

学 位 論 文 の 要 旨

学位の種類	博 士	氏 名	大 宮 雄 司
学 位 論 文 題 目			
Antinociceptive effect of shakuyakukanzoto, a Kampo medicine in diabetic mice (漢方薬芍薬甘草湯の糖尿病マウスにおける抗侵害受容作用に関する研究)			
共 著 者 名			
鈴木康之, 讓原光利, 村田実希郎, 油田正樹, 加瀬義夫, 竹田秀一			
Journal of Pharmacological Sciences 99巻 373頁~380頁 平成17年10月			
研 究 目 的			
<p>芍薬甘草湯は芍薬と甘草より成る漢方薬であり, 臨床ではこむら返りに代表される筋肉の痙攣を伴う痛みに対して用いられる. 糖尿病性神経障害を有する患者の多くでこむら返りを併発することが知られているが, このような患者に芍薬甘草湯を投与したところ, 約7割でこむら返りの完全な消失ならびに痛みの改善が認められている. 一方, 基礎検討において, 芍薬甘草湯は正常動物に与えられた侵害刺激に対し, ほとんど抗侵害受容(鎮痛)活性を示さない⁽¹⁾ことから, 同薬の薬効はとりわけ病態において発現される可能性が考えられる. そこで, 糖尿病患者で認められる芍薬甘草湯の鎮痛効果を実験的に証明するため, 本研究では糖尿病性神経障害の動物モデルを用いた検討を計画した.</p>			
材 料 ・ 方 法			
<p>動物は体重20-25 gのddY系雄性マウスを用いた. 糖尿病はストレプトゾトシン(STZ;150 mg/kg)を静脈内投与することにより誘発した. 芍薬甘草湯, デシプラミン塩酸塩は5%アラビアゴム溶液に懸濁し, 10 mL/kgを経口投与した. ヨヒンビン塩酸塩, メチセルギドマレイン酸塩, L-ノルエピネフリン水和物は0.9%生理食塩水に溶解した. NAN-190, MDL-72222は少量のDMSOに溶解し, 生理食塩水で希釈した. 6-hydroxydopamine (6-OHDA)塩酸塩は0.1%アスコルビン酸含有生理食塩水に溶解した. μ, δ, κ-オピオイド受容体拮抗薬(β-funaltrexamine, naltrindole, nor-binaltorphimine)は芍薬甘草湯投与のそれぞれ24時間前, 15分後, 2時間前に皮下投与した. ヨヒンビン, 5-HT受容体拮抗薬, 6-OHDA, ノルエピネフリンは5 μLの容量を脊髄腔内投与した. ヨヒンビン, 5-HT受容体拮抗薬は芍薬甘草湯投与の15分後に, 6-OHDAは鎮痛試験の3日前に処置した.</p> <p>鎮痛試験は尾圧テストにより評価した. すなわち, マウスの尾根部より1 cmの箇所毎秒16 gで圧力を負荷し, マウスの逃避行動を指標に被験薬投与後0~3時間における侵害受容閾値を計測した. 経時時間に対する侵害受容閾値のプロットよりtime-response curveを作成し, その曲線下面積(AUC)を抗侵害受容作用と定義した.</p> <p>鎮痛試験における結果は, 平均値\pm標準誤差で表した. 統計学的解析にはStudent's <i>t</i>-testあるいは一元分散分析の後, Dunnett's <i>t</i>-testを用いた.</p>			

成 績

痛覚反応性を検討した結果、糖尿病マウスにおける侵害受容閾値は正常マウスと比較して有意に低下、すなわち痛覚過敏の発現が認められた。芍薬甘草湯 (0.5, 1.0 g/kg) は正常マウスにおいて抗侵害受容作用を発現しなかったが、糖尿病マウスでは有意な抗侵害受容作用を示した。三環系抗うつ薬であるデシプラミン (50 mg/kg) は、正常および糖尿病マウスの両方ではほぼ同等の鎮痛効力を示した。

糖尿病マウスにおける芍薬甘草湯 (1.0 g/kg) の抗侵害受容活性は、 μ , δ , κ -オピオイド受容体拮抗薬のいずれによっても影響を受けなかった。また、同作用は α_2 -ノルアドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビンにより消失したが、5-HT_{1A}受容体拮抗薬であるNAN-190, 5-HT₁および5-HT₂受容体拮抗薬であるメチセルギド, 5-HT₃受容体拮抗薬であるMDL-72222により影響を受けなかった。6-OHDAによりノルアドレナリン神経系を化学的に破壊した糖尿病マウスでは、芍薬甘草湯 (1.0 g/kg) の抗侵害受容作用は発現されなかった。正常および糖尿病マウスにおいて、ノルエピネフリン (0.06-2 μ g) は用量依存的な抗侵害受容活性を示したが、同薬の作用強度は正常マウスにおけるよりも糖尿病マウスにおいてより顕著であった。ヨヒンビンは糖尿病マウスにおいて発現されるノルエピネフリンの抗侵害受容作用を有意に抑制した。

考 案

正常動物では有意な侵害受容閾値の上昇を示さない薬剤が、痛覚過敏動物では有意な抗侵害受容作用を発現することが明らかになっている⁽²⁾。正常マウスにおいて抗侵害受容作用を発現しない芍薬甘草湯が糖尿病マウスで有意な作用を発現したことから、糖尿病動物では抗侵害受容作用の発現機能が変化していると推察された。芍薬甘草湯とは対照的に、デシプラミンは両動物において有意な抗侵害受容作用を示したことから、芍薬甘草湯の作用部位はモノアミン再取り込み抑制を作用機序とする三環系抗うつ薬とは異なる可能性が考えられる。糖尿病動物においては、オピオイド受容体を介する抗侵害受容作用が変化していることが複数報告されている。しかしながら、糖尿病マウスにおいて芍薬甘草湯の抗侵害受容作用が各種オピオイド受容体拮抗薬により影響を受けなかった結果から、芍薬甘草湯の作用機序にオピオイド受容体は関与しない。

中枢神経系において、下行性痛覚抑制系すなわち下行性ノルアドレナリン神経系およびセロトニン神経系の活性化は、脊髄において一次神経終末より放出されるサブスタンス Pやソマトスタチンなどの神経伝達物質を抑制することにより鎮痛をもたらすことはよく知られている。本検討において、芍薬甘草湯の抗侵害受容活性がヨヒンビンの脊髄腔内投与によって消失し、各種の5-HT受容体拮抗薬で影響を受けなかったことから、芍薬甘草湯の抗侵害受容作用発現には脊髄のセロトニン神経系ではなく、下行性ノルアドレナリン神経系が重要であることが示唆された。また、6-OHDAを処置した糖尿病マウスにおいて芍薬甘草湯が抗侵害受容作用を示さなかった結果から、同薬剤は α_2 -ノルアドレナリン受容体に直接作用するのではなく、脊髄においてノルアドレナリンを放出することにより間接的に α_2 -ノルアドレナリン受容体を刺激していると考えられた。一方、糖尿病マウスにおいて脊髄腔内投与したノルエピネフリンの抗侵害受容活性が正常マウスのそれと比較して顕著に上昇しており、さらに同作用がヨヒンビンの脊髄腔内投与により拮抗された結果から、脊髄内 α_2 -ノルアドレナリン受容体を

介する鎮痛は糖尿病マウスにおいて増大することが明らかとなった。これらは、糖尿病動物においてノルアドレナリン神経系に作用する薬物が顕著な活性を示す一方で、セロトニン神経系はノルアドレナリン神経系ほど疼痛コントロールに関与しないという報告⁽³⁾を支持する。

以上をまとめると、糖尿病マウスで発現される芍薬甘草湯の抗侵害受容作用は、脊髄のノルアドレナリン神経系の機能亢進に基づき、その作用部位は三環系抗うつ薬とは異なると推察される。糖尿病動物における機能亢進が α_2 -ノルアドレナリン受容体の親和性変化によるものか、あるいは受容体数の変動によるものかについては、今後更なる検討が必要である。

結 論

糖尿病マウスにおける芍薬甘草湯の抗侵害受容作用は、脊髄の下行性ノルアドレナリン神経系を選択的に活性化することにより発現される。芍薬甘草湯が糖尿病性神経障害に関連する痛みの緩和に有効であることが裏付けられた。

引 用 文 献

- (1) Takeda S, Goto K, Ishige A, Wei JW, Ruo T IH, Cheng FC et al. General pharmacological properties of *Shakuyaku-kanzo-to*. *Oyo Yakuri/ pharmacometrics*. 2003;64:23-31.
- (2) Miura T, Okazaki R, Yoshida H, Namba H, Okai H, Kawamura M. Mechanisms of analgesic action of neurotropin on chronic pain in adjuvant-induced arthritic rat: roles of descending noradrenergic and serotonergic systems. *J. Pharmacol. Sci.* 2005;97:429-436.
- (3) Courteix C, Bardin M, Chantelauze C, Lavarenne J, Eschalier A. Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. *Pain*. 1994;57:153-160.

参 考 论 文

1. Omiya Y, Goto K, Ishige A, Komatsu Y. Changes in analgesia-producing mechanism of repeated cold stress loading in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000;65:261-266.
2. Omiya Y, Goto K, Suzuki Y, Ishige A, Komatsu Y. Analgesia-producing mechanism of processed Aconiti tuber: role of dynorphin, an endogenous kappa-opioid ligand, in the rodent spinal cord. *Jpn. J. Pharmacol.* 1999;79:295-301.
3. Taki M, Niitu K, Omiya Y, Noguchi M, Fukuchi M, Aburada M, Okada M. 8-O-cinnamoylneoline, a new alkaloid from the flower buds of *Aconitum carmichaeli* and its toxic and analgesic activities. *Planta Med.* 2003;69:800-803.
4. Suzuki Y, Goto K, Shiizaki K, Omiya Y, Ishige A, Komatsu Y, Kamei J. Antinociceptive effect of U-50488H, a kappa-opioid agonist, in streptozotocin-induced diabetic mice. *Pharm. Pharmacol.* 2001;53:521-526.
5. Suzuki Y, Oyama T, Ishige A, Isono T, Asami A, Ikeda Y, Noguchi M, Omiya Y. Antinociceptive mechanism of the aconitine alkaloids mesaconitine and benzoylmesaconine. *Planta Med.* 1994;60:391-394.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士 (医学)	氏 名	大宮 雄司
<p>審査委員長 羽 田 勝 計 ㊞</p> <p>審査委員 坂 本 尚 志 ㊞</p> <p>審査委員 葛 西 眞 一 ㊞</p>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p><i>Antinociceptive effect of shakuyakukanzoto, a Kampo medicine, in diabetic mice.</i> (漢方薬芍薬甘草湯の糖尿病マウスにおける抗侵害受容作用に関する研究)</p>			
<p>疼痛は糖尿病性神経障害の主症状の一つであるが、有痛性糖尿病性神経障害の治療法は未だ確立していない。漢方薬である芍薬甘草湯は有痛性筋痙攣に有効であることが報告されており、糖尿病性神経障害による疼痛に対しても有効である可能性が考えられる。本研究において、申請者らは、芍薬甘草湯が、正常マウスでは抗侵害受容 (鎮痛)作用を示さなかったが、痛覚過敏を示すストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスにおいては、有意な抗侵害受容作用を有することを示した。糖尿病マウスにおける芍薬甘草湯の抗侵害受容作用は、各種オピオイド受容体拮抗薬の前処置、あるいは各種セロトニン受容体拮抗薬の脊髄腔内投与により影響を受けず、α_2-ノルアドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンピンの脊髄腔内投与により消失した。また、化学的にノルアドレナリン神経系を破壊した糖尿病マウスでは、芍薬甘草湯は抗侵害受容作用を示さなかった。さらに、正常および糖尿病マウスにおいて、脊髄腔内投与したノルエピネフリンは共に用量依存的な抗侵害受容活性を示したが、その効果は正常マウスよりも糖尿病マウスにおいてより顕著であった。以上より、芍薬甘草湯が糖尿病マウスで有意な鎮痛効果を発現する理由として、脊髄内α_2-ノルアドレナリン受容体を介する鎮痛機能の亢進が推察された。</p> <p>本研究により、糖尿病性神経障害による疼痛に対して芍薬甘草湯が有効であることが示されると共に、その作用機構の一部が解明され、今後の有痛性糖尿病性神経障害の治療を考える上で極めて重要な研究であると考えられる。</p> <p>尚、諮問審査においても、本論文とその関連領域に関して十分な知識を有することが確認できた。よって、本論文を、医学博士の学位論文に値するものと判断した。</p>			