antinociceptive effects of systemic morphine via spinal 5-HT3 receptors. The European Anesthesiology Congress Euroanesthesia 2013, June 2, 2013, Barcelona,
小幡 英章、痛みの下行性制御、第 7 回日本緩和医療薬学会年会ランチョンセミナー、2013 年 9 月 15 日、さいたま市。
小幡 英章、プレオープンングシンポジウム ザ討論 I 痛みの基礎 どのくらい理解していますか？ 3)痛みの伝達と抑制 -生理的な痛みと異常な痛み- 日本ペインクリニック学会 47 回大会 2013 年 7 月 13 日、さいたま市。
小幡 英章、神経障害性疼痛の治療における抗うつ薬のエビデンス、日本ペインクリニック学会 47 回大会、ランチョンセミナー 2013 年 7 月 14 日、さいたま市。
星野 一、小幡 英章、齋藤 繁。神経障害痛ラットモデルにおける髄腔内ブプロピオンの鎮痛効果。日本ペインクリニック学会第 47 回大会、2013 年 7 月 14 日、さいたま市。
小幡 英章、神経可塑性から痛みの治療へ -神経損傷後の慢性痛の機序- 日本麻酔科学会第 60 回学術集会 2013 年 5 月 24 日、札幌市。
木村 雅文、荻野 祐一、中島 邦枝、肥塚 史郎、小幡 英章、齋藤 繁。慢性痛改善に有効な「慢性痛リハビリテーションプラン」。日本麻酔科学会第 60 回学術集会、札幌市、2013 年 5 月 24 日、札幌市。
Obata H, Kimura M, Saito S. Systemic donepezil reduces hypersensitivity after nerve injury by increasing acetylcholine concentration to induce-subsequent GABA release in the spinal cord. 14th world congress on pain, August 31, 2012, Milan.

Takai Y, Yamamoto-Mitani N, Obata H, Kanda K, Saito S. Experience and perception of older persons with chronic pain: a quantitative research. 14th world congress on pain, August 28, 2012, Milan.

木村 雅文、戸部 賢、荻野 祐一、肥塚 史郎、小幡 英章、齋藤 繁。「慢性痛リハビリテーションプラン」を開催して。日本ペインクリニック学会第 46 回大会、2012 年 7 月 6 日、松江市。

木村 雅文、小幡 英章、齋藤 繁。神経障害性疼痛時のアセチルコリンを介した鎮痛作用。日本麻酔科学会第 59 回学術集会、2012 年 6 月 8 日、神戸市。

中島 邦枝、小幡 英章、齋藤 繁。神経障害性疼痛時における抗うつ薬の鎮痛機序。日本麻酔科学会第 59 回学術集会、2012 年 6 月 7 日、神戸市。

〔図書〕(計 3 件)

1. 小幡 英章、文光堂、痛みの薬物療法、2013、pp. 107-110
2. 小幡 英章、文光堂、痛みの薬物療法、2013、pp. 111-113
3. 小幡 英章、齋藤 繁、中山書店、麻酔科医のための周術期疼痛管理、2014、pp. 14-21

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小幡 英章 (OBATA HIDEAKI)
群馬大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：20302482

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

三枝 里江 (MIEDA RIE)
群馬大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10400772

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)