

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893092

研究課題名(和文)慢性痛が引き起こす睡眠障害の機序解明と治療法開発を目指して

研究課題名(英文) Mechanism elucidation and therapeutic development of sleep disorder induced by chronic pain

研究代表者

伊東 久勝 (ITO, HISAKATSU)

富山大学・大学病院・助教

研究者番号：60736388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：脳波を用いて神経障害痛モデル動物の睡眠状態を解析し、さらに三環系抗うつ薬アミトリプチリンおよび選択的5HT_{2A}受容体拮抗薬MDL100907が睡眠に与える影響を評価した。その結果、アミトリプチリンおよびMDL100907は神経障害痛によって引き起こされた二次性の睡眠障害に対する改善効果を認めた。三環系抗うつ薬は5HT_{2A}受容体の遮断作用を介して、神経障害痛によって引き起こされたセロトニン神経の過活動を抑制することで、生理的な睡眠改善効果をもたらす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the electroencephalogram of neuropathic pain model mice and evaluated the effects of amitriptyline (Tricyclic antidepressants) and MDL 100907 (selective 5-HT_{2A} receptor antagonist) on sleep their conditions. As a results, we found that amitriptyline and MDL 100907 improved the sleep disturbance induced by chronic pain. Our results suggest that amitriptyline improves secondary sleep disturbance to regulate the overactive of 5-HT_{2A} neurons induced by chronic neuropathic pain.

研究分野：麻酔科学

キーワード：慢性痛 睡眠

1. 研究開始当初の背景

慢性痛患者では、高頻度に睡眠障害を併発し、QOL をさらに増悪させる原因となる。申請者はこれまでに慢性痛によって引き起こされる睡眠障害と脳幹から前頭前皮質に投射する背側縫線核セロトニン神経との関係に着目し研究を行ってきた。申請者はマウスの右側坐骨神経を結紮することによって、長期間にわたり慢性痛が持続する神経障害性疼痛モデルを作製し実験を行ってきた。また、脳波を用いて無麻酔下でマウスの睡眠・覚醒状態を解析することに成功し、神経障害性疼痛モデルに睡眠障害が引き起こされていることを発見した。さらに同モデルで *In vivo* マイクロダイアリシス法を用いて神経活動を解析し、背側縫線核セロトニン神経の活動亢進を認めた。セロトニン神経の神経核である縫線核群は脳幹の正中部に分布し、生命活動の根幹と深く関連している。なかでも背側縫線核は脳幹網様体賦活系を形成している神経核のひとつであり、睡眠・覚醒調節に深く関与していると考えられている(。そこで、光遺伝学的手法を用いて、人工的に背側縫線核セロトニン神経を活性化させたところ、睡眠障害が引き起こされることを見いだした。これらの結果から、神経障害性疼痛によって引き起こされる睡眠障害と背側縫線核セロトニン神経の活動性に何らかの関係があることが強く推定された。これまでの研究結果を踏まえ、申請者はこれまでに用いてきた技法を用い、神経障害性疼痛によって引き起こされる睡眠障害と背側縫線核セロトニン神経を中心とした脳幹網様体を形成する神経核群の関係を明確にし、神経科学的な根拠に従って、睡眠改善を目標とした治療薬を模索する研究を遂行しようとして着想した。

2. 研究の目的

慢性痛患者は、高頻度に夜間の睡眠障害や日中の活動低下を合併し生活の質が障害され、このような患者は著しい治療抵抗性を示すという悪循環に陥る。しかし、慢性痛と睡眠・覚醒リズムの形成障害の因果関係を説明する神経科学的機序は不明な点が多い。上行性網様体賦活系は睡眠・覚醒バランスをする上で重要な役割を果たしている。特に覚醒スペクトルにおいては、主に5つの神経伝達物質(セロトニン、ドーパミン、ノルエピネフリン、ヒスタミン、アセチルコリン)が関与している。われわれは過去の研究で、上行性網様体賦活系の主要な神経回路である背側縫線核セロトニン神経は、慢性的な神経障害痛により活動性が上昇し、睡眠障害を引き起こす原因となっている可能性があることを、動物実験を用いて証明した(H Ito, et al. *Molecular Brain* 6: :59, 2013)。そこで本研究では、脳波を用いて神経障害痛モデル動物の睡眠状態を解析し、セロトニン調節作用をもつ三環系抗うつ薬アミトリプチリンおよび選択的 5HT2A 受容体拮抗薬が睡眠に与える影響を評価した。

3. 研究の方法

マウスの右側後肢大腿の坐骨神経を絹糸で半周結紮する手術を施行することによって、神経障害痛モデル動物を作製した。神経結紮をせず、露出させる処置のみ行った群を偽手術群とした。これらの動物に、赤外線による熱刺激を与え、刺激から逃避行動までの時間を計測する *Planter test* を施行し、熱痛覚過敏反応の評価を行った。

脳波および筋電図電極を、セメントを用いて手術的にマウスの頭部に固定し、神経障害痛モデルマウスの脳波と筋電図を測定し、さらにアミトリプチリンおよび選択的 5HT2A 受容体拮抗薬 MDL100907 投与後の脳波と筋電図の測定を行った。記録した脳波と筋電図を脳波解析ソフトによって解析し、

それぞれ覚醒期、non-REM 睡眠期、REM 睡眠期の3種類に分類し、睡眠量の評価を行った。

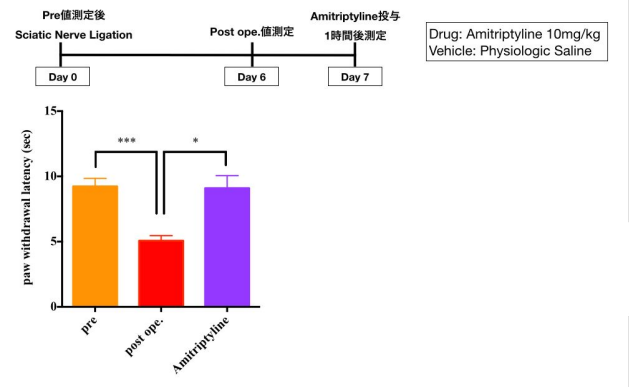
(倫理面への配慮)

全ての動物実験は、富山大学で行った。また、本研究で行う研究方法は、学内の動物実験委員会にて承認された後に、富山大学の動物実験委員会が定めた規定に従って行った。動物の侵襲的処置は全て全身麻酔下で行い、苦痛や感染症を伴わないように配慮した。

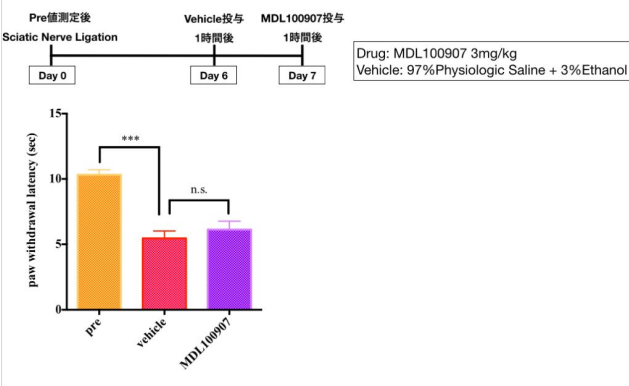
4. 研究成果

Planter test を用いて熱痛覚過敏反応の評価を行ったところ、坐骨神経結紮によって引き起こされた痛覚過敏反応は、アミトリプチリン 10mg/kg 投与によって術前の状態まで改善した(図1)。一方で、MDL 100907 3mg/kg 投与によって有意な変化は認めなかった(図2)。

【図1】 三環系抗うつ薬アミトリプチリンが神経障害痛に与える影響を調査するために、Planter test を用いて坐骨神経結紮手術前、手術後、アミトリプチリン投与1時間後に、痛覚過敏反応の評価を行った。

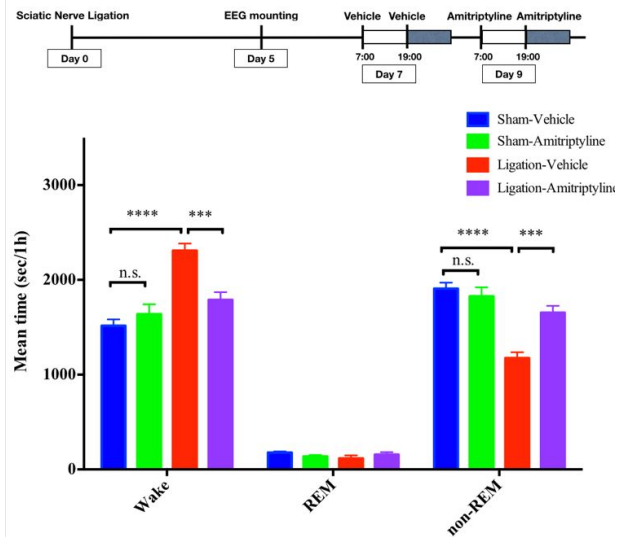


【図2】 選択的5-HT_{2A}受容体拮抗薬MDL100907が神経障害痛に与える影響を調査するために、Planter test を用いて坐骨神経結紮手術前、vehicle投与1時間後、MDL100907投与1時間後に、痛覚過敏反応の評価を行った。



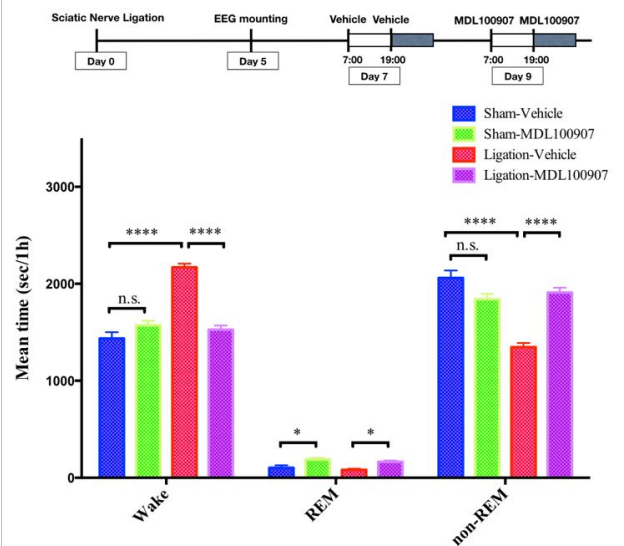
脳波を用いて睡眠状態の評価を行った結果、神経障害痛モデル動物は総睡眠量の低下を認めたが、アミトリプチリン 10mg/kg 投与によって睡眠量の改善を認めた。一方で、偽手術群は、アミトリプチリン投与によって睡眠量に変化を認めなかった(図3)。

【図3】 神経障害痛モデル動物において、アミトリプチリンが睡眠に与える影響を調査するために、脳波を用いて睡眠状態の評価を行った。



同様に MDL 100907 3mg/kg 投与によっても、神経障害痛モデル動物の睡眠量は改善したが、偽手術群の睡眠量に変化を与えなかった(図4)。

【図4】 神経障害痛モデル動物において、MDL100907が睡眠に与える影響を調査するために、脳波を用いて睡眠状態の評価を行った。



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 0件)

〔学会発表〕(計 2件)

日本ペインクリニック学会 第49回大会

発表年月日：平成27年7月24日

会場名：大阪府大阪市

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

筆者：伊東久勝 竹村佳記 青木優太 山崎光章

American Society for Anesthesiologist
2015 October 27 in San Diego, Title:
Effects of amitriptyline on secondary
sleep disturbance induced by chronic
neuropathic pain , Author: Hisakatsu
Ito, Yuta Aoki, Yoshinori Takemura,
Mitsuaki Yamazaki

〔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：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊東 久勝 (ITO Hisakatsu)

富山大学・附属病院・助教
研究者番号：60736388

(2)研究分担者：なし

(3)連携研究者：なし