

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659693

研究課題名(和文) 局所麻酔薬の新たな臨床応用 - 痒みに対する画期的な治療法の開発 -

研究課題名(英文) Development of novel therapies for itch by a positive charged lidocaine

研究代表者

川股 知之 (KAWAMATA, Tomoyuki)

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：80336388

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)：最近、正に電化した局所麻酔薬(QX-314)が活性化したTRPV1を介して局所麻酔薬作用を発揮することが明らかとなった。そこで、TRPV1を活性化して痒みを発生させる抗腫瘍薬イミキモドに対するQX-314の効果を検討した。その結果、QX-314は触覚や痛覚に影響を与えずに、選択的に痒みを抑制することが明らかとなった。したがって、正に電化した局所麻酔薬はTRPV1が活性化して起こる症状に対して、少ない副作用で効果を発揮する可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has been reported that a positive-charged lidocaine produces local anesthetic effects through the activated TRPV1. In this study, we examined whether a positive-charged lidocaine QX-314 has anti-antipruritic effects on imiquimod-induced itch, which is evoked through the activation of TRPV1. We found that QX-314 selectively inhibited imiquimod-induced itch without any effects on touch sensation and pain. Our results suggested that a positive charged lidocaine have beneficial effects on symptoms induced by TRPV1 activation with lesser side effects.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：痒み 局所麻酔薬 イミキモド

1. 研究開始当初の背景

局所麻酔薬は疼痛治療薬として神経ブロックや全身投与に用いられている。通常、局所麻酔薬は電荷をもたない状態で細胞膜を通過し、細胞内でイオン化しナトリウムチャネルを阻害することにより神経伝達を抑制する。一方、正に電荷した局所麻酔薬は細胞膜を通過しないため、生理的状态では神経遮断作用を得ることは難しい。最近の研究により、カプサイシン受容体 (TRPV1) を開口させることにより正に電荷した局所麻酔薬が TRPV1 のポアから細胞内に侵入し、TRPV1 が活性化した神経のみを選択的に遮断することができることが明らかとなった。しかしながら、カプサイシンなど TRPV1 を開口させるための刺激は痛みを伴うため、その臨床応用は困難であった。しかしながら、持続的に TRPV1 が活性化して生じる病態や症状では、カプサイシンなど TRPV1 を開口させなくとも、正に電荷した局所麻酔薬が作用を発揮する可能性がある。

抗腫瘍薬であるイミキモドは TRPV1 を活性化させ痒みを生じさせることが報告されている。したがって、イミキモド誘発搔痒に対して、正に電荷した局所麻酔薬が痛みや触覚などの他の感覚に影響を与えずに、選択的に痒みのみを抑制できる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、イミキモドによる痒みに TRPV1 が関与しているかを再確認するとともに、正に電荷した局所麻酔薬である QX-314 が痒みを抑制するかについて検討する。また、QX-314 の作用が TRPV1 陽性神経に選択的であるかについて神経化学的に検討する。加えて、

痛み・触覚などの痒み以外の感覚に対する影響について電気生理学的に検討する。

3. 研究の方法

(1) 痒みモデルの作成

痒みモデルマウスは抗腫瘍薬であるイミキモドを、雄性 C57BL/6 マウス (5-6 週令, 24-28g) 頸部皮膚に局所投与することにより作成する。対照マウスには溶媒のみ局所投与する。

(2) 痒み評価

痒み関連行動評価

マウスの後肢の皮下に円筒型磁石を挿入する。挿入 1 週間後に痒みモデルを作成する。コイル型磁場変化検出器 (搔痒測定システム NS-SCT10, ニューロサイエンス社) を用いて、頸部皮膚搔き行動を定量し、測定記録する。

脊髄単一細胞外電位記録

全身麻酔下にマウスを脊椎定位固定器に装着する。脊髄単一細胞外電位記録はマウス足底皮下に痒み惹起物質を注入して、L4-5 レベルでの脊髄単一細胞外電位記録を行う。脊髄細胞の自発発火頻度、および熱・機械刺激によって誘起される発火頻度を測定・記録する。

(3) TRPV1 陽性神経脱落モデルを用いた解析
マウス腰部脊髄くも膜下腔にカプサイシンを投与することにより選択的に腰部末梢神経で TRPV1 陽性神経のみを数週間にわたって脱落させることができる (Cavanaugh et al., PNAS 2008)。TRPV1 陽性神経欠損マウスに痒み惹起物質を注入し、痒み関連行動評価を行う。

(4) TRPV1 陽性神経での p-CREB 発現解析

末梢神経が興奮するとカルシウム依存性にリン酸化 cyclic AMP-response element binding protein (pCREB) が核に発現する。そこで、pCREB をマーカーとして QX-314 の作

用機序を明らかにする．後根神経節での TRPV1 と pCREB の発現共存について免疫組織化学的に検討する．

4．研究成果

(1) イミキモドによる痒みに対する TRPV1 陽性神経の関与

野生型マウスでイミキモドは痒み関連行動を誘発した。過去の報告のように、痒み関連行動は TRPV1 遺伝子欠損マウス、および TRPV1 陽性神経脱落マウスで有意に抑制された。

(2) イミキモドによる痒みに対する QX-314 の効果

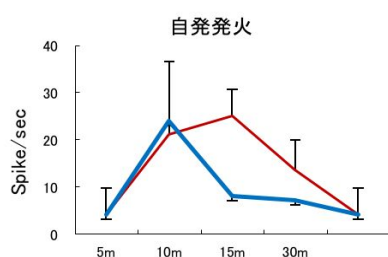
野生型マウスで QX-314 (3.0 mg/kg) または、生理食塩水を全身投与した後に、イミキモドを投与し、痒みを誘発した。QX-314 は生理食塩水に比べ有意に痒み関連行動を抑制した。

(3) 後根神経節細胞体でのイミキモド投与による p-CREB 発現に対する QX-314 の効果
組織採取と解析を簡易化するために、イミキモドは下肢足底に投与し L4 後根神経節を採取した。イミキモド投与により、TRPV1 陽性後根神経節細胞体での p-CREB 発現が増加した。QX-314 の投与を受けたマウスでは生理食塩水の投与を受けたマウスに比べ、p-CREB 発現は有意に少なかった。

(4) イミキモド投与による脊髄後角細胞の自発発射に対する QX-314 の効果

イミキモド投与により脊髄後角細胞が自発発射を増加させた。投与後 10-15 分後をピークとして、

増加し、45 分後には正常状態での発



射頻度となった。自発発射頻度変化の時間経過は痒み行動と同様であった。イミキモド投与 10 分後、自発発射頻度の増加を確認した後に、QX-314 (3.0 mg/kg) 全身投与したところ、発射頻度は有意に抑制された。また、この時に、ピンチ刺激やブラシ刺激による発射頻度の増加は、QX-314 (3.0 mg/kg) 全身投与しても変わらなかった。

以上により、イミキモドによる痒みは TRPV1 および TRPV1 陽性神経を介して発生・伝達された。また、イミキモドによる痒みは QX-314 によって抑制された。p-CREB 解析により、イミキモドは TRPV1 陽性神経を活性化し、QX-314 によって抑制された。脊髄後角細胞の細胞外記録により、QX-314 はピンチ刺激や触刺激の伝達に影響を与えずに、イミキモドによる痒みを抑制することが明らかとなった。これらに結果は、正に電化した局所麻酔薬が他の感覚に影響を与えない抗搔痒剤となりうることを示唆する。

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7件)

川股知之，木谷友洋：外套細胞より供給されるL-セリンに注目した化学療法誘起末梢神経障害の機序．日薬理誌 2013；141:71-75．査読あり

鈴木雅美，成田 年，川股知之，的場元弘，上園保仁：がん性腹膜炎による難治性疼痛の病態解析．ペインクリニック 2013；34：255-262．査読

なし

鈴木雅美, 川股知之, 成田 年, 上園保仁: がんの神経浸潤と痛みにおけるがん細胞と神経のクロストーク. ペインクリニック 2013; 34 : 625-63. 査読なし

なし

Suzuki M, Narita M, Hasegawa M, Furuta S, Kawamata T, Ashizawa M, Miyano K, Yanagihara K, Chiwaki F, Suzuki T, Matoba M, Sasaki H, Uezono Y. Sensation of abdominal pain induced by peritoneal carcinomatosis is accompanied by changes in the expression of substance P and μ -opioid receptors in the spinal cord of mice. Anesthesiology 2012;117:847-56 査読あり

2012;117:847-56 査読あり

川股知之. 疼痛治療の薬理学-末梢から脊髄への痛みの伝達 -. BRAIN MEDICAL 90:7-12, 2012. 査読なし

川真田樹人, 川股知之. がん疼痛の発生メカニズム. 薬局 63:15-20, 2012. 査読なし

査読なし

川股知之, 布施谷仁志, 山本克己, 石田高志, 平林高暢, 川真田樹人. 骨転移痛のメカニズムと鎮痛薬による薬物療法. ペインクリニック 33:1353-60, 2012. 査読あり

[学会発表](計2件)

川股知之. がんの痛みのメカニズム(招請講演)日本麻酔科学会第59回学術集会 2012年6月7~9日:神戸

Kawamata T. Role of satellite cell-derived L-serine in the dorsal

root ganglionin paclitaxel-induced peripheral neuropathy. The 85th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society, Kyoto, 2012.3.14-16

[図書](計6件)

川股知之: 2. 薬物療法. . 骨粗鬆症の疼痛管理. 最新の骨粗鬆症学 - 骨粗鬆症最新の知見 -. 東京, 日本臨牀社, 2013, pp421-425.

布施谷仁志, 川股知之: 骨転移. 2. がん性痛. . 痛みの原因と鎮痛薬の選択. 痛みの Science & Practice 第3巻 痛みの薬物治療. 山本達郎編. 東京, 文光堂, 2013, pp248-251.

川股知之: がんによる神経障害性痛. 2. がん性痛. . 痛みの原因と鎮痛薬の選択. 痛みの Science & Practice 第3巻 痛みの薬物治療. 山本達郎編. 東京, 文光堂, 2013, pp252-255.

川股知之: 2. 骨転移痛. . がん疼痛の発生機序と治療. 病態疾患別がん性疼痛の治療. 井関雅子編. 東京, 文光堂, 2013, pp30-33.

川股知之. 末梢神経での μ オピオイド受容体発現と鎮痛効果. . 鎮痛機序. 第2章 ペインクリニック・緩和医療. 垣花 学・成田 年編. オピオイド 基礎を知って臨床で使いこなす pp141-57. 克誠堂出版. 東京, 2012

川股知之. 2. 骨痛の緩和療法. . 骨痛のメカニズムと緩和療法. 米田俊之編. がん骨転移のバイオロジーとマネージ

メント . pp248-53 .医薬ジャーナル社 ,
東京 , 2012

6 . 研究組織

(1)研究代表者

川股 知之 (KAWAMATA, Tomoyuki)

信州大学・医学部・准教授

研究者番号 : 8 0 3 3 6 3 8 8