

## [課程—1]

### 論文の内容の要旨

題目 鎮痛及び耐性とそのメカニズムに関する研究  
氏名 千葉 俊介

#### 「目的」

麻酔科領域では様々な鎮痛薬が鎮痛目的で使用されるが、長期投与による耐性出現は臨床上的問題点のひとつである。モルヒネは癌性疼痛治療薬として最も広く使用されている薬物のひとつであるが、長期にわたり投与し続けると鎮痛効果に対する耐性が出現し、臨床問題となる。従って、耐性出現の予防法に関する研究は臨床的に極めて有意義である。N-methyl D-aspartate (NMDA) 受容体アンタゴニストやカプパオピオイド受容体アゴニストがモルヒネ耐性を予防する効果があるという動物実験でのデータは数多くあるが、いずれも副作用が強く、現在のところ臨床応用の検討は進展していない。ペントゾシンは拮抗性非麻薬性鎮痛薬であり、癌性疼痛患者の治療薬として広く使用されており、拮抗性非麻薬性鎮痛薬としては唯一経口投与剤が存在する。ペントゾシンの鎮痛効果は主としてカプパオピオイド受容体を介するため、選択的カプパオピオイド受容体アゴニストと同様にモルヒネ耐性を抑制し、その耐性抑制効果を臨床応用できる可能性がある。しかし、ペントゾシンのモルヒネ耐性抑制効果を検討したデータは動物実験でも臨床試験としても存在しない。ペントゾシンは選択的カプパオピオイド受容体アゴニストではなく、部分的カプパオピオイド受容体アゴニスト、部分的ミューオピオイド受容体アンタゴニスト、または部分的ミューオピオイド受容体アゴニストとしても作用するため、ペントゾシンのモルヒネ鎮痛やモルヒネ耐性に対する効果は選択的カプパオピオイド受容体アゴニストとは異なる可能性がある。従って、今回、臨床に応用する前段階として、ペントゾシンのモルヒネ耐性に対する効果を、マウスを用いて行動学的に検討した。

一方、ミダゾラムは中枢性の GABA<sub>A</sub> 受容体ベンゾジアゼピン結合部位に特異的に結合することで鎮静作用を発現する薬物であるが、その痛みに対する作用は文献によって異なり、確立されていない。今回ミダゾラムの全身投与の生理的疼痛及び炎症性疼痛に対する作用を、マウスを用いて行動学的に検討した。また、ミダゾラムの連日投与により鎮痛効果に対する耐性が出現するか否かを検討した文献は存在しないため、今回ミダゾラムの連日投与による鎮痛効果に対する耐性出現の有無について検討した。さらに、もし耐性が出現した場合、そ

のメカニズムを検討するため、耐性が出現したマウスと対照群のマウスの脳内の DBI (diazepam binding inhibitor) と DBI 関連遺伝子の mRNA に変化が現れるか否かにつき検討した。

#### 「方法」

塩酸モルヒネ、ペンタゾシン、nor-binaltorphimine (nor-BNI) (選択的カップオピオイド受容体アンタゴニスト)、clocinnamox mesylate (C-CAM) (選択的ミューオピオイド受容体アンタゴニスト)、ミダゾラムを使用した。塩酸モルヒネ、ペンタゾシン、nor-BNI は生理的食塩水 (生食) に溶解し、C-CAM は dimethyl sulfoxide (DMSO) に溶解してマウスに皮下注した。ミダゾラムは生食に溶解してマウスに腹腔内投与した。薬物を併用投与する場合、ペンタゾシンは塩酸モルヒネ投与直前に投与した。nor-BNI と C-CAM は塩酸モルヒネ投与の 120 分前に投与した。生理的疼痛 (機械刺激) に対する評価はテイルプレッシャーテストにて行った。マウスの尾に一定のスピード (16g/sec) で連続的に増加する力を加え、逃避反応を起こす圧力を測定した。カットオフ値は 250g に設定した。生理的疼痛 (熱刺激) に対する評価はホットプレートテストにて行った。55°C のプレートの上に動物を置き、疼痛を感じるまでの潜時を測定した。動物が肢をなめる、肢をバタバタさせる、飛び上がるなどの反応を示した場合に疼痛を感じたと判断した。カットオフ値を 30 秒に設定した。炎症性疼痛に対する評価は酢酸ライジングテストにて行った。薬剤投与 30 分後に 0.6% 酢酸を 10ml/kg 腹腔内投与し、マウスが身をよじる回数を酢酸投与 5 分後から 10 分間数えた。自動能に対する評価はランニングホイールテストにて行った。薬剤投与後、直径 16cm のホイールにマウスを入れ、ホイールの回転数を 5 分ごとに 150 分間測定した。筋弛緩作用に対する評価はバランスビームテストにて行った。薬剤投与後、直径 15mm の円柱の上にマウスを乗せ、円柱上に留まっていられる時間を測定した。カットオフ値を 90 秒に設定した。

モルヒネ耐性の実験では、テイルプレッシャーテストは塩酸モルヒネ投与の 60 分後に行った。ミダゾラムの鎮痛実験ではランニングホイールテストとバランスビームテストはミダゾラム 1,3,10,30 (mg/kg) を腹腔内投与した。ホットプレートテスト、テイルプレッシャーテスト、酢酸ライジングテストはミダゾラム 1,3,10 (mg/kg) を腹腔内投与した。対照群として生食 10ml/kg を腹腔内投与した。結果は means ± SEM で表示した。ホットプレートテスト、テイルプレッシャーテスト、ランニングホイールテストの結果は two-way repeated measures ANOVA, Fisher's PLSD 検定で行った。酢酸ライジングテスト、バランスビームテストの結果は one-way ANOVA, Fisher's PLSD 検定で行った。p<0.05 を有意差ありとした。

一方、ミダゾラムの耐性実験では、ミダゾラム 10 mg/kg をマウスに連日腹腔内投与した。対照群として生食 10ml/kg を連日腹腔内投与した。生理的疼痛に対する評価はテイルプレッシャーテストにて行った。テイルプレッシャーテストはミダゾラム投与の 30 分後に行った。行動学的に耐性が出現した場合、ミダゾラム 10 mg/kg と生食をそれぞれマウスに連日腹腔内投与した後、マウスを断頭し、脳を取り出して 6 つの部位（小脳、大脳皮質及び線条体、間脳、海馬、中脳、橋及び延髄）に分け、それぞれの部位で DBI 及び DBI 関連遺伝子の peripheral-type benzodiazepine receptor (PBR)、GABA<sub>A</sub> α 2 の mRNA レベルを PCR 法により調べた。結果は means ± SEM で表示し、Mann Whitney U 検定で行った。p<0.05 を有意差ありとした。

#### 「結果」

ペンタゾシン(0.1,0.3,1.0mg/kg)は投与 60 分後においては鎮痛効果が見られなかった。塩酸モルヒネ (10mg/kg) と生食を連日投与すると 5 日目でモルヒネ耐性が形成されたが、塩酸モルヒネとペンタゾシン(0.1,0.3,1.0mg/kg)を連日投与するとモルヒネ耐性形成をペンタゾシンは用量依存性に抑制した。この効果は nor-BNI で拮抗された。

ミダゾラム投与直前、投与後 10, 30, 45, 60, 90, 120 分後にホットプレートテストを行った結果、ミダゾラムは用量依存性に鎮痛効果を示した。ミダゾラム投与直前、投与後 10,30,45,60,90,120,150 分後にテイルプレッシャーテストを行った結果、ミダゾラムは用量依存性に鎮痛効果を示した。酢酸ライジングテストではミダゾラム 3mg/kg と 10mg/kg 投与群で鎮痛効果を示した。ランニングホイールテストではミダゾラムは用量依存性に自動能を低下させることはなく、鎮痛効果と自動能の低下に相関はみられなかった。バランスビームテストではミダゾラム 30mg/kg 投与群のみがビーム上に留まっていられなかったが、それ以外はビーム上に 90 秒以上留まっており、筋弛緩効果を認めなかった。

テイルプレッシャーテストでは、ミダゾラムを連日投与すると 5 日目から鎮痛効果に対する耐性が出現し、10 日目に鎮痛効果が消失した。ミダゾラム投与群の DBI mRNA は対照群のそれと比較して、大脳皮質及び線条体、間脳、海馬、中脳、橋及び延髄で有意に上昇した。ミダゾラム投与群の PBR mRNA は対照群のそれと比較して有意差はみられなかった。ミダゾラム投与群の GABA<sub>A</sub> α 2 mRNA は対照群のそれと比較して、海馬、橋及び延髄で有意に上昇した。

#### 「結論」

鎮痛効果を示さない低濃度のペンタゾシンを塩酸モルヒネと併用することにより、モルヒネ耐性は抑制され、その効果はカップオピオイド受容体を介する

ことが示された。

ミダゾラムの全身投与は生理的疼痛を用量依存性に抑制し、炎症性疼痛を抑制した。ミダゾラムをマウスに連日投与すると、その鎮痛効果に対する耐性が形成された。また、ミダゾラムを連日投与したマウスの脳内では、対照群のマウスの脳内と比較して、**DBI**、**GABA<sub>A</sub>α2**の**mRNA**が上昇した。ミダゾラムの鎮痛効果の耐性出現には**DBI**が関与していることが示唆された。