

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 柳村 春江  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博 (医) 第 1148 号  
学位授与の日付 令和5年9月20日  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
博士論文名 セロトニン作動性下行性疼痛抑制系に対するガバペンチンの影響の行動学的検討

論文審査委員 主査 教授 竹林 浩秀  
副査 教授 川島 寛之  
副査 准教授 吉松 康裕

### 博士論文の要旨

#### 背景と目的

ガバペンチン (GBP) やプレガバリンなどのガバペンチノイドは、神経障害性疼痛に有効であることが知られており、慢性疼痛治療ガイドラインで第一選択薬として推奨されている。GBP は電位依存性  $Ca^{2+}$ チャネルの  $\alpha 2\delta$  サブユニットと高い親和性を持ち、当初はシナプス前膜のカルシウムチャネルを阻害することで伝達物質の興奮性放出を抑制し、痛みの神経伝達を抑制すると考えられていた。しかし、ガバペンチノイドは脊髄の下行性抑制系を活性化し、ノルアドレナリン放出を増加させることにより鎮痛作用を発揮することが報告されている。一方、ガバペンチノイドの下行性抑制系セロトニン経路への作用はよく分かっていない。本研究では、GBP の脊髄におけるセロトニン (5-HT) 系に対する鎮痛効果を明らかにすることを目的とした。神経障害性疼痛モデルラットに GBP を全身投与して鎮痛効果を引き出し、5-HT 受容体拮抗薬またはアドレナリン受容体拮抗薬を脊髄くも膜下投与して機械刺激に対する疼痛閾値の変化を検討した。

#### 方法

神経障害性疼痛のモデルとして、脊髄神経結紮 (SNL) モデルラット (左 L5 脊髄神経結紮) を使用した。脊髄くも膜下に薬剤を投与する実験では、SNL 術後 7~10 日目に薬物投与用のくも膜下カテーテル (PE-10) を第 4・5 腰椎間に設置した。SNL 手術後、14~21 日のラットの両後肢の機械的過敏性を auto von Frey 装置を用いて測定した。測定後、GBP を 100 mg/kg 腹腔内投与し、GBP 投与 60 分後に上記と同様に足底の逃避閾値を測定した。GBP 投与 90 分後の逃避閾値測定後、5-HT およびアドレナリン受容体拮抗薬をくも膜下カテーテルから過去の報告を参考に 30  $\mu$ g 投与し、各薬剤投与後 180 分まで 60 分ごとに逃避閾値を測定した。5-HT を枯渇させる実験では、5-HT 合成酵素阻害薬である para-chlorophenylalanine (PCPA) を 150 mg/kg/day を 7 日間投与し、SNL14 日後に実験を行った。ノルアドレナリンを枯渇させる実験では、ノルアドレナリンニューロンに対する神経毒である N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine (DSP-4) は SNL 手術 7 日後に 50mg/kg 投与し、SNL 後 21 日目に実験を行った。データは平均値  $\pm$  平均値の標準誤差で表示した。Shapiro-Wilk 検定によりデータセットの均等分散性と正規性を検定後、反復測定一元配置分散分析または反復測定二元配置分散分析を使用し、Tukey 検定を用いて多重比較を実施した。統計的有意性は、 $p < 0.05$  とした。

#### 結果

術後2週間のSNLラットは、障害側の疼痛閾値 (paw withdrawal threshold ; PWT ) が低下したが、GBP (100mg/kg) の腹腔内投与により投与 60~240 分後に PWT が改善された。一方、対側の PWT は、GBP 投与後も変化しなかった。SNLラットに GBP 100 mg/kg を腹腔内投与し、 $\alpha$ 1-アドレナリン受容体拮抗薬プラゾシンもしくは  $\alpha$ 2-アドレナリン受容体拮抗薬イダゾキサンをくも膜下カテーテルから投与したところ、プラゾシンのくも膜下投与は、障害側の GBP の鎮痛効果に有意な影響を与えず、対側の PWT は GBP、プラゾシンともに影響を受けなかった。一方、イダゾキサンの投与は、投与後 180 分にわたり、GBP により改善された障害側後肢の PWT を低下させた。また、対側の PWT はイダゾキサン投与後 60 分で有意に低下し、その後回復した。同様に、5-HT<sub>1/2</sub> 受容体拮抗薬のメチセルジド、5-HT<sub>2A/2C</sub> 受容体拮抗薬のケタンセリン、5-HT<sub>3</sub> 受容体拮抗薬のオンダンセトロンをくも膜下カテーテルから投与した場合の効果を検討した。上記3種類の薬剤は、投与後 180 分間、障害側の GBP の鎮痛効果を有意に低下させた。一方、対側の PWT は GBP 投与後 60 分で低下し、5-HT 受容体拮抗薬をくも膜下腔に投与した 60 分後には GBP 投与前に比べて有意に低下した。対側と障害側の PWT に対する各薬物の効果は概ね類似していた。ケタンセリンおよびオンダンセトロン単独のくも膜下投与は、SNLラットの障害側後肢において抗疼痛効果を示さなかった。SNLラットにおける GBP の鎮痛効果に対する下行性抑制系の神経伝達物質枯渇の影響も検討した。DSP-4 と PCPA を前処理してノルアドレナリンと 5-HT をそれぞれ枯渇させ、前述のように PWT を評価した。DSP-4 前処置の SNLラットに GBP を投与すると、投与後 60 分では GBP による鎮痛効果が認められなかった。PCPA 前処置の SNLラットに GBP を投与すると、投与後 60 分で GBP による鎮痛効果が認められた。その後メチセルジドをくも膜下投与し、60 分後に PWT を測定したが、鎮痛効果の消失は認められなかった。

#### 考察と結論

申請者の実験において、GBP の投与により、naiveラットや SNLラットの対側の PWT には影響しないものの、SNLラットの障害側における機械過敏性が改善したことは、これまでの報告と同様であった。GBP の効果は、 $\alpha$ 2-アドレナリン受容体拮抗薬と同様に、5-HT<sub>1</sub>、5-HT<sub>2</sub>、5-HT<sub>3</sub> 受容体拮抗薬を髄腔内投与することで拮抗したが、 $\alpha$ 1-アドレナリン受容体拮抗薬では拮抗されなかった。この結果から、GBP は下行性抑制系のセロトニン経路を介して鎮痛効果を発揮する可能性が示された。しかし、GBP の鎮痛効果は 5-HT の枯渇には影響されず、ノルアドレナリン枯渇状態では消失するのと対照的であった。5-HT 枯渇 SNLラットにおいては、5-HT<sub>1,2</sub> 受容体拮抗薬であるメチセルジドを髄腔内投与しても GBP の鎮痛作用に対する拮抗作用を示さなかった。

以上のことから、神経障害性疼痛モデルにおける GBP の鎮痛作用は、ノルアドレナリン系を介した下行性疼痛抑制系の活性化によりもたらされるが、同時に GBP の投与によりセロトニン経路が活性化し、それらが協働的に鎮痛効果を発揮していると考えられた。しかし、GBP による鎮痛の下行性疼痛抑制系の関与に関しては、ノルアドレナリン系が優位であり、セロトニン系は副次的な影響に留まると考えられた。

結論として、GBP の効果にセロトニンが関与していることが示唆されたが、その効果は他の系よりも影響が少ないと思われる。

#### 審査結果の要旨

ガバペンチン (GBP) などのガバペンチノイドは、神経障害性疼痛に有効であり、慢性疼痛治療における第一選択薬である。GBP はシナプス前膜の電位依存性 Ca<sup>2+</sup>チャンネルに結合し阻害することで神経伝達物質の興奮性放出を抑制することにより鎮痛効果を発揮すると考えられていた。しかし、脊髄の下行性抑制系を活性化し、ノルアドレナリン放出を増加させて鎮痛作用を発揮するという報告もある。一方、下行性抑制系のセロトニン (5-HT) 経路への作用はよく分かっていない。本研究では、GBP の 5-HT 系を介した鎮痛効果を明ら

かにすることを目的とした。

神経障害性疼痛モデルとして、脊髄神経結紮 (SNL) ラットを作製し、術後 2 週間に障害側の疼痛閾値の低下を確認した。GBP (100 mg/kg) を腹腔内投与して鎮痛効果を引き出し、5-HT 受容体拮抗薬またはアドレナリン受容体拮抗薬を脊髄くも膜下投与して、各薬剤投与後 180 分まで 60 分ごとに機械刺激に対する疼痛閾値の変化を検討した。GBP の鎮痛効果は、 $\alpha 2$ -アドレナリン受容体拮抗薬と同様に、5-HT<sub>1</sub>、5-HT<sub>2</sub>、5-HT<sub>3</sub> 受容体拮抗薬を投与することで減弱した。一方、 $\alpha 1$ -アドレナリン受容体拮抗薬では減弱しなかった。神経毒 DSP-4 の前処置にてノルアドレナリンを枯渇させた SNL ラットに GBP を投与すると、投与後 60 分で鎮痛効果が認められなかった。p-クロロフェニルアラニン (PCPA) 前処置により 5-HT を枯渇させた SNL ラットに GBP を投与すると投与後 60 分で鎮痛効果が認められ、GBP の鎮痛効果はノルアドレナリン枯渇には影響されるが、5-HT 枯渇には影響されなかった。

本研究は、GBP の鎮痛効果について薬理学的研究を行い、5-HT とその受容体が関与していることを示したこと、GBP の鎮痛効果に対する 5-HT 作動性効果はノルアドレナリン作動性効果よりも影響が少ないことを明らかにした点に、学位論文としての価値を認める。