

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26293343

研究課題名(和文) μ オピオイドによる急性耐性、痛覚過敏の細胞内シグナル機序の解明

研究課題名(英文) Underlying intracellular signal mechanism of acute tolerance and hyperalgesia induced by mu opioids

研究代表者

河野 達郎 (KOHNO, Tatsuro)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：00313536

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：オピオイド鎮痛薬は強力な鎮痛薬であるが、鎮痛効果の急速な減弱(急性耐性)や痛みの増強(痛覚過敏)を引き起こすことが報告されている。しかし、これらの現象は機序が明らかにされていないだけでなく、その存在さえも議論の分かれるところである。脊髄スライス標本およびin vivo脊髄標本へのレミフェンタニルの脊髄への灌流投与は興奮性シナプス後電流の頻度を減少させたが、投与終了後に頻度の増加は認められなかった。これらの結果から、レミフェンタニルは脊髄後角ニューロンの μ オピオイド受容体を介して、興奮性シナプス伝達を抑制することがわかった。しかし、これまで言われている急性耐性や痛覚過敏は確認できなかった。

研究成果の概要(英文)：Opioid analgesic is a powerful analgesic, but it is reported to cause the rapid diminishment (acute tolerance) of the analgesic effect and augmentation of the pain (hyperalgesia). However, underlying mechanism of these phenomena is unclear and even the presence of them is controversial. Administration of remifentanyl to spinal cord slice preparation and an in vivo spinal cord surface decreased the frequency of the excitatory postsynaptic currents, but the increase of the frequency was not found after administration of remifentanyl. From these results, remifentanyl inhibited excitatory synapse transmission of the spinal cord dorsal neurons through μ opioid receptor. However, we did not confirm the acute tolerance and hyperalgesia induced by remifentanyl.

研究分野：麻酔科学

キーワード： μ オピオイド 急性耐性 痛覚過敏

1. 研究開始当初の背景

μ オピオイド鎮痛薬は周術期やペインクリニックに広く使用されており、良好な鎮痛効果を持つことは明らかにされている。しかし、鎮痛効果の急速な減弱や痛みの増強を引き起こすことがあり、それぞれ急性耐性、痛覚過敏と言われている。良く知られている現象にも関わらず、術中にオピオイドの鎮痛効果が減弱した、術中に高用量のオピオイドを使うと術後痛が増強したといった症例報告や観察研究はあまりない。臨床研究でこれらの現象の有無を検討するには、オピオイド使用量の増減、術後痛の程度、併用する麻酔薬の消費量の増減など間接的に評価する方法に限られる。すなわち、臨床ではこれらの現象を直接証明することは非常に困難であり、さらに両者を区別することも難しい。動物実験でこれらの現象を説明する機序として、 μ 受容体の脱感作や細胞内への内在化、グルタミン酸 NMDA 受容体の活性化を介したニューロンの易興奮性、脊髄後角ニューロンでの興奮性シナプス伝達の長期増強などが報告されている。しかし、それぞれの報告で μ オピオイドの種類や投与量、投与方法が異なるため、結果や解釈が異なる。さらに、急性耐性と痛覚過敏を区別していない、培養細胞などの *in vitro*での報告が多い。すなわち、急性耐性、痛覚過敏が生体で実際に上記の機序で起こっているのか、両者は共通の機序なのかなどは完全に解明されていない。加えて、これらの存在を否定する報告もあり、議論の分かれるところである。申請者はマウスに高用量のレミフェンタニルを投与したが、急性耐性、痛覚過敏とも認められなかった。また、ラットの *in vitro* 脊髄標本を用いて、後角ニューロンでの μ 受容体作動薬に対する作用を解析したが、興奮性シナプス伝達の長期増強は認められなかった。

2. 研究の目的

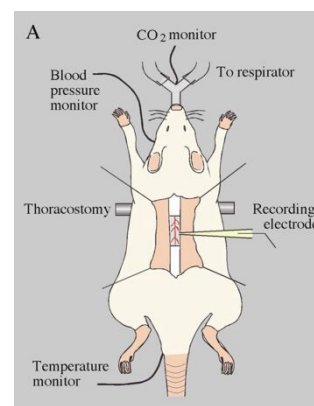
μ オピオイドの急性耐性や痛覚過敏の存

在を確認するためにこれらの現象が脊髄で本当に存在するのかを *in vivo* 実験系で確認する。さらに、これらの細胞内シグナル機序を解明することで、急性耐性、痛覚過敏を防止、減少できる薬剤や μ オピオイドの投与量、投与方法を見つけ、臨床に繋げるのが本研究の目的である。

3. 研究の方法

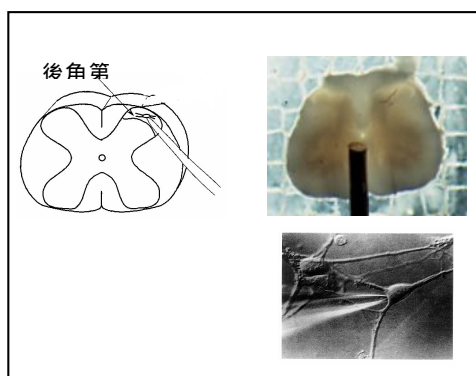
脊髄後角の *in vivo* パッチクランプ記録 (図1): Wistar 系ラットをウレタンで麻酔した後、気管切開を施行し、ベンチレーターを用いて人工呼吸を行う。椎弓切除を施行し脊髄を露出した後、呼吸性動揺を最小限にするために脊柱をフレームで固定する。さらに脳固定装置で固定を行い、脊髄腰膨大部のクモ膜を部分的に剥離し、記録電極がアプローチし易いように処置しておく。ガラス微小記録電極を顕微鏡下にマニピュレーターを用いて目的とする細胞に誘導する。軽い陰圧によってギガオームシールを形成させた後、強い陰圧をかけ細胞膜を破りホールセル・パッチクランプ記録を行う。脊髄表面からの電極の深さにより浅層ニューロンを同定する。得られた電流は、パッチクランプ用増幅器により増幅し、コンピューターに記録後、解析用ソフトウェアを用いて解析する。 μ オピオイドは大腿静脈より投与または脊髄表面に灌流投与する。使用する薬剤はレミフェンタニルである。

図1: *in vivo* 脊髄からのパッチクランプ記録



脊髄後角標本の *in vitro* パッチクランプ記録(図2)：ウレタン(1.2~1.5 g/kg, 腹腔内投与) 麻酔下に椎弓切除を行い、腰仙部脊髄を摘出する。その後、氷冷クレブス液中でマイクロスライサーを用い、脊髄横断スライスを作成する。スライスを記録用チェンバーに移したのち、95%酸素、5%二酸化炭素の混合ガスで飽和されたクレブス液を36度に加温して灌流する。脊髄後角第1層(膠様質)ニューロンより、先端抵抗が約10MΩのガラス電極を用いてホールセルパッチクランプ記録を行った。結果はパッチクランプ用増幅器により増幅し、データ解析用ソフトを用いて解析した。脊髄後根刺激は吸引電極を用い脊髄横断スライスに付した後根の電気刺激(A線維: 100 μA, 0.05 ms, C線維: 1000 μA, 0.5 ms)を行い、A線維およびC線維によって誘起される興奮性シナプス後電流を記録した。

図2：*in vitro* 脊髄標本からのパッチクランプ記録



4. 研究成果

脊髄後角標本の脊髄表面にレミフェンタニルを灌流投与し、自発性興奮性シナプス後電流を観察したところ、頻度の減少が認められたが、投与終了後に頻度の増加は認められなかった。さらに、脊髄後根刺激による興奮性シナプス後電流に対して、レミフェンタニルは振幅を減少させたが、同様に投与終了後に振幅の増加は認められなかった。加えて、*in vivo* 脊髄標本を用いて、興奮性シナプス後

電流に対するレミフェンタニルの影響を観察した。レミフェンタニルの脊髄への灌流投与は興奮性シナプス後電流の頻度を減少させたが、投与終了後に頻度の増加は認められなかった。加えて、後肢のピンチ刺激によって誘起される興奮性シナプス後電流の面積はレミフェンタニルの静脈投与により減少したが、投与終了後に面積の増加は認められなかった。

これらの結果から、レミフェンタニルは脊髄後角ニューロンのμオピオイド受容体を介して、興奮性シナプス伝達を抑制することがわかった。しかし、これまで言われている脊髄後角ニューロンでの興奮性シナプス伝達の長期増強などが認められなかったことにより急性耐性や痛覚過敏は確認できなかった。

5. 主な発表論文等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河野 達郎 (KOHNO, Tatsuro)
東北医科薬科大学・医学部・教授
研究者番号：00313536

(2) 研究分担者

生駒 美穂 (IKOMA, Miho)
新潟大学・医歯学総合研究科・准教授
研究者番号：30432082

紙谷 義孝 (KAMIYA, Yoshinori)
新潟大学・医歯学総合研究科・准教授
研究者番号：90381491

(3) 連携研究者

澁木 克栄 (SHIBUKI, Katsuei)
新潟大学・脳研究所・教授
研究者番号：40146163

古江 秀昌 (FURUE, Hidemasa)

生理学研究所・神経シグナル研究部門・
准教授
研究者番号：20304884