

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

1-2：化学療法誘発性末梢神経障害性疼痛

C) 神経障害性疼痛の分子メカニズム解明

① 神経障害性疼痛に対する 5-HT<sub>3</sub> 受容体の関与

② 神経障害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・ドパミンの経時的推移

担当責任者

住谷 昌彦 東京大学医学部附属病院 緩和ケア診療部 准教授（部長）

下條 信威 筑波大学 医学医療系臨床医学域 救急・集中治療部 講師

齋藤 繁 群馬大学 大学院医学系研究科 麻酔神経科学 教授

緒方 徹 国立障害者リハビリテーションセンター研究所

障害者健康増進・スポーツ科学支援センター センター長

池田 和隆 東京都医学総合研究所 精神行動医学研究分野プロジェクトリーダー

齋藤 洋一 大阪大学 大学院医学系研究科 脳神経機能再生学 特任教授

下川 敏雄 山梨大学 大学院医学工学総合研究部 准教授

研究協力者

細見 晃一 大阪大学 大学院医学系研究科 脳神経機能再生学 特任助教

清水 豪士 大阪大学医学部附属病院 医員

### 研究要旨

神経障害性疼痛の発症には様々な分子生物学的機序が報告されている。これらの分子生物学的機序には発症に直接的に関わる要因だけでなく、疼痛下行性抑制系と呼ばれる内因性の疼痛制御機構の破綻による要因の2種類がある。いずれも疼痛、しびれの発症には重要な働きを示しており、これらの機序解明から神経障害性疼痛の発症における鍵となる分子を探索しヒト神経障害性疼痛患者の遺伝子多型の調査候補とすることに加えて、それに基づく治療法ならびに予防法の開発の基盤とする。

### A. 研究目的

① 急性痛と比べ神経障害性疼痛ではオピオイドの鎮痛作用が減弱する。下行性抑制系の活性化はオピオイドの鎮痛作用の一部に関与していると考えられているが、神経障害性疼痛においては延髄吻側腹内側部(RVM)から投射するセロトニン(5-HT)作動性ニューロンが、脊髄後角の5-HT<sub>3</sub>受容体を介して痛みを増強するとの学説もある。そこで、ラットの神経障害性疼痛モデル(SNL)を用いてモルヒネの鎮痛作用減弱機序について検討した。

② 神経障害性痛に対する抗うつ薬の有効性は古くから知られている。ドパミン・ノルアドレナリ

ン再取り込阻害薬（以下 DNRI）であるブプロピオンも神経障害性痛に対する鎮痛効果が報告されているが、その機序は明らかでない。ノルアドレナリン（以下 NA）とドパミン（以下 DA）はどちらも脊髄で鎮痛作用を発揮するため、DNRI は脊髄で神経障害性痛を抑制する可能性がある。この仮説を証明するために今回の実験を行った。

### B. 研究方法

① SNL は雄ラットの L5 脊髄神経を結紮切離し作成した。モルヒネを腹腔内投与し逃避閾値を paw pressure test によって測定した。脊髄後角からのマイクロダイアリシスによって、モルヒネ投与後の 5-HT とノルアドレナリン(NA)を測定した。

モルヒネ投与後のRVMの反応を観察する為、5-HTニューロンとc-Fosによる免疫二重染色を行った。有意差検定は分散分析を用い $P < 0.05$ を有意差ありとした。

② 雄SDラットのL5脊髄神経を切断し神経障害性痛モデル(SNL)を作成した。髄腔内にカテーテルを留置しブプロピオンや拮抗薬を投与した。鎮痛効果はpaw pressure testを用いて逃避閾値を測定してその評価とした。SNLラットの脊髄後角(腰膨大部)からマイクロダイアリス法によって、ブプロピオン髄腔内投与後のNAとDAの変化を高速液体クロマトグラフィー(以下HPLC)で測定した。さらにL5脊髄神経切断後のNAとDAの含有量の経時的变化を、腰膨大部脊髄後角のホモジェネートを作成しHPLCで測定した。分散分析で $p < 0.05$ 以下を有意差ありとした。

(倫理面への配慮)

本研究は、群馬大学の倫理委員会によって承認されたガイドラインに沿って行った。

### C. 研究結果

① 腹腔内投与したモルヒネは投与量依存性(1, 3, 10mg/kg)に鎮痛作用を発揮したが、効力は正常ラットと比較しSNLで減弱していた。モルヒネの腹腔内投与(10mg/kg)によりRVMのc-Fos陽性5-HTニューロンの割合が増加し、脊髄後角で5-HTが増加( $363.7 \pm 88.4\%$ )したがNAは変化しなかった。オンダンセトロン(5-HT3拮抗薬)、または5,7-DHT(5-HTデプレーター)の髄腔内投与により、正常ラットではモルヒネの鎮痛作用が減弱し、SNLでは鎮痛作用が逆に増強した。

② SNLラットへのブプロピオン(3-30  $\mu$ g)の髄腔内投与で、投与量依存性に逃避閾値が上昇し、その作用は $\alpha 2$ 受容体拮抗薬イダゾキサソ(3-30  $\mu$ g)、ドパミンD2受容体拮抗薬スルピリド(3-30  $\mu$ g)の先行投与によって消失した。ブプロピオ

ンの髄腔内投与で脊髄後角のNAおよびDAの増加が認められた。また、腰膨大部脊髄後角では神経切断後2週間をピークにNAとDAは上昇し、その後は漸減した。

### D. 考察

① 全身投与したモルヒネがRVMを刺激し脊髄後角で5-HTを増加させ、正常状態ではそれが鎮痛に、神経障害性疼痛では発痛に働いていることが示唆された。この現象には脊髄の5-HT3受容体が関与しており、5-HT3拮抗薬の併用が神経障害性疼痛の治療に有効である可能性が示された。

② ブプロピオンは脊髄後角でNAとDAを増加させ、 $\alpha 2$ およびD2受容体を介して神経障害性痛を抑制する。また、神経切断後の脊髄後角ではNAとDA含有量が増加するが、これもブプロピオンの鎮痛作用に影響を及ぼす可能性がある。

### E. 結論

①・②

現段階では、結論は出せない。

### F. 研究発表

1. 論文発表

①・②

1) Kimura M, **Obata H**, Saito S. Peripheral nerve injury reduces analgesic effects of systemic morphine via spinal 5-hydroxytryptamine 3 receptors. *Anesthesiology*. 2014;121:362-71.

2) Hoshino H, **Obata, H**, Nakajima K, Mieda R, Saito S. Anti-hyperalgesic effects of intrathecal bupropion, a dopamine and noradrenaline reuptake inhibitor, in a rat model of neuropathic pain. *Anesth Analg* 2015;120:460-6

- 3) Aso C, Takazawa T, Horiuchi T, Saito S. The Endocannabinoid, 2-Arachidonoyl Glycerol, Induces Growth Cone Collapse and Neurite Retraction in Growing Peripheral Sensory Neurons. World Journal of Neuroscience, 2015, 5, 1-6

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 2. 学会発表

①・②

- 1) 木村雅文、小幡英章、齋藤繁。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-HT<sub>3</sub>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
- 2) 星野一、小幡英章、齋藤繁。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
- 3) 小幡英章、木村雅文、齋藤繁。神経障害性疼痛に対するモルヒネの鎮痛作用減弱に脊髄の5-HT<sub>3</sub>受容体が関与している。第36回疼痛学会、2014年6月20日、大阪市
- 4) Kimura M, **Obata H**, Saito S. Peripheral nerve injury reduces antinociceptive effects of systemic morphine via spinal 5-HT<sub>3</sub> receptors. Society for Neuroscience Annual Meeting 2011, Washington DC, November 18, 2014
- 5) Hoshino H, **Obata, H**, Nakajima K, Mieda R, Saito S. Anti-hyperalgesic effects of intrathecal bupropion, a dopamine and noradrenaline reuptake inhibitor, in a rat model of neuropathic pain. Society for Neuroscience Annual Meeting 2011, Washington DC, November 19, 2014

## G. 知的財産権の出願・登録状況