

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462379

研究課題名(和文) 体内時計である睡眠中枢の機能改善により神経障害性疼痛は軽快するか

研究課題名(英文) Is chronic neuropathic pain relieved by functional improvement of sleep center which is considered a biological clock?

研究代表者

山崎 光章 (Yamazaki, Mitsuaki)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号：70158145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：神経障害性疼痛では睡眠障害が生じ、疼痛治療をより困難としている。この睡眠障害の発生機序の1つとして、中枢神経にある縫線核(セロトニン神経)が覚醒状態を促進すること、青斑核(ノルアドレナリン神経)が覚醒状態を持続する作用のあることが原因として推定された。また、抗うつ薬であるアミトリプチリンはこの睡眠障害を改善した。また、オレキシン受容体拮抗薬も、この睡眠障害を改善した。

研究成果の概要(英文)：Chronic neuropathic pain significantly interferes with sleep, and inadequate sleep may contribute to the negative consequences in the treatment of pain. In this study, we showed that the neuropathic pain accelerates the dorsal raphe nucleus (DRN)-serotonergic and the locus coeruleus (LC)-noradrenergic neurons. These activations in DRN and LC neurons may be, at least in part, responsible for sleep disorders under a neuropathic pain-like state. Amitriptyline, a tricyclic antidepressant, and suvorexant, a dual orexin receptor antagonist, could improve the secondary sleep disturbance induced by chronic neuropathic pain.

研究分野：疼痛治療学

キーワード：神経障害性疼痛 睡眠障害 縫線核 青斑核 アミトリプチリン オレキシン受容体拮抗薬

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛をはじめとした慢性疼痛患者は、不安やうつ状態の悪化を来すと同時に睡眠障害に陥ることが多く、こうした現象は患者の QOL の低下を来す。申請者らはこれまでに、4週間の長期間にわたって慢性疼痛が継続するマウス神経障害性疼痛モデルを作成してきた。このモデルでは、痛み以外にも不安関連行動が生じ、持続的な痛み刺激が視床内側系 (vs. 視床外側を経由する疼痛刺激は体性感覚野に達し、痛みの局在や強さを感じず) を経由し上位情動系中枢 (帯状回・海馬・扁桃体等) に変化を生じること、抗うつ薬がこれら情動障害の治療に有効であることを示した (Neuropsychopharmacology, 33, 1952-65, 2008)。また、このモデルでは、睡眠障害が認められ、特に non REM 睡眠が障害されること、ガバペンチンがこの睡眠障害を予防することを示した (Synapse, 65, 668-76, 2011)。さらに、帯状回ではアストロサイトの GABA トランスポーター (GAT-3) の増加が認められ、その結果 GABA 遊離量の減少が誘導され、こうした一連の現象により睡眠障害が生じることを明らかにした。しかしながら、慢性疼痛と睡眠障害の関連については未だ科学的根拠は少ない。

2. 研究の目的

臨床においては、十分な睡眠が得られないことによって、不安やうつ状態などの気分障害が出現し、慢性疼痛をさらに悪化させることが問題となっている。こうした事実から、睡眠障害が情動不安を引き起こし、疼痛閾値をさらに低下させる一因となる可能性が考えられる。すなわち、慢性疼痛では、疼痛治療のみならず、睡眠障害および情動不安の改善が重要となる。一方、内因性の生物時計によって制御されている睡眠-覚醒を含めた概日リズムは、主に明暗サイクルなどの環境要因に同調することが知られている (Sleep Med. 8, s27-33, 2007)。また、哺乳類では、視床下部・

視交叉上核に存在する中枢性体内時計が、自己の他組織に階層的に作用して末梢時計リズムを統合し、その結果生体の概日リズムを保つ (Science, 288, 682-5, 2000)。これまでに、慢性疼痛における上位情動系中枢神経と睡眠の関係を詳細に検討した報告は極めて少ない。そこで、申請者らは、これまで用いてきた技法を用い、神経障害性疼痛と睡眠障害の関係を明確にし、その連動を阻害する薬物などによる治療効果を期待した研究を遂行しようとして着想した。

3. 研究の方法

実験は、富山大学および星薬科大学の動物実験委員会の承認を受けた。

(1) 神経障害性疼痛モデルの作製

2ヶ月齢の雄性マウスを用い、全身麻酔下に片側坐骨神経を強固に半周結紮することによって神経障害性疼痛モデルを作製した。

(2) 睡眠の評価

全身麻酔下にマウスを脳定位固定装置に固定後、脳波測定用ヘッドマウントを頭蓋骨に、筋電図測定用電極を僧帽筋に装着することにより、動物の24時間脳波と筋電図を測定し、脳波解析ソフト (Sleep Sign) を用いて、動物の睡眠-覚醒状態をそれぞれ wake stage、non-REM stage、REM stage に分類した。さらに、同解析ソフトを用いて各stageの持続時間や、波や徐波の出現率を解析することで睡眠の質を評価した。

(3) 神経障害性疼痛が睡眠中枢に与える神経生理学的影響の解明

神経障害性疼痛が脳各部位の神経活動に与える影響を、in vivo マイクロダイアリシス法を用いて各脳部位における神経伝達物質を回収し、高速液体クロマトグラフィーを用いて遊離量の変化を評価することによって検討した。

(4) 光遺伝学的手法による特異的な神経細胞の活性化や抑制による睡眠への影響の解明

光活性化タンパク質であるチャンネルロドプシンは青色光を感知することによって非選択的陽イオンチャンネルを開口し、神経活動を活性化させる。特定の神経細胞に光活性化タンパク質を発現させた遺伝子改変マウスや、ウイルスベクターを用いて、発現させたい光活性化タンパク質を選択的にマウスの神経細胞に導入した。同手法を用いて、神経障害性疼痛に誘発された睡眠障害の原因と考えられる神経系を特異的に活性化あるいは抑制させ、脳波を用いて睡眠-覚醒リズムに与える影響を評価した。

(5) 治療薬の投与と神経障害性疼痛によって誘発された睡眠障害への影響の解明

神経障害性疼痛が誘発した睡眠障害を改善すると見込まれる薬物投与を行い、睡眠-覚醒リズムの改善が認められるか脳波を用いて検討した。

(6) 行動学的な解明

睡眠の改善が認められたモデルにおいて、足底熱刺激法(熱痛覚過敏の測定)、von Frey filament(触痛覚過敏の測定)を用いて疼痛に関する評価を行った。

4. 研究成果

(1) 縫線核(セロトニン神経)および青斑核(ノルアドレナリン神経)を電気刺激し、ニューロンの投射先である前頭前野のセロトニンおよびノルアドレナリンの遊離量を *in vivo* マイクロダイアリシス法を用いて評価した。縫線核および青斑核を電気刺激すると、前頭前野においてそれぞれセロトニン、ノルアドレナリンの遊離量が増加した。

(2) 光活性化タンパク質であるチャンネルロドプシンを特定の縫線核と青斑核に発現させた遺伝子改変マウス(optogenetics)を用いて、セロトニンおよびノルアドレナリン神経系を光刺激により特異的に活性化させ、脳波・筋電図を用いて睡眠・覚醒リズムに与える影響を評価した。縫線核を光刺激すると

non-REM 睡眠の持続時間の減少と睡眠回数および覚醒回数の増加が認められた。一方、青斑核を光刺激すると、non-REM 睡眠の持続時間の減少が認められたが、睡眠や覚醒回数には変化が認められなかった。これより、縫線核(セロトニン神経)は覚醒状態を促進し、青斑核(ノルアドレナリン神経)は覚醒状態を持続する作用のある事が推定された。

(3) 神経障害性疼痛モデルでは、wake 期の増加とREM 期、non-REM 期の低下を認めた。

抗うつ薬であるアミトリプチンを坐骨結紮7~9日目に投与したところ、神経障害性疼痛によって増加したwake 期と減少したnon-REM 期を回復させた。また、アミトリプチンは睡眠初期に認められるlight sleepをdeep sleepへと変化させることも明らかとなった。アミトリプチンには、いろいろな神経伝達物質受容体の拮抗作用、チャンネルの遮断作用などがあるが、その中でも、神経障害性疼痛による縫線核セロトニン神経の活性化を抑制するのではないかと推定された。

視床下部に存在する上位覚醒中枢であるオレキシン受容体拮抗薬のスボレキサントを同様に坐骨結紮7日目から1週間投与後に計測したところ、神経障害性疼痛によって減少したnon-REM 期、REM 期を回復させた。神経障害性疼痛によって活性化されたオレキシン神経をスボレキサントは抑制する可能性が推定される。

(4) オレキシン受容体拮抗薬投与直後に痛み行動に関する試験(Planter test およびvon Frey test)を行ったところ、vehicle 投与群と比較して痛み反応の低下を認めた。しかし、一週間の連続投与を行った24時間後に痛み行動試験を行ったところ、vehicle 投与群と同様の痛み反応を認めた。

一週間の連続投与を行った後も睡眠量の改善を認めたことから、オレキシン受容体拮抗薬は薬物耐性による催眠効果の減弱が生じにくいことが示唆された。睡眠改善の結果

からは、神経障害痛の病態の改善は得られなかったと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Tsuneki H, Kon K, Ito H, Yamazaki M, Takahara S, Toyooka N, Ishii Y, Sasahara M, Wada T, Yanagisawa M, Sakurai T, Sasaoka T. Timed Inhibition of Orexin System by Suvorexant Improved Sleep and Glucose Metabolism in Type 2 Diabetic db/db Mice. *Endocrinology*. 査読有り, 2016 Nov; 157(11):4146-57. (DOI: 10.1210/en.2016-1404)
2. 堀川英世, 中西拓郎, 松浦康荘, 高木麻里, 永川保, 山崎光章. メトロニダゾールによって発生した神経障害痛の治療経験. *ペインクリニック*, 査読有り, 73. 2016 Jun 1; 73(6): 787-90.

〔学会発表〕(計 10 件)

1. Ito H, Aoki Y, Takemura Y, Yamazaki M. Effects of suvorexant on secondary sleep disturbance induced by chronic neuropathic pain. 16th World Congress on Pain; 2016 Sep 28; パシフィコ横浜 (横浜)
2. Ito H, Tsuneki H, Kon K, Takemura Y, Sasaoka T, Toyooka N, Yamazaki M. Effects of Suvorexant on the sleep disturbance in leptin-resistant (db/db) genetically obese and diabetic mice. 10th Forum of Neuroscience; 2016 Jul 6; Copenhagen (Denmark)
3. Ito H, Aoki Y, Takemura Y, Yamazaki M. Effects of Amitriptyline on Secondary Sleep Disturbance Induced By Chronic Neuropathic Pain. *Anesthesiologists* 2015; 2015 Oct 27; San Diego (USA)
4. 山崎光章. 慢性痛としての不安・不眠, そして運動療法へ. 日本ペインクリニック学会第 49 回大会; 2015 Jul 24; グランフロント大阪 (大阪)
5. 伊東久勝, 竹村佳記, 青木優太, 山崎光章. 三環系抗うつ薬が神経障害性疼痛による二次性の睡眠障害に与える影響の

解析. 日本ペインクリニック学会第 49 回大会; 2015 Jul 24; グランフロント大阪 (大阪)

6. 山崎光章. 慢性痛と不安・不眠、そして運動療法. 東海・北陸ペインクリニック学会第 26 回東海地方会; 2015 May 9; ウィンク愛知 (名古屋)
7. Ito H, Yanase M, Yamashita A, Kitabatake C, Hamada A, Suhara Y, Narita M, Ikegami D, Sakai H, Yamazaki M, Narita M. Analysis of sleep disorders under pain using an optogenetic tool: possible involvement of the activation of dorsal raphe nucleus-serotonergic neurons. *Neuroscience* 2014; 2014 Nov 16; Washington.D.C. (USA)
8. Takemura Y, Yanase M, Ito H, Koh K, Yamashita A, Ikegami D, Narita M, Yamazaki M, Narita M. Activities of dorsal raphe nucleus-serotonergic neurons and locus coeruleus-noradrenergic ones interfere with sleep: Analysis of pain-related sleep disorders using an optogenetic tool. IASP 15th World Congress on Pain; 2014 Oct 7; Buenos Aires, Argentina (Argentina)
9. 伊東久勝, 柳瀬諒, 山下哲, 成田道子, 山崎光章, 成田年. 光遺伝学的手法を用いた神経障害性疼痛下における睡眠障害のメカニズム解析: 背側縫線核セロトニン神経の機能変化が与える影響について. 日本麻酔科学会第 61 回学術集会; 2014 May 15; パシフィコ横浜 (横浜)
10. Ito H, Yanase M, Yamashita A, Kitabatake C, Hamada A, Suhara Y, Narita M, Ikegami D, Sakai H, Yamazaki M, Narita M. Changes in activities of dorsal raphe nucleus-serotonergic neurons associated with sleep disturbance induced by neuropathic pain. 2nd Asian Congress on Pain; 2014 Mar 29; Taipei (Taiwan)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/anesth/in>

[dex.html](#)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 光章 (YAMAZAKI, Mitsuaki)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
教授
研究者番号：70158145

(2) 研究分担者

成田 年 (NARITA, Minoru)
星薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：40318613

(3) 連携研究者

酒井 寛泰 (SAKAI, Hiroyasu)
星薬科大学・薬学部・助教
研究者番号：00328923

池上 大悟 (IKEGAMI, Daigo)
星薬科大学・薬学部・助教
研究者番号：30619747

竹村 佳記 (TAKEMURA, Yosinori)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
助教
研究者番号：70624922