

解説

## 神経障害性疼痛に対するブシ末の薬理作用

ブシ(附子)は鎮痛、強心、利尿、新陳代謝賦活などの作用により古くからリウマチ、神経痛などの疼痛、四肢の冷え、更年期不定愁訴などに広く用いられてきた。臨床でも難治性神経障害性疼痛患者に対しブシ末を含む漢方薬が効果を示している。小泉修一先生らはブシ末の薬理学的プロフィールを精査することにより神経障害性疼痛の分子病態を解明し、治療標的分子を同定された。ここではその基礎医学研究の内容をご解説いただいた。

小泉 修一 山梨大学医学部薬理学講座 教授

keywords ブシ末, 神経障害性疼痛, グリア細胞, アストロサイト(星状細胞), ミクログリア

### 難治性の神経障害性疼痛 に奏効するブシ末

ブシ(附子)は有毒植物として知られるトリカブトの塊根からなる生薬である。鎮痛や強心、利尿、新陳代謝賦活などのさまざまな作用を持つため、古くからリウマチや神経痛などの疼痛、四肢の冷え、更年期不定愁訴などに広く用いられてきた。ブシは生で用いるとアコチン系アルカロイド成分により中毒症状を起こす危険性があるため、高圧蒸気処理により加工・減毒化(修治)を行い粉末化した修治ブシ末が用いられている。

臨床では難治性の神経障害性疼痛患者に対してブシ末を含む漢方薬を用いて有効なケースが多くみられる。しかし、神経障害性疼痛に対するブシ末の鎮痛作用メカニズムについてはこれまでに報告が少なく、その標的細胞や分子などは不明であった。

そこで筆者らは臨床的に効果が認められるブシ末を薬理学的ツールとして利用し、その薬理学的プロフィールを精査することにより、神経障害性疼痛の分子病態を解明して治療標的分子を同定することを試みた。

### 痛みの発生メカニズムと 神経細胞・グリア細胞

神経障害性疼痛は、事故、手術、帯状疱疹などのさまざまな原因により神経細胞が傷つき、その傷が治った後も疼痛が持続する難治性の慢性疾患である。国内では20万人、世界では約1,500万人の患者がいるともいわれるが、非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)やモルヒネなどの麻薬性鎮痛薬を投与しても無効なケースも多い。

通常、痛みは知覚神経を經由して脊髄に伝わり脊髄を上行して脳の体性感覚野に伝達される。神経障害

性疼痛では、その情報伝達系に異常が起こり傷が治っても痛みの情報が脳に伝わり続けてしまうものと考えられる。そのメカニズムははっきりとわかっていないが、近年、シナプス周辺にあるグリア細胞が関与していることが明らかになってきた(図1)。

脳は、神経細胞(ニューロン)と、それを支えるグリア細胞、血管の基となる血管内皮細胞から構成される。これまで脳研究の主体は活動性が高い神経細胞に置かれてきたが、近年グリア細胞が脳の活動をコントロールする非常に重要な働きを持つ細胞であることがわかり、精力的に研究が行われるようになってきた。

最近の研究により脊髄後角におけるグリア細胞の活性化が神経障害性疼痛の重要な原因の1つであることが明らかにされてきた<sup>1)</sup>。グリア細胞のなかには、アストロサイト(星状細胞)、ミクログリア、オリゴデンドロサイトがあるが、特にそのうちのミクログリアが、神経障害性疼痛誘

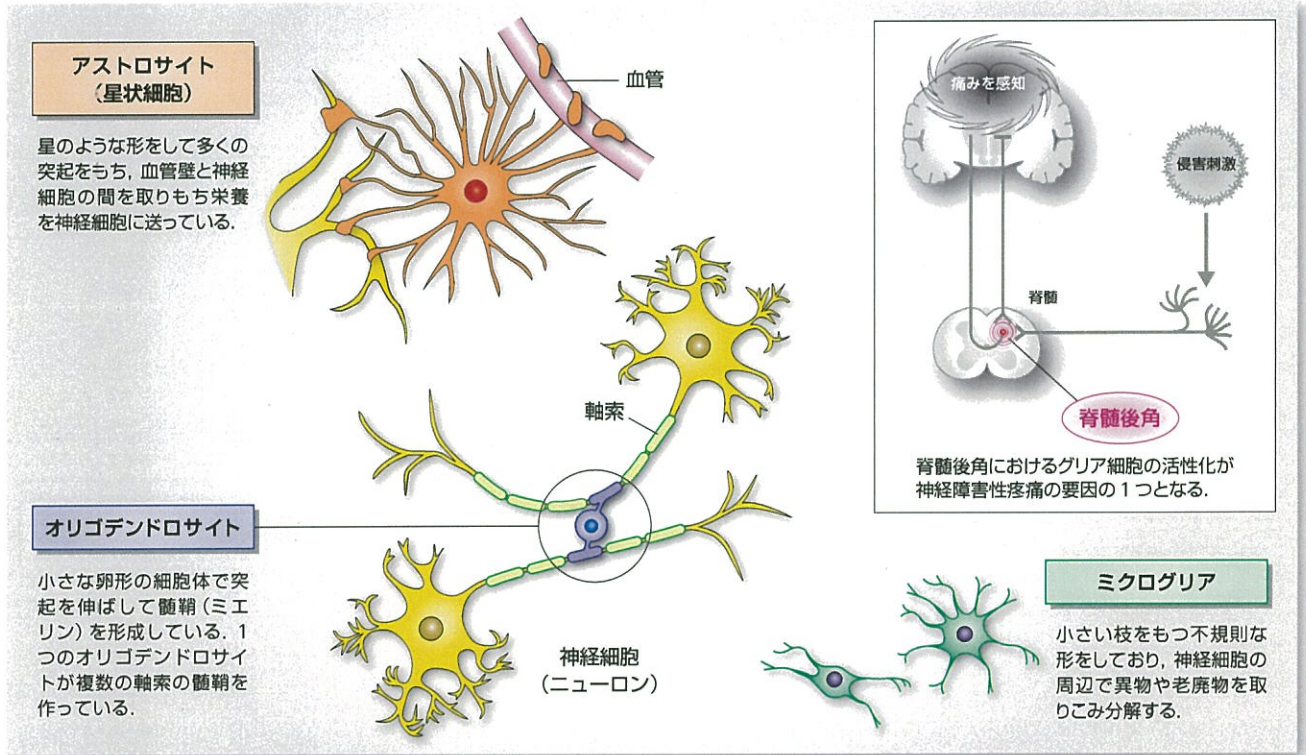


図1 痛みの伝達経路とグリア細胞(アストロサイト, オリゴデンドロサイト, ミクログリア)

(小泉 修一)

発の主要として精力的に研究されてきた<sup>2,3)</sup>。一方、神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄後角では、ミクログリアだけでなくアストロサイトの活性化が惹起されること<sup>4)</sup>、また活性化アストロサイトも疼痛を誘導する原因細胞であること<sup>5)</sup>も報告され、神経障害性疼痛におけるアストロサイトの役割にも注目が集まってきている。筆者らの研究によって、アストロサイトが神経障害性疼痛の原因であることが明らかになった。

### ブシ末の鎮痛効果は慢性期に有意に現れる

神経障害性疼痛におけるブシ末の鎮痛効果について調べるため、筆者らは片側後肢坐骨神経の部分

結紮(PSNL)手術により作成した神経障害性疼痛モデルマウスを用いて実験を行った。疼痛行動(機械的アロディニアおよび熱痛覚過敏)の時間経過を von Frey test および熱痛覚過敏テストにより観察し、それぞれに対するブシ末(TJ-3023, 300 mg/kg, 1回/1日経口投与)の影響を検討した<sup>6,7)</sup>。

その結果、ブシ末は疼痛閾値が徐々に低下する「痛みの形成期」(術後7日まで)には鎮痛効果を示さず、疼痛閾値の低下が維持される「痛みの慢性期」(術後7日以降)においてのみ有意な鎮痛効果を示した(図2-①, ②)。また、手術1週間前からブシ末を投与しても形成期においてはブシ末の鎮痛効果はみとめられなかった。

一方、慢性期の術後7日目から

ブシ末の投与を開始した場合、投与7日目からブシ末は著明かつ有意な鎮痛効果を示し、さらにその効果はブシ末の投与中止後も持続した(図3-①, ②)。

これらの結果からブシ末は形成期に鎮痛効果を示さず、慢性期においてのみ有意な鎮痛効果を示すことが明らかになった。この検討結果により神経障害性疼痛の形成期と慢性期ではそれぞれ異なるメカニズムがその分子病態に関与している可能性が示唆された。

### 慢性期の痛みに関与するアストロサイト

次に神経障害性疼痛の形成期および慢性期の分子病態を規定する

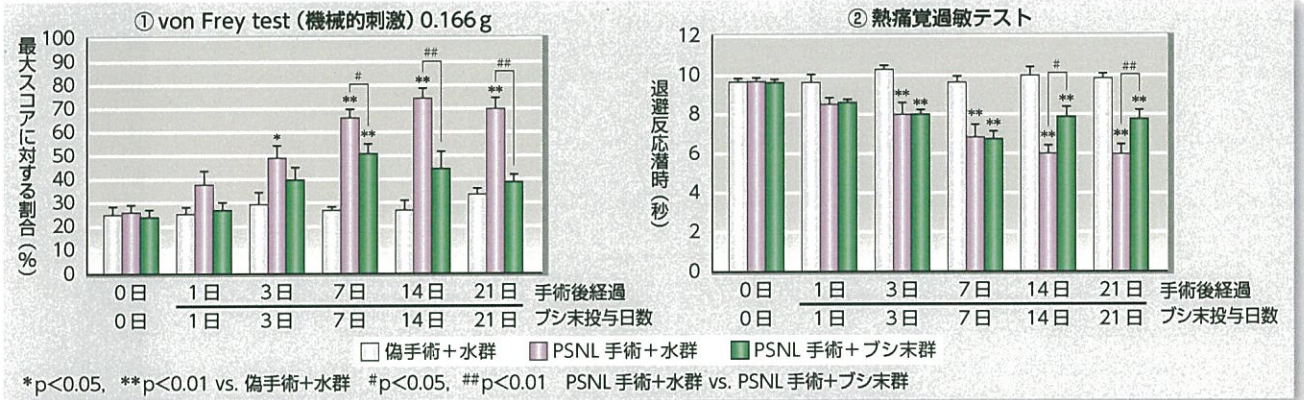


図2 PSNL手術直後からブシ末投与を開始した際の鎮痛効果 (n=9)

柴田 圭輔, 小泉 修一, ベインクリニック. 2011, 32(10), p.1482より

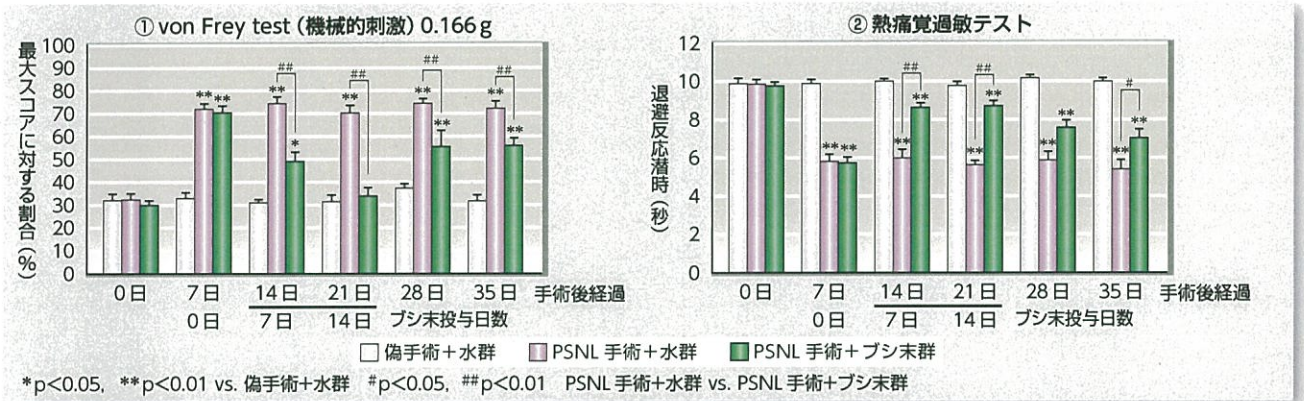


図3 PSNL手術7日後からブシ末投与を開始した際の鎮痛効果 (n=9)

柴田 圭輔, 小泉 修一, ベインクリニック. 2011, 32(10), p.1482より

独立した因子がなんであるかを調べるため、関与する脊髄グリア細胞の違いに着目して免疫組織化学的な解析を行った<sup>6,7)</sup>。

神経障害性疼痛モデルマウスを用いて観察したところ、PSNL手術後3日目より手術側の脊髄後角において、Iba1 (脊髄マイクログリアのマーカー蛋白) 陽性マイクログリアの著明な形態変化(活性化)がみとめられた。また、その活性化は形成期および慢性期を通じて持続していた。なお、このマイクログリア活性化と疼痛閾値低下の時間経過はよく一致していた。

一方、PSNL手術後21日目にGFAP (アストロサイトのマーカー

蛋白) 陽性アストロサイトの顕著な形態変化がみとめられ、アストロサイトはマイクログリアと異なり術直後ではなく1週間ほどしてから活性化するという特徴がみられた。

これらのことから神経障害性疼痛においては、疼痛の形成期にIba1 陽性マイクログリアの著明な形態変化が、慢性期ではGFAP 陽性アストロサイトの顕著な形態変化が関与していることが明らかになった。

ブシ末の投与を行って同様にグリア細胞を調べたところ、ブシ末は慢性期のアストロサイトの活性化を有意に抑制した(図4, 図5-②)。ブシ末の鎮痛効果がみられない形成期には、多くの活性化型ミク

グリアが観察されるが、ブシ末はその活性化に影響を与えなかった(図5-①)。これらの結果から、ブシ末は活性化アストロサイトを抑制することにより慢性期の疼痛を抑制している可能性があると考えられた。神経障害性疼痛の形成期および慢性期における痛みの変化と、脊髄グリア細胞の活性化との関係を図6に示す。

**ブシ末は活性化アストロサイトを抑制し鎮痛効果を示す**

ブシ末が慢性期の神経障害性疼痛に有効なことは臨床的に明らかだ

が、筆者らはそのメカニズムはアストロサイトの脱活性化に起因するものではないかとの仮説を立てた。そこでミクログリアおよびアストロサイトの特異的活性化阻害薬を用いて、グリア細胞活性化の疼痛行動 (von Frey test) への関与と病態における役割について検討を行った<sup>6,7)</sup>。

ミクログリアの特異的活性化阻害薬であるミノサイクリン (30 mg/kg) を手術7日前から腹腔内投与したところ、形成期および慢性期の疼痛を有意に抑制した。しかし、慢性期に入った術後15日目からミノサイクリンを投与した場合には、ミクログリアの活性化は抑制されるものの、疼痛行動は抑制されなかった。このことから、ミクログリアのみが活性化している形成期ではミクログリアが疼痛行動に大きく影響していること、ミクログリアとアストロサイトがともに活性化している慢性期では、ミクログリアの活性化を抑制しても慢性期の疼痛を抑えることはできないこと、すなわち慢性期におけるミクログリアの活性化は、疼痛行動にはあまり関与しない可能性が示唆された。

一方、アストロサイトの特異的活

性化阻害薬であるフルオロサイトレート (100 fmol/5  $\mu$ L/mouse) を

手術直後から投与すると、形成期の疼痛は抑制せず、慢性期の疼痛を有

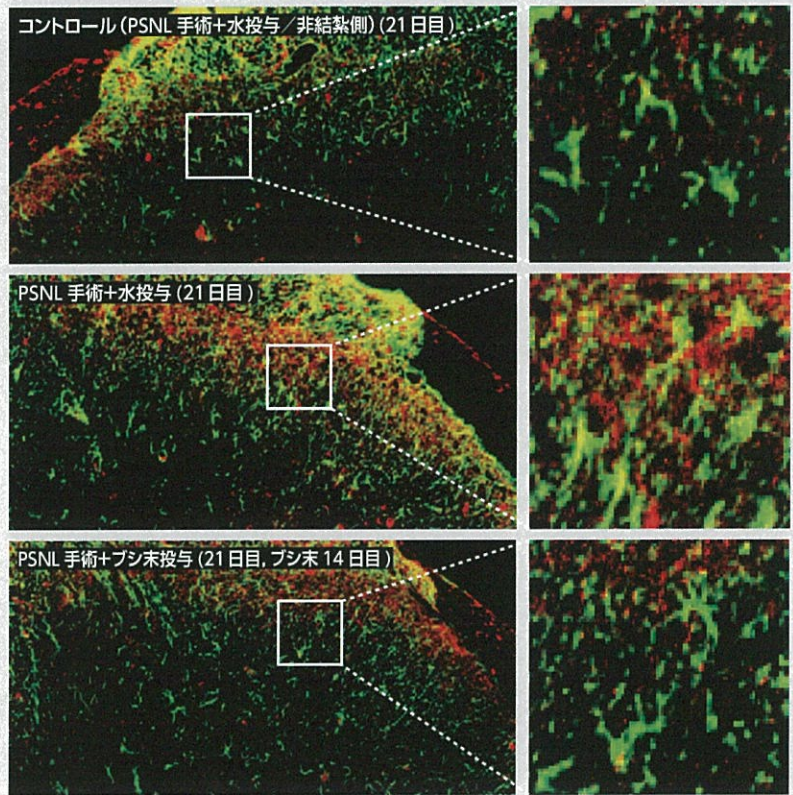


図4 神経障害性疼痛モデルマウス脊髄後角のアストロサイトおよびアストロサイト活性化指標 (pERK) の変化 (免疫組織像)

緑はGFAP (アストロサイトのマーカー蛋白)、赤はpERK (リン酸化ERK MAPキナーゼ)。神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄後角ではアストロサイトの活性化 (緑と赤のシグナルが共存する黄色のシグナルが増加) が顕著に観察されるが、PSNLの投与により激減した。

Shibata K, et al. PLoS One. 2011, 6(8), e23510 より

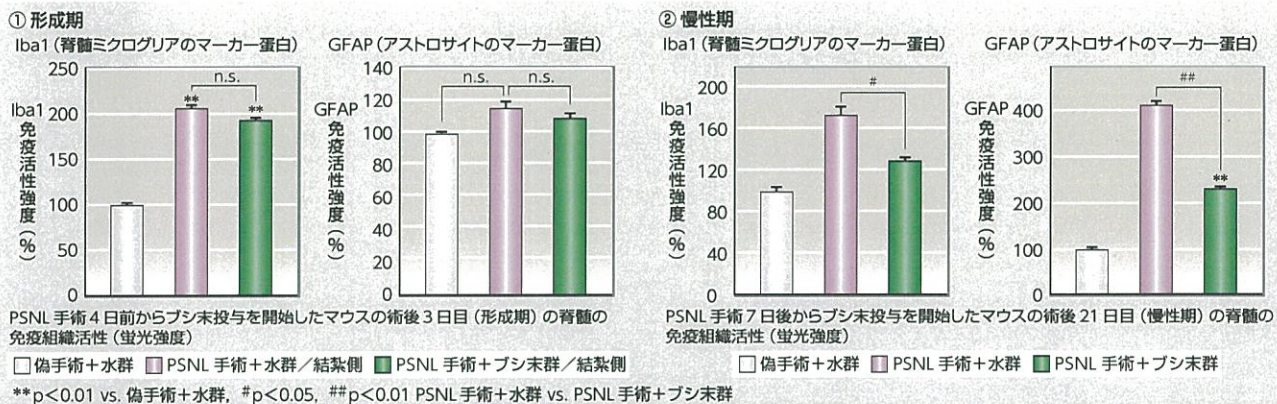


図5 神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄グリア細胞活性化に対するPSNLの影響

柴田 圭輔, 小泉 修一. ペインクリニック. 2011, 32(10), p.1484より

表1 ミクログリアとアストロサイトに対するブシ末および特異的活性化阻害薬の作用と疼痛抑制の有無

	コントロール		ブシ末投与		ミクログリア阻害薬投与		アストロサイト阻害薬投与	
	形成期	慢性期	形成期	慢性期	形成期	慢性期	形成期	慢性期
ミクログリア活性化(+活性化あり, -活性化なし)	+	+	+	+/-	-	-	+	+/-
アストロサイト活性化(+活性化あり, -活性化なし)	-	+	-	-	-	+/-	-	-
疼痛(+疼痛あり, -疼痛なし)	+	+	+	-	-	+/-	+	-

(小泉 修一)

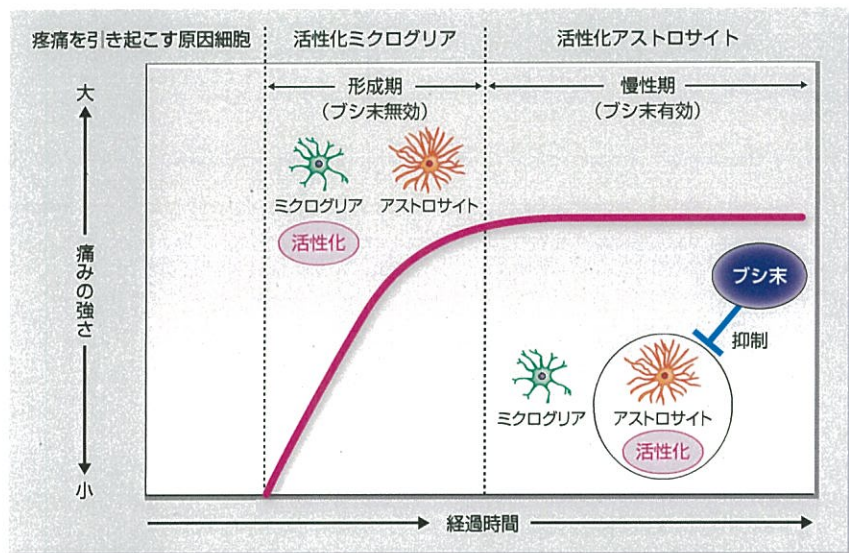


図6 痛みの形成期と慢性期にみられる活性化グリア細胞

ブシ末は痛みの慢性期に活性化するアストロサイトを抑制することで鎮痛効果を示す。(小泉 修一)

意に抑制した(表1)。また、フルオロサイトレートは手術14日後から投与した場合にも鎮痛効果を呈し、すでに形成された痛みに対しても有意な鎮痛効果を有することがわかった。以上の結果より、ブシ末の鎮痛効果の発現メカニズムは、フルオロサイトレートと同様のアストロサイトの脱活性化によるものであることが示唆された。

末は形成期に鎮痛効果を示さず、慢性期においてのみ有意な鎮痛効果を呈すること、②形成期は活性化ミクログリアが、慢性期には活性化アストロサイトが疼痛を引き起こす原因細胞となっていること、③ブシ末はアストロサイトの活性化を抑制することによって慢性期の疼痛を抑制している可能性があることを明らかにした(図6)。

アストロサイトは、シナプスを取り囲むように存在し、シナプス伝達をダイナミックに制御する細胞であることが知られている。ブシ末によって活性化アストロサイトを脱活性化することは、難治性神経障害性疼痛に対する有効な治療戦略であると考えられる。

ブシ末には複数の化学物質が含まれており、まだ有効性を示す成分がなにかは同定できていない。より有効な治療方法を見出すため、またより詳細な神経障害性疼痛の分子病態を明らかにするために、ブシ末の有効成分の同定を行い、より有効性が高く、副作用の少ない治療薬の開発に結びつけたいと考えている。

また、アストロサイトの異常は神経障害性疼痛のほかにもさまざまな脳疾患の分子病態にも関連するイベントであると考えられる。今後の脳・脊髄研究における「神経-グリア細胞連関」研究は、ますますその重要性を増すことが予想される。

謝辞 本研究は山梨大学医学部柴田圭輔助教、健友堂クリニック菅原健院長との共同研究です。

●文献

- 1) De Leo JA, Tawfik VL, LaCroix-Fralish ML. Pain. 2006, 122(1-2), p.17-21.
- 2) Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Koizumi S, et al. Nature. 2003, 424(6950), p.778-783.
- 3) Coull JA, Beggs S, Boudreau D, et al. Nature. 2005, 438(7070), p.1017-1021.
- 4) Vallejo R, Tilley DM, Vogel L, et al. Pain Pract. 2010, 10(3), p.167-184.
- 5) Feng QX, Wang W, Feng XY, et al. Neuroscience. 2010, 167(2), p.501-509.
- 6) Shibata K, Sugawara T, Fujishita K, et al. PLoS One. 2011, 6(8), e23510.
- 7) 柴田圭輔, 小泉修一. ペインクリニック. 2011, 32(10), p.1481-1490.

期待されるブシ末の臨床応用

これまでの研究から筆者らは、神経障害性疼痛に関して、①ブシ