

痛覚と鎮痛の研究 39 年を振り返って

倉石 泰

A Memoir of My Research on Pain and Analgesia for 39 Years

Yasushi Kuraishi

Laboratory of Applied Pharmacology, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences,
University of Toyama; 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan.

(Received July 2, 2014)

This review describes my research for the past 39 years regarding the pharmacology of pain and analgesia. We have demonstrated that the descending noradrenergic system is involved in the analgesic effect of morphine injected into the nucleus reticularis gigantocellularis, and that noradrenaline exerts antinociception mediated by α -adrenoceptors. We have found that noxious mechanical and thermal stimuli to the skin increase the release of substance P and somatostatin, respectively, from the dorsal horn *in situ*, and that noradrenaline inhibits the release of substance P and glutamate from primary afferents. We developed an animal model of cancer pain using melanoma cells. We have shown that the suppression of cancer pain results in the inhibition of tumor growth and lung metastasis, and that melanoma cells release several algogenic substances including ATP, endothelin-1, and bradykinin. We investigated neuropathic allodynia induced by the chemotherapeutic drugs paclitaxel, oxaliplatin, vincristine, and bortezomib. Single administration of these drugs caused allodynia with similar time-courses. However, antiallodynic actions of adjuvant analgesics, including gabapentin and limaprost, were dependent on the chemotherapeutic drugs used. Limaprost experiments have revealed that a decrease in peripheral blood flow is involved in allodynia exacerbation after the administration of paclitaxel and oxaliplatin. We have developed animal models of herpetic pain and postherpetic neuralgia using herpes simplex virus 1. We have demonstrated that nitric oxide, prostaglandin E₂, and galectin-3 are involved in herpetic allodynia, that risk factors associated with postherpetic allodynia include severe herpetic pain, nociceptin, and major histocompatibility complex, and that deafferentation and nitric oxide are involved in postherpetic allodynia.

Key words—neuropathic pain; descending noradrenergic system; nociceptive transmitter; cancer pain

1. はじめに

筆者は 1968 年に京都大学薬学部に入學し、1971 年に特別実習で高木博司教授（薬理学講座）の門をたたいた。卒業後大学院に進学したが、高木博司先生のライフワークであった morphine の鎮痛作用機序解明の研究プロジェクトに加わったのは、大学院薬学研究科博士課程も半ばを過ぎてからであった。Noradrenaline と serotonin の脊髄における遊離量が morphine や侵害刺激により増加することを代謝産物の濃度の増加から証明する研究に取り組んでおられた助手の塩見浩人先生（後に福山大学薬学部教

授）の研究をお手伝いするかたちでのスタートであった。¹⁾ 博士課程修了後、幸運にも薬理学講座で助手として研究を継続することができ、高木博司先生の指導の下で 10 年間、さらに後任の教授に昇任された佐藤公道先生の指導の下で助教授として 5 年間、薬理学講座での研究を続けることができた。1992 年には、縁あって富山医科薬科大学和漢薬研究所（臨床利用部門）に教授として赴任したが、その約 2 年前に佐藤公道先生から、動物実験による痒みの評価を研究テーマとしていただいた。そのお陰で、動物実験による痒みの評価系がないことと、マスト細胞の histamine が最終共通痒み因子ではない可能性を知ることができた。そこで、富山医科薬科大学（2005 年に富山県内 3 国立大学の再編統合により新・富山大学となる）赴任後は、痛みと痒みを研究課題の二本の柱としてきた。2014 年 3 月に富山大学（大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室）

The author declares no conflict of interest.

富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室
(〒930-0194 富山市杉谷 2630 番地)

e-mail: kuraisiy@pha.u-toyama.ac.jp

本総説は、平成 25 年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

の定年退職を迎え、薬学雑誌編集委員会から執筆の機会をいただいた。回顧総説ならば一般の総説とは異なり自分の経験や考えも自由に書けると考え、この誌面をお借りして、筆者の39年間のテーマであった痛覚と鎮痛の研究について振り返ることとした。

2. 下行性ノルアドレナリン神経系

筆者が morphine の鎮痛作用機序解明の研究プロジェクトに加わった頃、高木研では、生化学及び電気生理学的研究から morphine の鎮痛効果発現における下行性ノルアドレナリン神経系の関与を明らかにしていた。^{2,3)} また、morphine の鎮痛効果発現における下位脳幹部の作用点として延髄の巨大細胞網様核を突きとめていた。^{4,5)} そこで筆者は、巨大細胞網様核に作用した morphine が下行性ノルアドレナリン神経系を介して鎮痛効果を発現するとの仮説を証明する実験に取り組んだ。^{6,7)} また、この研究結果から noradrenaline は脊髄の痛覚抑制物質であるとの仮説を立て、その証明のために noradrenaline をラットに髄腔内注射し、 α -アドレナリン受容体を介して鎮痛効果が発現することを明らかにした。⁸⁾ 少し遅れて、Yaksh (当時、Mayo 医科大学) のグループも noradrenaline の髄腔内注射による鎮痛効果を報告した。⁹⁾ 下行性ノルアドレナリン神経系による痛みの抑制の研究から約30年後、痒みの抑制にも下行性ノルアドレナリン神経系が関与することを明らかにした。^{10,11)}

3. 神経ペプチドと痛覚・鎮痛

3-1. オピオイドペプチド 1970年代前半に morphine が特異的に結合する受容体 (morphine はアヘンアルカロイド opiate であったので opiate receptor と称された。オピオイドペプチドの発見後は opioid receptor と呼ばれる) の存在が明らかになり、その受容体に結合する内因性因子として Met-enkephalin と Leu-enkephalin の単離・同定が1975年にKosterlitzのグループから報告された。その後 β -endorphin などのオピオイドペプチドの報告が相ついだ。そのような状況下で、高木博司先生から巨大細胞網様核の Met-enkephalin を測定するように指示を受け、抗 Met-enkephalin 抗血清の作製、Met-enkephalin の¹²⁵I 標識と精製、Met-enkephalin のラジオイムノアッセイによる測定法、巨大細胞網様核の局所灌流法の確立に取り組んだ。かなりの年月を要したが、炎症性侵害刺激 (formalin 刺激と

侵害性熱刺激) を後肢に加えることにより、ラットの巨大細胞網様核からの Met-enkephalin の遊離量が数時間にわたって次第に増加することを明らかにできた。^{12,13)}

3-2. Substance P と somatostatin 1970年代後半には、一次感覚ニューロンの substance P が興奮性伝達物質である可能性を示唆する報告がなされていたが、1980年から1981年にかけ Nagy らが capsaicin をラット新生仔に皮下注射あるいは髄腔内注射することにより、一次感覚神経が障害を受け substance P が減少するとともに侵害受容反応が抑制されることを報告し、^{14,15)} substance P が侵害受容情報の伝達に関与する可能性が高まった。そこで、下行性ノルアドレナリン神経系の痛覚抑制機序の研究を進めるには substance P の測定が必須であると考え、抗 Met-enkephalin 抗血清の作製と並行して抗 substance P 抗血清の作製を試みた。抗体価の高い抗 substance P 抗血清の作製は比較的早く成功したので、早速、ウサギの腰髄後角を局所灌流し、後肢に非侵害性刺激と侵害性刺激を加えて、脊髄後角からの substance P の遊離量の変化を調べた。実験開始前は、程度の差こそあれ種々の侵害性刺激で遊離量が増加し非侵害性刺激では変化しないと予想していた。しかしながら、侵害性機械刺激により substance P の遊離量が再現性よく増加したが、輻射熱刺激の場合、皮膚に炎症が起こらない条件下で刺激をいくら強くしても substance P 遊離量の増加を観察することができなかった。そこで、侵害性熱刺激で遊離量が増える内在性物質を探すことにしたが、まず候補が上がったのが somatostatin であった。Somatostatin は substance P とは別々の一次感覚ニューロンに存在することが報告されていた。¹⁶⁾ 果たして、侵害性機械刺激では substance P 遊離量のみ増加し、侵害性熱刺激では somatostatin 遊離量のみが刺激の強さに応じて増加した。¹⁷⁾ これ



倉石 泰

富山大学名誉教授、薬学博士。1948年生まれ。1972年京都大学薬学部卒業、1977年同大学大学院薬学研究科博士課程修了。1977年京都大学薬学部助手、1987年同学部助教授、1992年富山医科大学薬科大学と漢薬研究所教授、1996年同大学薬学部教授、2005年富山大学理事・副学長、2009年同大学医学薬学研究部教授、2014年退職。

Table 1. Effects of Innocuous and Noxious Peripheral Stimuli on the Release of Substance P from the Lumbar Dorsal Horn in Rabbits

Stimulation	n	Substance P release (fmol/min, mean \pm S.E.M.)		
		Basal	Stimulating	S/B
Pinch	15	17.0 \pm 1.8	115.7 \pm 32.7	6.8**
Air-jet	4	18.8 \pm 3.1	17.4 \pm 3.4	0.9
Rubbing	2	24.2	20.3	0.8
Vibration	2	6.2	12.1	1.9
Joint movement	2	8.1	11.9	1.4
Formalin ^a	15	23.5 \pm 2.3	102.3 \pm 24.3	4.3*
Chilling ^b (0°C)	3	2.8 \pm 1.1	2.6 \pm 0.9	0.9
Warming ^c (40°C)	5	5.7 \pm 1.4	6.7 \pm 0.4	1.2
Heating ^c (45°C)	5	7.8 \pm 1.5	5.6 \pm 0.7	0.7
(48°C)	15	18.4 \pm 2.6	21.6 \pm 3.6	1.2
(50°C)	5	9.3 \pm 0.5	6.9 \pm 1.3	0.7
(53°C)	5	21.9 \pm 4.8	33.0 \pm 3.2	1.5
(53°C) inflammatory	1	8.7	43.2	5.0

^a Diluted formalin (5% formaldehyde) was injected into the hindlimb. ^b A piece of ice was placed on the hindlimb for 20 min. ^c Radiant heat was delivered against the skin for 30 s, which was repeated at 1-min intervals for 20 min. Values in parentheses indicate the maximum subcutaneous temperature. * $p < 0.01$. ** $p < 0.001$. Adapted from reference 21).

は、侵害受容情報も機械・熱など質の違いにより関与する伝達物質が異なる可能性を初めて示した知見であった。その後、他のグループによっても somatostatin 遊離量が侵害性熱刺激で増加するが侵害性機械刺激では増加しないこと、^{18,19)} また、substance P 遊離量が侵害性機械刺激で増加し、非炎症性の侵害性熱刺激では増加しないことが確認された。^{19,20)} なお、侵害性熱刺激も熱傷を生じる程度に強くなると substance P 遊離量を増加させ、formalin 注射による炎症性刺激も substance P 遊離量を増加させた (Table 1)。²¹⁾

抗 substance P 抗血清の髄腔内注射は、健常ラットの機械的侵害受容閾値を上昇させる傾向を示したが、carrageenan 誘発炎症及び反復低温ストレス暴露による非炎症性の機械的刺激に対する痛覚過敏を有意に抑制した (Table 2)。²²⁾ 抗 somatostatin 抗血清の髄腔内注射は、健常ラットの熱的刺激に対する反応潜時を軽度ながら有意に延長させ、機械的侵害受容閾値には影響しなかった (Table 2)。²³⁾ アジュバント関節炎ラットの一次感覚ニューロンで somatostatin の生合成と軸索輸送が増大し、²⁴⁾ 抗 somatostatin 抗血清の髄腔内注射がアジュバント関節炎ラットの熱刺激に対する侵害受容反応潜時を顕著に延長させた。²⁴⁾ なお、アジュバント関節炎ラッ

Table 2. Modality-dependent Involvement of Neuropeptides in Nociceptive Transmission in the Dorsal Horn

Neuropeptides	Mechanical nociception	Thermal nociception
Substance P	+	—
Galanin	+	—
Somatostatin	—	+
CGRP	+	+

CGRP, calcitonin gene-related peptide; +, involved; —, uninvolved.

トの機械的痛覚過敏には影響しなかった。²⁴⁾ これらの研究結果から、痛覚過敏状態でも機械刺激と熱刺激による侵害受容情報の伝達機構が異なると考えた。

3-3. Substance P と下行性ノルアドレナリン神経系 侵害性機械刺激が substance P 遊離の適当刺激であることが明らかとなったので、substance P の脊髄後角からの侵害性機械刺激誘発遊離に及ぼす morphine と下行性ノルアドレナリン神経系の影響を調べた。Morphine は比較的大量の全身性投与により substance P の誘発遊離をほぼ完全に抑制し、この抑制効果が上位脊髄の切断及び脊髄後角局所への α -アドレナリン受容体遮断薬の投与で抑制された。²⁵⁾ また、noradrenaline の脊髄後角局所投与により substance P の誘発遊離がほぼ完全に抑制され、この抑制効果が α -アドレナリン受容体遮断薬で拮抗された。特に、 α_2 -アドレナリン受容体遮断

薬 yohimbine は、脊髄後角局所への単独投与で substance P の誘発遊離量を有意に増加させた。²⁶⁾ 加えて、上位脊髄を切断し脳からの影響を遮断しても腰髄後角からの substance P の誘発遊離量が有意に増加した。²⁶⁾ そこで、下行性ノルアドレナリン神経系は脊髄後角において一次感覚神経からの侵害受容情報の伝達を持続的に抑制しているとの仮説を立て、ホルマリン試験法 (formalin の希釈溶液をラットの後肢足蹠に注射して生じる舐め行動を痛み反応の指標とする) で、この仮説の証明を試みた。ホルマリン試験法は、formalin 溶液が一次感覚神経を直接刺激して生じる痛み反応 (即時相, formalin 溶液注射後約 5 分間持続) とその後の持続性炎症性 (持続相, formalin 溶液注射後 10–30 分に痛み反応が増大しピークとなる, その後 30–60 分に次第に回復) の痛み反応を観察できる。非選択的 α -アドレナリン受容体遮断薬 phentolamine を髄腔内注射すると、formalin 誘発の痛み反応が即時相も持続相ともに増加した。²⁷⁾ 一方、ミニ浸透圧ポンプによるオピオイド拮抗薬 naloxone の持続的皮下投与は、即時相と持続相の増大期の痛み反応には影響せず、持続相の回復期の痛み反応を増加させた。²⁷⁾ また、持続相の回復期の直前に naloxone あるいは enkephalin 分解酵素阻害薬を第 IV 脳室内に注射しても回復期の痛み反応が増大した。²⁷⁾ これらの結果は、formalin 刺激により巨大細胞網様核からの Met-enkephalin の遊離量が次第に増加した結果¹³⁾ と合致するものであった。筆者は、下行性ノルアドレナリン神経系は末梢組織からの侵害受容情報の伝達を持続的に抑制しているが、炎症性の痛みが持続すると巨大細胞網様核などのオピオイドペプチド神経系が活性化され、過剰な侵害情報の入力を抑制するように機能していると考えた。

3-4. 下行性ノルアドレナリン神経系と機械的侵害刺激 高木研では下行性ノルアドレナリン神経系の痛覚抑制機能の重要性の証明は比較的順調に進んだが、他方、California 大学の Basbaum らのグループは下行性セロトニン神経系の重要性を報告していた。²⁸⁾ 高木研でも下行性セロトニン神経系の役割についての研究は進めていたが、その痛覚抑制機能の証明には苦労することも多かった。何が原因かは不明であったが違いとしては、高木研では痛み刺激として主に機械的刺激を用いていたのに対して、

Basbaum らのグループは痛み刺激として主に熱刺激を用いていたくらいであった。同じ侵害性刺激でも機械的刺激と熱的刺激では一次感覚神経から遊離される神経ペプチドが異なることが明らかになったことで、侵害性刺激の種類によって下行性ノルアドレナリン神経系の役割が異なるのか調べた。機械的侵害刺激を用いる鎮痛検定法では、皮下、巨大細胞網様核内、あるいは中脳水道周囲灰白質内に morphine を注射して生じる抗侵害受容作用が、カテコラミン神経毒の髄腔内注射により脊髄の noradrenaline を涸渇させることにより抑制された。一方、熱的侵害刺激を用いる鎮痛検定法では、morphine を皮下注射による抗侵害受容作用が抑制されなかった。²⁹⁾ また、機械的侵害刺激を用いる鎮痛検定法では noradrenaline の髄腔内注射は morphine の髄腔内注射とほぼ同等の抑制効力を示したが、熱的侵害刺激を用いる鎮痛検定法では、noradrenaline の効力は morphine の効力の 1/10 以下であった。³⁰⁾ 以上の下行性ノルアドレナリン神経系に関する研究成果とそれまでに報告された知見を勘案し、痛覚制御と morphine の鎮痛効果発現における下行性ノルアドレナリン神経系の役割について Fig. 1 のような仮説を提示した。³¹⁾

3-5. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) と galanin 一次感覚ニューロンには、substance P と somatostatin に加え CGRP と galanin などのペプチドも存在することが明らかにされていた。³²⁾ 当時、京都大学薬学部薬品製造学教室にはペプチド合成研究の第一人者矢島治明先生がおられ、幸運にも合成して頂いた CGRP と galanin を用いて研究を進めることができた。CGRP と galanin の拮抗薬は存在しない時代であったので、これらペプチドに対する中和抗血清を作製し応用することを計画した。抗 CGRP 抗血清をラットに髄腔内注射すると、炎症性の熱的痛覚過敏と機械的痛覚過敏を抑制した (Table 2)。^{33,34)} また、持続性炎症下では、CGRP の後根神経節での産生と軸索輸送、及び脊髄後角からの遊離量が増加する可能性を明らかにした。^{35,36)} 抗ガラニン抗血清をラットに髄腔内注射すると、炎症性の機械的痛覚過敏を抑制したが、熱的痛覚過敏は抑制しなかった (Table 2)。³⁷⁾ また、galanin の髄腔内注射が健常ラットに機械的痛覚過敏を生じ、熱刺激に対する侵害受容反応には影響し

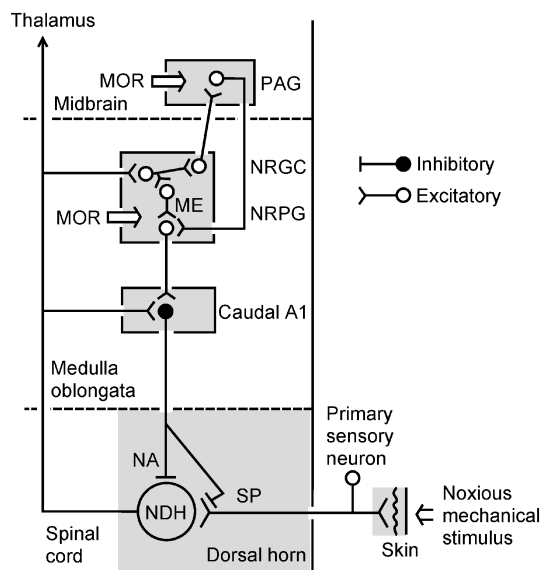


Fig. 1. Hypothesis on the Roles of the Descending Noradrenergic System in Pain Modulation and Morphine Analgesia

A1, A1 noradrenergic cell group; ME, Met-enkephalin; MOR, morphine; NA, noradrenaline, NDH, nociceptive dorsal horn neuron; NRGC, nucleus reticularis gigantocellularis; NRPG, nucleus reticularis paragigantocellularis; PAG, periaqueductal gray matter; SP, substance P. Adapted from reference 31).

なかった.³⁷⁾ 機械的侵害受容に関与し熱的侵害受容に関与しない galanin の性質は substance P と共通していたので, substance P との関係調べ, galanin 髄腔内注射による痛覚過敏が抗 substance P 抗体の髄腔内注射で抑制され, capsaicin 刺激による一次求心線維からの substance P 遊離を galanin が増大させることを明らかにした.³⁸⁾

4. 一次感覚神経からの glutamate 遊離と TRPV1 チャンネル

4-1. Capsaicin 感受性一次感覚神経からの glutamate 遊離 Substance P が痛覚伝達に関与する可能性が明らかにされたのを受けて複数の製薬企業が鎮痛薬を目的に NK₁ タキキニン受容体拮抗薬を開発した。動物を用いた前臨床試験では有効性が確認されたものの, 臨床試験ではほとんど有効性を認めることができなかった。その原因の1つとして, substance P などの神経ペプチドは痛覚伝達の調節には関与するものの, 一次感覚神経からの痛覚信号の伝達には glutamate が重要な役割を担っているため,^{39,40)} グルタミン酸作動神経伝達が正常な状態では疼痛は十分には抑制できないと考えられた。そこで, 痛覚とその調節の研究のためには, capsaicin 感受性一次感覚神経からの glutamate 遊離量の測定

が必要と考えた。Glutamate は, 神経伝達物質として中枢神経系で広範に利用されるだけでなくクエン酸回路の材料としても利用されるためか, ラットの脊髄後角切片からの基礎遊離量がかかなり多く, capsaicin を投与してごく一部の神経終末を刺激しても増加率が低い。そのため, 灌流液を一定時間毎に採集したのでは増加分は実験誤差に埋もれてしまい, capsaicin 感受性一次感覚神経からの glutamate 遊離量を測定することはできなかった。Glutamate が glutamate dehydrogenase で代謝される際に補酵素 NAD⁺ が NADH になるので, NADH を蛍光測定することにより glutamate 濃度を算出できる。そこで, glutamate dehydrogenase を固定化したカラムを作製し, 脊髄後角切片の灌流液をこのカラムに通して, 生成した NADH 量を蛍光検出器で連続的に検出することにより glutamate 遊離量を測定する方法を考案した。⁴¹⁾ この方法を用いて, capsaicin (3 μ M) 刺激により substance P (0.15 pmol/mg protein) の約 290 倍の glutamate (43 pmol/mg protein) が遊離することを明らかにできた。⁴²⁾ 筆者は富山医科薬科大学に異動したが, この研究は京都大学薬学部薬理学講座で継続して頂き, α_2 -アドレナリン受容体アゴニストが capsaicin 誘発 glutamate 遊離を抑制することが明らかにされた。⁴³⁾

4-2. TRPV1 チャンネル mRNA の軸索輸送 富山医科薬科大学では NADH の蛍光を観察できる共焦点レーザー顕微鏡を利用することができた。そこで, ラット脊髄切片からの capsaicin 誘発 glutamate 遊離をイメージとして観察することを試み, 脊髄後角表層 (第 I, II 層) と中心管周囲の第 X 層から遊離すること,⁴⁴⁾ 及び末梢組織の炎症により第 I-II 層と第 X 層において capsaicin 誘発 glutamate 遊離量が増加することを明らかにした。⁴⁵⁾ Glutamate 遊離量が増加した原因としては glutamate 産生量の増加が考えられたが, capsaicin の VR1 受容体 (TRPV1 チャンネル) の発現増加も関与するのではないかと推測した。ところが予想に反して, 炎症状態では後根神経節の TRPV1 チャンネル mRNA レベルは上昇せずむしろ低下した。そこで, 一次感覚ニューロンにおける TRPV1 チャンネル mRNA の動態を調べ, 末梢組織の炎症状態では TRPV1 チャンネル mRNA が一次感覚ニューロンを軸索輸送されることを見出した (Fig. 2)。⁴⁶⁾ 健常状態では TRPV1 チャンネル

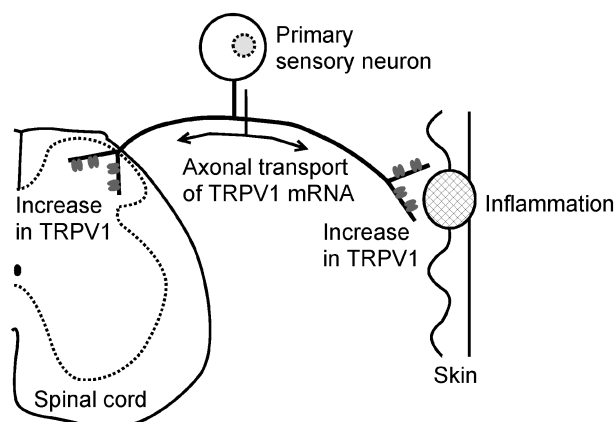


Fig. 2. Increase in Axonal Transport of TRPV1 Channel mRNA in Primary Sensory Neurons under Inflammatory Conditions

mRNA は軸索輸送されず、substance P 前駆体 preprotachykinin A の mRNA は炎症状態でも軸索輸送されなかった。⁴⁶⁾ 炎症状態では一次感覚ニューロンの末梢側及び中枢側末端で TRPV1 チャンネルが増加することが痛覚過敏の一因となっていると考えられたが、なぜ TRPV1 チャンネルの mRNA が軸索輸送されなければならないのか不思議である。

5. がん性疼痛

5-1. 研究の動機 清原迪夫先生の、ご自身の経験も踏まえた痛みに関する講演を拝聴したことがある。先生は 1978 年にメラノーマで逝去されておられるので、筆者が大学院生のときだったと思われる。先生の痛みの原因はメラノーマではなく、その手術による痛みで、痛みのある患者の立場からの講演であったが、筆者に「がん」と痛みを強く結びつけた。またある麻酔科の先生からは、お酒の席であったが、がんの治療における疼痛管理の重要性を聞かされた。それ以来、「がん」はなぜ痛いのだろうかとの疑問を常に抱いていた。富山医科薬科大学和漢薬研究所・臨床利用部門（当時）に筆者が赴任した 1 年数ヵ月後に、がん転移を研究されておられた済木育夫先生が和漢薬研究所・病態生化学部門に赴任してこられた。当時は研究室の学生も少なく研究テーマを広げる余裕はなかったが、1996 年夏に筆者が薬学部・薬剤薬理学講座・薬品作用学研究室に異動し、その後学生も次第に増えてきたので、「がん性疼痛」を新たな研究テーマとすべく済木先生に相談した。動物実験での痛みの評価は、皮膚では比較的容易だが深部になると難しくなる、また皮膚表

層の自発痛は患部を舐める行動として観察できる可能性がある。患者がメラノーマの痛みを訴えることが稀であるが、痛みあるいは痒みを訴える場合もあり、また悪性度が高く原発巣が大きくなる前に転移してしまうために痛みの訴えが少ない可能性があると考えた。そこで、皮膚がんであるメラノーマをまず研究対象とすることにした。

5-2. 腫瘍の増殖・転移と morphine C57BL/6 系マウス由来で肺への転移能が高い B16-BL6 メラノーマ細胞を済木先生からいただき、C57BL/6 系マウスの後肢足趾の皮膚に同所移植した。移植後 6-7 日頃から担がん部に中等度の痛覚過敏が発現し（初期相）、14 日頃から痛覚過敏が進行した（遅発相）。⁴⁷⁾ 遅発相では担がん部の自発痛が原因と思われる舐め行動も顕著になった。初期相の痛覚過敏は morphine (1 mg/kg) がほぼ健常レベルまで抑制したが、遅発相の痛覚過敏を抑制するには 5 mg/kg の大量を要した。⁴⁷⁾ 初期相の痛覚過敏は鎮痛効果の強い非ステロイド抗炎症薬 diclofenac でも抑制されたが、遅発相の痛覚過敏は大量 (30 mg/kg) を投与しても抑制されなかった。痛覚過敏が最大となったメラノーマ細胞移植後 16 日目から、痛覚過敏をほぼ健常レベルまで抑制する用量 (5 mg/kg) の morphine を毎日 1 回 6 日間投与すると、興味深いことに、メラノーマ細胞の皮膚における増殖と肺転移が顕著に抑制された。⁴⁷⁾ Morphine の用量を 10 mg/kg に増加、あるいは 5 mg/kg を 1 日 2 回投与しても腫瘍増殖と転移の抑制効果は増大せずむしろ減弱した。⁴⁷⁾ 鎮痛耐性の形成が早くなったことが抑制効果減弱の原因の 1 つであると考えられた。⁴⁷⁾ 担がん部の強い痛みの存在が腫瘍増殖と転移を促進する可能性が考えられたので、担がん部を神経支配する坐骨神経を切断して影響を調べたところ腫瘍増殖と転移の抑制が観察できた。⁴⁷⁾ これらの結果から、強い疼痛によるストレスが腫瘍細胞の増殖・転移を促進する可能性が推定され、鎮痛は患者の生活の質を保つためでなく、がん治療の効果を高める上でも重要であると考えた。腫瘍細胞を用いたがん疼痛の動物モデルと morphine の作用について 1999 年にウィーンで開催された 9th World Congress on Pain で発表したが、Minnesota 大学の Wilcox が腫瘍細胞の骨髄移植による痛みの動物モデルの発表をしていた。人は世界のどこかで同じような時期に同じよ

うなことを考えるものである。同じ学会で、腫瘍細胞を用いない動物実験の結果を基にがん性疼痛について話した1時間の特別講演もあった。なお、動物に腫瘍細胞を静脈内注射する際にその5時間前に外科手術を施すと腫瘍細胞の肺転移が増加し、術前・術後の morphine 投与が肺転移増加を抑制するとの報告が別のグループからなされていたが、⁴⁸⁾ 済木教授は morphine 自体に腫瘍細胞の浸潤・転移を抑制する作用があることを明らかにされた。⁴⁹⁾ オピオイドは、腫瘍細胞の増殖には影響しないが、腫瘍細胞が μ -オピオイド受容体を発現している場合には直接作用により浸潤・転移を抑制する可能性がある。⁴⁹⁾ ところで、高用量のオピオイドはナチュラルキラー細胞などの活性を抑制する。⁵⁰⁾ 強いストレスが腫瘍の増殖を促進し担がん動物の生存を低下させ、この過程に内在性オピオイドが関与するとの報告もある。⁵¹⁾ したがって、鎮痛量以上の高用量のオピオイド鎮痛薬の使用は避けるべきであろう。

5-3. がん細胞の産生する因子と痛み B16-BL6 メラノーマ細胞を皮膚内移植して16-20日後の著しい疼痛様反応を示すマウスからメラノーマを採取し、その抽出物を健常マウスの後肢足蹠に注射すると疼痛様反応（舐め行動）と痛覚過敏を引き起こした。⁵²⁾ 培養 B16-BL6 細胞及び皮内移植後8日目のメラノーマの抽出物は疼痛様反応を引き起こさない。B16-BL6 細胞は移植後12日目以降に肺に転移するので、⁴⁷⁾ 転移期の悪性腫瘍細胞は発痛物質を産生する可能性があると考えた。B16-BL6 メラノーマ細胞を移植して20日後、担がん部では ATP の細胞外濃度が増加していた。⁵³⁾ B16-BL6 メラノーマ細胞や Lewis 肺がん細胞、4T1 乳がん細胞は細胞外に ATP を放出する。⁵³⁾ ATP はヒトの皮膚に投与すると痛みを引き起こすとの報告があったので、⁵⁴⁾ メラノーマによる自発痛（舐め行動）に ATP が関与するか調べた。担がんマウスの舐め行動を P2X プリン受容体拮抗薬が抑制した。⁵³⁾ マウス後肢足蹠の中央域を神経支配する頸骨神経は健常状態では低頻度の自発放電活動が観察されるが、担がん状態では明らかな自発放電頻度の増加が観察され、P2X プリン受容体拮抗薬は増加した自発放電頻度も減少させた。⁵³⁾ 担がん部はマウスが舐める行動を示すが、ATP を注射すると舐め行動がさらに増加し、この増加は健常マウスの足蹠に ATP を注射したときよ

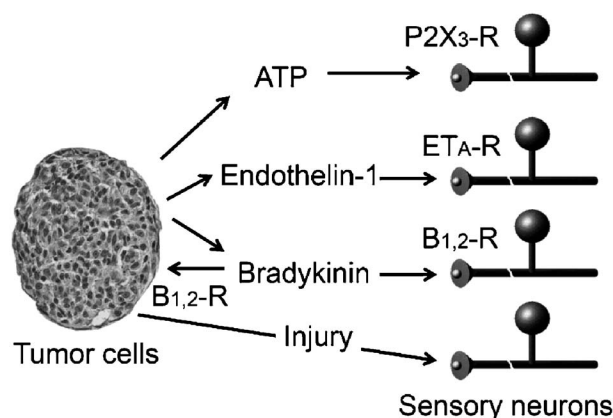


Fig. 3. Hypothetical Mechanisms of Cancer Cell-induced Pain

B_{1,2}-R, B₁ and B₂ bradykinin receptors; ET_A-R, ET_A endothelin receptor; P2X₃-R, P2X₃ purinoceptor.

りも著しかった。⁵³⁾ また、担がん部を支配する後根神経節（一次感覚ニューロンの細胞体が存在する）で P2X₃ プリン受容体の発現が増加していた。⁵³⁾ これらの結果から、腫瘍が進行すると腫瘍細胞が放出する ATP が増加し、一次感覚ニューロンにおける P2X プリン受容体の増加も加わって、自発痛の原因となると考えた (Fig. 3)。メラノーマ細胞が産生する bradykinin も自発痛とアロディニア（健常状態では痛みを起こさない非侵害性刺激により生じる痛み）の一因となる (Fig. 3)。⁵⁵⁾ 後根神経節には、健常状態で B₂ ブラジキニン受容体が発現するが、担がん状態では B₁ ブラジキニン受容体の発現誘導がみられる。⁵⁵⁾ また、メラノーマ細胞にも B₁ と B₂ 受容体が発現する。⁵⁵⁾ B16-BL6 メラノーマ細胞は endothelin-1 も産生する。⁵⁶⁾ 担がん部から作製した抽出物を健常マウスの後肢に注射して生じるアロディニアを ET_A エンドセリン受容体拮抗薬と ET_B エンドセリン受容体拮抗薬が抑制した。⁵⁶⁾ しかしながら、メラノーマ担がん部のアロディニアは ET_A エンドセリン受容体拮抗薬のみが抑制した。⁵⁶⁾ 後根神経節には ET_A と ET_B エンドセリン受容体が発現するが、担がん状態では ET_A エンドセリン受容体の発現レベルが有意に上昇することが原因と考えられる。⁵⁶⁾ Bradykinin と B₁ 受容体、endothelin-1 と ET_A 受容体は骨がん疼痛の動物モデルでも関与が指摘されている。^{57,58)}

5-4. がん性疼痛と末梢神経障害 がん性疼痛の中にはオピオイド鎮痛薬では十分に管理できないものがあり、神経障害が疼痛の一因であると考えら

れている。神経障害性疼痛に特徴的な症状の1つであるアロディニアがメラノーマ細胞移植後11日頃から生じ、16日後頃にかけて急激に進行した。⁵⁹⁾メラノーマ細胞移植後16日目にvon Frey線維を担がん部とその周辺部に押し当ててマウスの反応を調べると、担がん部の周辺域で著しいアロディニアが観察され、担がん部の中央域はむしろ痛覚鈍麻が観察された。⁵⁹⁾皮膚中の神経線維の分布を免疫組織学化学的に調べると、メラノーマ細胞移植後10日目までは神経線維の分布に目立った変化は観察されなかったが、移植後18日目では担がん部の周辺域で皮膚中（変化は表皮で特に顕著）の神経線維の増加が認められ、担がん部の中央域ではメラノーマより外側の真皮・表皮中の神経線維がほぼ消失していた。⁵⁹⁾後肢外側部を支配する腓骨神経を結紮すると、頸骨神経が支配する後肢足趾の中央域でアロディニアが観察される。⁶⁰⁾この結果も勘案して、メラノーマ細胞の増殖が進み皮膚のごく限られた領域で神経障害が生じると、それが疼痛（特にアロディニア）の一因となる可能性があると考えた（Fig. 3）。

メラノーマ細胞の同所移植によるがん性疼痛のモデルの遅発相では神経障害性疼痛の要素もあることが明らかとなったので、神経障害性疼痛に使用される補助鎮痛薬の効果を評価した。Gabapentinはかなりの量を要したがアロディニアを顕著に抑制した。アロディニアをほぼ完全に抑制する用量を毎日反復投与したが、抑制効果の増強あるいは耐性はほとんど観察されなかった。⁶¹⁾Ketamineは部分的な抑制効果を観察できたが、mexiletine, baclofen, clonidineなどは調べた用量ではアロディニアを抑制しなかった。⁶¹⁾なお、熱的痛覚過敏はmexiletineとbaclofenが抑制し、その反復投与で抑制効果の増強あるいは耐性は観察されなかった。⁶²⁾

6. 抗がん薬による神経障害性疼痛

6-1. 研究の動機 ある日、富山医科薬科大学医学部産科婦人科学教室の齋藤 滋教授から研究の相談を受けた。婦人科でのがん治療にpaclitaxelを用いていると患者は筋肉痛を訴えることが多いが、筋肉の痙攣を伴う疼痛に対する効能があるとされる芍薬甘草湯を予防的に投与すると有効なので、その薬効を動物実験で確認したいとのことであった。文献を調べてみると、paclitaxelは末梢神経障害を生じるので、それが疼痛の一因と考えられた。筋肉痛

は動物実験で評価するのは容易ではないが、paclitaxelがアロディニアを生じるのであれば、それを指標にして芍薬甘草湯の薬効を評価できると考えた。実験は産科婦人科学教室の日高隆雄先生が実施され、paclitaxel投与によりマウスにアロディニアが生じ、芍薬甘草湯の予防的投与がアロディニアを軽減することを証明された。⁶³⁾また、芍薬甘草湯の構成生薬（芍薬と甘草）のうち芍薬にアロディニア抑制効果のあることを明らかにされた。⁶³⁾筆者は、がんの化学療法において疼痛が問題になっていることを、齋藤 滋教授から相談を受けて初めて知った。当時は、末梢神経障害による疼痛に研究のテーマがシフトしていたこともあり、化学療法薬による末梢神経障害性疼痛を新たな研究テーマに加えることにした。

6-2. 補助鎮痛薬 大学院博士課程にネパールから留学生Punam Gauchanを受け入れることになった。彼女は、ネパールの主要病院における「がん」と抗がん薬使用の実態の調査研究をした経験を有していたので、抗がん薬による神経障害性疼痛を研究テーマとして与え、実験的研究の経験がなかったので准教授の安東嗣修先生に指導をお願いした。抗がん薬すべてが末梢神経障害と疼痛を生じるわけではないが、乳がんにおけるpaclitaxelや大腸がんにおけるoxaliplatinのように治療のキードラッグが有害事象として神経障害性疼痛を生じる。抗がん薬で生じる疼痛と異常感覚を総説などで調べると、タキサン系薬物paclitaxel、白金製剤oxaliplatinとビンカアルカロイドvincristineで微妙に異なっており、⁶⁴⁾末梢神経障害性疼痛の発生機序は抗がん薬の種類が違えば異なっている可能性が推測された。そこでこの3つの薬物の作用を比較することにした。抗がん薬による末梢神経障害はその蓄積が原因になることも指摘されているが、臨床の間では、paclitaxelは3週間に1回、oxaliplatinは2週間に1回、vincristineは週1回投与されるのが一般的である。そこで、マウスの実験では1回の臨床量に相当する用量を単回投与して観察することとした。いずれの薬物も単回投与後10-14日にわたって徐々にアロディニアが増大し、その後次第に回復した。⁶⁵⁾

抗がん薬によるアロディニアが最大となった時点で神経障害性疼痛に有効とされるgabapentinを投与したところ、paclitaxelとoxaliplatinによるアロ

ディニアには有効であったが、vincristine によるアロディニアには無効であった。⁶⁶⁾ Gabapentin は電位依存性 Ca^{2+} チャネルの $\alpha_2\delta$ サブユニットに高親和性の結合を示し、一次感覚ニューロンでの $\alpha_2\delta$ -1 サブユニットの発現増加が神経障害性疼痛の発生と gabapentin の抗アロディニア作用に関与すると指摘されている。^{67,68)} アロディニアが最大となった時点で paclitaxel は脊髄後角、oxaliplatin は後根神経節で $\alpha_2\delta$ -1 サブユニット mRNA の発現レベルを有意に上昇させたが、vincristine にはそのような作用が観察されなかった。⁶⁶⁾ $\alpha_2\delta$ -1 サブユニットのレベルの変化が抗がん薬によるアロディニアの発生と gabapentin の抗アロディニア作用の発揮に少なくとも一部関与すると考えた。

ある研究者から、研究対象に bortezomib も加えてほしいと頼まれた。多発性骨髄腫の治療に bortezomib の投与を受けた後に疼痛と異常感覚に苦しんでいる知人がおられることが理由で、その症状をかなり詳細に教えて頂いた。マウスに bortezomib を単回投与するとアロディニアを生じ、時間経過は paclitaxel などにほぼ類似していた。⁶⁹⁾ 後肢内側部を支配する伏在神経の活動を電気生理学的に記録すると、自発放電活動が増加する傾向が認められ、アロディニアの評価に使用した von Frey 線維による後肢内側部の刺激による放電活動が有意に増加した。⁶⁹⁾ したがって、bortezomib によるアロディニアには一次感覚神経の触刺激に対する反応性の増大が少なくとも一部関与する可能性が推定された。Bortezomib で誘発されたアロディニアは gabapentin でよく抑制されたが、電位依存性 Ca^{2+} チャネル $\alpha_2\delta$ -1 サブユニットの脊髄での増加は観察できなかった。⁶⁹⁾ Bortezomib 誘発アロディニアには gabapentin の大槽内注射も有効であったが髄腔内注射は無効であった。⁶⁹⁾ Gabapentin と pregabalin の鎮痛効果には脳内作用による下行性ノルアドレナリン作動神経系を介した作用も関与することが指摘されているが、⁷⁰⁾ bortezomib 誘発アロディニアに対する gabapentin の抑制作用にも少なくとも一部下行性ノルアドレナリン作動神経系が関与していた。⁶⁹⁾ 抗がん薬による神経障害性アロディニアに対する gabapentin の有効性は抗がん薬の種類に依存することと、有効であっても抗がん薬の種類によって作用機序が異なることは、抗がん薬毎にその予

防・治療法を調べることの重要性を示していると考えられた。

抗がん薬によるアロディニアに及ぼす影響を調べた薬物の中で興味深いものの 1 つが prostaglandin E_1 アナログの limaprost である。Paclitaxel と oxaliplatin の単回投与後 limaprost を毎日 1 回投与すると、アロディニアの発生は抑制できなかったが、その増大を軽減した。⁶⁵⁾ Vincristine によるアロディニアは発生と増大の両者を軽減できなかった。⁶⁵⁾ Paclitaxel と oxaliplatin は投与後徐々に皮膚血流量を低下させ、limaprost がこれを予防したが、vincristine 投与後は皮膚血流量の低下があまりみられなかった。⁶⁵⁾ 末梢血流の低下がアロディニア発生の直接の原因ではないが、アロディニアの増大に関与する場合があると考えられた。抗がん薬の副作用として患者が訴える感覚の中に「しびれ」がある。ヒトが訴える「しびれ」には、無感覚 numbness の場合と「ビリビリ」などと表現される感電したときのような不快な異常感覚 dysesthesia の場合とがある。Vincristine の副作用には無感覚が指摘され、oxaliplatin と paclitaxel の副作用には不快な異常感覚が指摘されている。⁶⁴⁾ 日本人を対象とした研究で、oxaliplatin で訴える「しびれ」は不快な異常感覚の場合が比較的多く、paclitaxel で訴える「しびれ」は無感覚の場合が比較的多いとの報告もある。長時間の正座では、無感覚と不快な異常感覚の両方を経験し、場合によってはアロディニアも生じる。Oxaliplatin と paclitaxel で末梢血流量が低下するが、なんらかの原因で末梢血流量が増加すると不快な異常感覚が生じるのではないかと仮説を立てた。富山医科薬科大学に赴任して 1 年程度経過した頃、高木博司先生から、臨床の現場では痛みの治療は増えてきたが、痛みがコントロールできると患者は「しびれ」を訴えることがよくある。ところが、「しびれ」は治療法がないので、「しびれ」を研究するようと言われたことがある。それから約 20 年、末梢組織の壊死を生じない程度の虚血後の再灌流による不快な異常感覚の動物モデルを作出し、応用薬理学研究室で研究が継続されている。

6-3. 漢方方剤 筋肉の痙攣を伴う疼痛へ効能があるとされる芍薬甘草湯が paclitaxel による筋肉痛に使われている。他方、牛車腎気丸は、下肢痛としびれへの効能があるとされ糖尿病性神経障害患者

のしびれを軽減するとの報告があることから、しびれの訴えが多い oxaliplatin 治療に際して予防的に使用される。末梢神経障害を軽減したとの報告もある。⁷¹⁾ 牛車腎気丸は予防的に投与すると、oxaliplatin により生じるマウスのアロディニアの発生は抑制しなかったが、その増大を抑制した。牛車腎気丸は oxaliplatin 投与により確立したアロディニアに対しても抑制効果を示し、その効果発現に下行性ノルアドレナリン作動性神経系と下行性セロトニン作動性神経系の両方が関与することを明らかにした。⁷²⁾ 抗がん薬による神経障害性疼痛の動物実験は一般に健常動物に抗がん薬を投与するが、担がん状態が抗がん薬による神経障害性疼痛に影響を及ぼすか否かを調べるために、BALB/c 系マウス由来の 4T1 乳がん細胞を雌性 BALB/c 系マウスの乳腺脂肪体に同所移植した。このマウスモデルでは、担がん部で腫瘍による痛みと後肢で抗がん薬による痛みを並行して観察することが可能であり、腫瘍の大きさの測定から抗がん効果も評価できる。⁷³⁾ 4T1 乳がん細胞移植後 7 日目から腫瘍の増殖を抑制する用量の paclitaxel を 2 日に 1 回投与すると、移植後 10 日目から後肢にアロディニアを生じ、移植後 24 日までの実験期間中アロディニアが持続した。⁷³⁾ 移植後 7 日目頃から担がん部にもアロディニアを生じその後急速に増大したが、このアロディニアの進行に paclitaxel 投与は影響しなかった。⁷³⁾ 牛車腎気丸は卵巣がんあるいは子宮内膜がん患者における paclitaxel による末梢神経障害の進行も抑制することが報告されている。⁷⁴⁾

4T1 乳がん細胞を移植したマウスに移植後 2 日目から牛車腎気丸を予防的に毎日投与すると、paclitaxel による後肢へのアロディニアの発生を抑制したが、腫瘍部のアロディニアは抑制しなかった。⁷³⁾ また、paclitaxel の抗がん効果にも影響しなかった。⁷³⁾ 担がん状態が抗がん薬による神経障害性疼痛が増大するとの仮説は証明できなかったが、腫瘍による痛みと抗がん薬による痛み、抗がん効果を評価できる動物モデルを作出することができた。

7. 帯状疱疹痛と帯状疱疹後神経痛

7-1. 研究の動機 話は遡るが、substance P と somatostatin が質の異なった侵害情報を伝える可能性を提示した論文の公表後、麻酔科の先生と共同研究する機会が増え、帯状疱疹後神経痛の患者さ

んの診察を見学する機会が得られた。素人目にも患者さんがかなりのうつ状態にあること、また医師が新たな鎮痛法の提案をされると患者さんの表情が明るくなれたことが分かった。それ以来、帯状疱疹後神経痛が頭の片隅に残ったが、病原性ウイルスを用いた疼痛の研究が可能になるとは思いもしなかった。それから約 5 年後に赴任した富山医科薬科大学では、医学部ウイルス学教室の白木公康教授はヘルペスウイルスを研究しておられた。学生食堂で白木公康先生からヘルペスウイルスのお話を聞くうちに、ヘルペスウイルスを用いた疼痛の研究ができると考えた。日を改めてウイルス学教室に白木公康先生を訪ね、ヘルペスウイルスを用いた感染実験について伺っていると、ウイルス学教室で単純ヘルペスウイルスの遺伝子組換え実験をしている薬学部の学生がいて、安東嗣修君（現在、富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室、准教授）を紹介された。これがきっかけで、1993 年春に富山医科薬科大学における最初の卒業研究の学生として彼を迎え入れることになった。彼の主たる研究テーマは「痒み」であったが、帯状疱疹痛の動物モデルの作出にも並行して取り組んでもらった。

7-2. 帯状疱疹痛の動物モデル 帯状疱疹は、感覚神経節内に潜伏感染していた水痘・帯状疱疹ウイルスが再活性化して生じる。感覚神経節内で活性化・増殖したウイルスが一次感覚ニューロンの軸索を伝って皮膚に向かい、その支配領域である患側の 1～数分節の皮膚節内に浮腫性の紅斑と水疱を生じる。自発痛に加え、圧迫過敏痛と触刺激に対するアロディニアがみられるが、帯状疱疹患者の 7 割以上が睡眠あるいは日常業務に影響するほどの強い疼痛を経験すると言われる。水痘・帯状疱疹ウイルスは、種特異性が高く、ヒトと同様な臨床症状を呈する動物モデルはなく、このウイルスをラットやマウスに接種しても皮疹を生じない。一方、同じヘルペスウイルス科に属する単純ヘルペスウイルス 1 型 (herpes simplex virus type 1; HSV1) をマウスに経皮接種すると、ヒトの帯状疱疹に類似した帯状の皮疹を生じる。最初は、HSV1 をラットに接種したが、皮疹とアロディニアは観察されず、むしろ痛覚鈍麻が観察された。⁷⁵⁾ 接種側の L4 と L5 の後根神経節では約 70% のニューロンで HSV1 抗原（ウイルス増殖の指標）が観察され、⁷⁶⁾ 神経障害性疼痛で

は痛覚鈍麻が共存することもあるので、带状疱疹痛あるいは带状疱疹後神経痛の一面を反映しているとは考えたが、鎮痛薬の薬効評価系とするにはアロディニアが観察されることが望ましい。そこで、安東嗣修君の指導の下、大学院生の高崎一朗君（現在、富山大学大学院理工学研究部生体情報薬理学研究室、准教授）がマウスでのモデル作出に取り組んだ。

白木公康先生らの研究からマウスに HSV1 を経皮接種すると数日間の潜伏期の後に带状疱疹様の皮疹が生じることが分かっていた。皮疹部を刺激して反応を観察すると、炎症性のアロディニアや痛覚過敏を評価してしまう可能性がある。炎症性疼痛ではなく神経障害性疼痛を研究対象とする目的から、刺激を加える後肢足蹠が皮疹部に隣接するように HSV1 を接種した。⁷⁷⁾ HSV1 接種後 5 日目に皮疹が出現し、その後皮膚節内に広がり、8 日目には带状疱疹様の皮疹が形成された。機械的刺激に対するアロディニアと痛覚過敏も接種後 5 日目から観察され、接種後 7-8 日には最大となった。⁷⁷⁾ こうして带状疱疹痛の動物モデルの作出に成功した。マウスは皮疹とその周辺部を舐める行動を示したので自発痛も生じている可能性がある。^{77,78)} 末梢神経の外科的損傷により作製する神経障害性疼痛の動物モデルでは熱的痛覚過敏も生じるが、HSV1 による带状疱疹痛のマウスモデルでは熱的痛覚過敏が観察されなかった。⁷⁹⁾

機械的アロディニアの評価では、von Frey 線維を皮膚に当て凹み刺激を加えることが多く、この刺激で生じる疼痛あるいは疼痛様反応は静的アロディニアと呼ばれる。带状疱疹及び带状疱疹後神経痛では、患部に衣服が触れるあるいは擦れることで痛みが生じることが特徴であり、⁸⁰⁾ 実験的には絵筆あるいは綿棒で患部を撫でることで評価し、この疼痛あるいは疼痛様反応は動的アロディニアと呼ばれる。動的アロディニアと静的アロディニアは、前者には主に有髄の一次感覚神経、後者には主に無髄の一次感覚神経の興奮が関与するなど、その発生機序は異なると考えられている。^{81,82)} 応用薬理学研究室内の佐々木 淳助教は動的アロディニアを中心に研究を進めた。HSV1 接種による带状疱疹痛のマウスモデルの皮疹部では、ほぼ全例で動的アロディニアが観察された。⁸³⁾ 一方、静的アロディニアは、皮疹部に隣接した皮膚節ではほぼ全例のマウスで観察されたの

に対して、皮疹部では約 40% のマウスで観察されたのみであった。⁸³⁾ 带状疱疹痛のマウスモデルの作出に当たって、皮疹部でなく皮疹の隣接部の静的アロディニアを評価したことは幸いであった。もし皮疹部の静的アロディニアを最初に評価していたら、带状疱疹痛のマウスモデル作出は断念していたかもしれない。

7-3. 带状疱疹痛の発生機序 接種された HSV1 は、一次感覚神経に感染し、軸索を伝って後根神経節に存在する細胞体に達して接種後 4-7 日目に盛んに増殖し、脊髄後角でも増殖が認められるので、ウイルスの増殖が痛みの発生の大きな要因になっていると考えられる。^{77,84,85)} ウイルス感染は、感染部で生体防御機構として生成するフリーラジカルが感染病態の原因ともなることが指摘されている。HSV1 が増殖する部位で発生するフリーラジカルが自発痛の一因となる可能性を明らかにした。⁸⁶⁾ 皮疹部を支配する頸骨神経の活動を記録すると、絵筆で撫でる刺激、細いあるいは太い von Frey 線維による凹み刺激、強い挟み刺激のいずれに対しても、皮疹部が健常な皮膚よりも反応が低下していた。⁸⁷⁾ 一方、脊髄後角の広作動域ニューロン（触刺激から侵害刺激にいたる広い範囲の強さの機械刺激で興奮し、侵害刺激で最大に興奮するニューロン）は、絵筆で撫でる刺激に対する反応が増大し、細い von Frey 線維による刺激に対する反応が増大する傾向がみられ、太い von Frey 線維による刺激に対する反応には変化がなく、強い挟み刺激に対する反応はむしろ低下した。⁸⁷⁾ したがって、アロディニアは、皮膚内の炎症あるいは一次求心線維の反応性の増加によるものではなく、HSV1 が増殖する後根神経節及び脊髄後角にその要因があると考えられた (Fig. 4)。後根神経節及び脊髄後角における T 細胞の浸潤とミクログリアの活性化による nitric oxide synthase 2,⁸⁵⁾ cyclooxygenase (COX) 2,⁸⁸⁾ galectin 3⁸⁹⁾ などの発現誘導など複数の要因が带状疱疹期のアロディニアの発症に関与することを明らかにした (Fig. 4)。

7-4. 带状疱疹後神経痛の動物モデル HSV1 接種マウスの皮疹部の動的アロディニアは带状疱疹期と带状疱疹後で大きな変化は認められなかったが、⁸³⁾ 皮疹部に隣接した皮膚節の静的アロディニアは特徴的であった。带状疱疹期にはほぼ 100% のマ

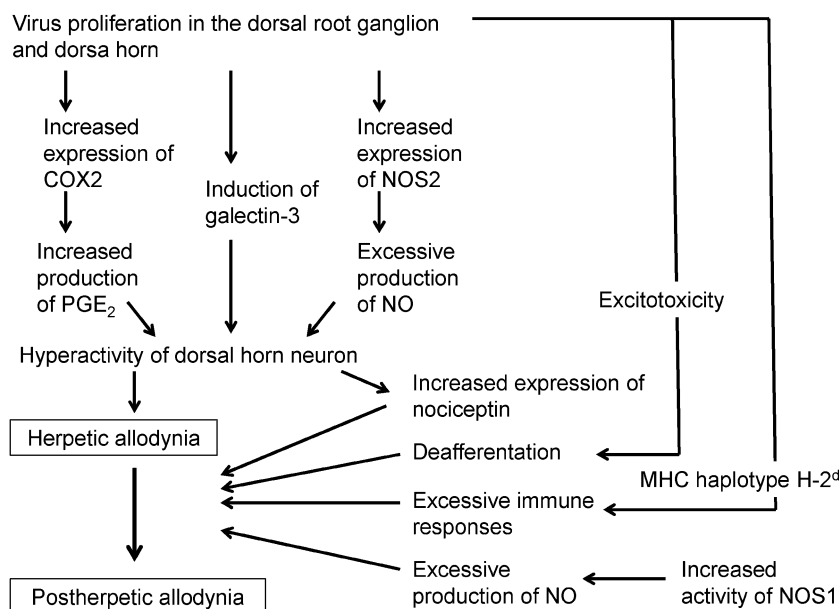


Fig. 4. Schematic Presentation of Endogenous Factors Affecting Static Allodynia at the Herpetic and Postherpetic Stages in Mice Inoculated with Herpes Simplex Virus 1

COX, cyclooxygenase; MHC, major histocompatibility complex; NO, nitric oxide; NOS, nitric oxide synthase; PGE₂, prostaglandin E₂.

ウスで静的アロディニアが観察されたが、約半数のマウスでは皮疹の治癒とともに静的アロディニアが減弱し、皮疹治癒後数日で消失した。ところが、残りの約半数のマウスは、静的アロディニアが皮疹の完全治癒後も長期間持続した。⁹⁰⁾

Morphine は帯状疱疹期と帯状疱疹後の皮疹隣接部の静的アロディニアを抑制したが、帯状疱疹後は効力が減弱し持続時間が短縮した。⁹¹⁾ 一次感覚ニューロンにおける μ -オピオイド受容体の発現減少が帯状疱疹後の静的アロディニアに対する効力減弱の一因であった。⁹¹⁾ 対照的に、後根神経節と脊髄後角における κ -オピオイド受容体 mRNA の発現レベルは帯状疱疹後も変化がなく、 κ -オピオイド受容体作用薬 nalfurafine の静的アロディニア抑制効果は帯状疱疹期と帯状疱疹後で大きな相違はなかった。⁹¹⁾ 非選択的 COX 阻害薬 diclofenac と選択的 COX2 阻害薬が帯状疱疹期の静的アロディニアを抑制した。⁹²⁾ 後根神経節で COX2 が発現誘導され産生が増加した prostaglandin E₂ が EP3 受容体に作用することが静的アロディニアの一因と考えられた (Fig. 4)。⁹²⁾ 帯状疱疹後の静的アロディニアは diclofenac で抑制されなかったため、帯状疱疹後では痛みに prostaglandin E₂ の関与は少ないと考えた。なお、nitric oxide は帯状疱疹期に加え帯状疱疹後の静的アロディニアにも関与していたが、帯状

疱疹期は nitric oxide synthase 2 の発現誘導による nitric oxide の産生増加が原因であったが、帯状疱疹後は nitric oxide synthase 1 の活性増大による nitric oxide の産生増加が関与していた。⁸⁵⁾

7-5. 帯状疱疹後神経痛の危険因子 ヒトの帯状疱疹後神経痛の危険因子には高齢、帯状疱疹の重症度、帯状疱疹の痛みの強さなどが指摘されている。⁹³⁾ HSV1 接種により作製した帯状疱疹痛のマウスモデルでは、皮疹部に隣接した皮膚節の静的アロディニアがほぼ 100% の動物で観察され、皮疹治癒後は静的アロディニアが消失した動物と長期間残存した動物がいたことから、これを指標に、帯状疱疹痛から帯状疱疹後神経痛への移行の危険因子を調べた。ピーク時の皮疹の程度は両群で大きな相違はなかった。⁹⁰⁾ HSV1 の DNA は皮疹治癒後も後根神経節内に検出されたが、HSV 抗原陽性細胞は観察されなかったため、皮疹治癒後は HSV1 がニューロン内で潜伏感染した状態にあると考えられる。HSV1 の DNA レベルは、帯状疱疹後に静的アロディニアの消失したマウスと残存したマウスとで相違がなかった。⁹⁰⁾ したがって、皮疹治癒後の静的アロディニアの有無は HSV1 の感染・増殖の程度の違いによるものではないと考えられた。帯状疱疹期の静的アロディニアはアロディニアの残存した群で大きい傾向がみられ、機械的痛覚過敏はアロディニア

の残存した群で有意に大きかった。⁹⁰⁾ HSV1 接種後 5-11 日の 7 日間に鎮痛の目的で gabapentin を毎日投与すると、带状疱疹後の静的アロディニアの発症率を顕著に低下させ、投与量を増加させると発症を完全に抑制した。⁹⁴⁾ Amitriptyline の単回投与は静的アロディニアと機械的痛覚過敏を抑制しなかったが、^{84,94)} 接種後 5-11 日の 7 日間に反復投与すると次第に抑制効果が増大した。⁹⁴⁾ この amitriptyline 反復投与は、統計的な有意差はなかったが带状疱疹後の静的アロディニアの発症率を明らかに低下させた。⁹⁴⁾ EP3 受容体欠損マウスでは、静的アロディニアと機械的痛覚過敏が、HSV1 接種後 5-6 日目には完全に抑制され、7 日目以降には軽度が生じるが、带状疱疹後の静的アロディニア発症率が有意に低下した。⁹²⁾ これらの結果を勘案すると、带状疱疹後神経痛の予防には、急性期の带状疱疹の痛みを抑制することが極めて重要であると言える (Fig. 4)。

Nociceptin は中枢神経系の痛覚伝達に係わる部位に多く発現している神経ペプチドであるが、その受容体を欠損しても疼痛反応には影響がないため、その役割はいまだ不明な点が多い。ノシセプチン受容体欠損マウスでは、带状疱疹期の静的アロディニアは野生型マウスと同程度であったが、带状疱疹後の静的アロディニアが生じなかった。⁹⁵⁾ ノシセプチン受容体 mRNA の脊髄後角での発現レベルは带状疱疹期と带状疱疹後ともに変化しないが、ノシセプチン前駆体 mRNA の発現が带状疱疹期で増加した。⁹⁵⁾ さらに、带状疱疹後の静的アロディニアの発症を完全に抑制する用量の gabapentin を带状疱疹期に反復投与すると、脊髄後角のノシセプチン前駆体 mRNA 発現増加が完全に抑制された。⁹⁵⁾ 带状疱疹期の強い痛みによる带状疱疹後のアロディニアの残存に脊髄後角における nociceptin の増加が一部関与すると考えられる (Fig. 4)。

東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンターの大学院生であった武田昌子先生は、主要組織適合性抗原複合体 (major histocompatibility complex; MHC) であるヒト白血球抗原 HLA クラス I の HLA-A*3303, B*4403 アリル頻度が、带状疱疹後神経痛患者において健常日本人及び带状疱疹後神経痛に移行しなかった带状疱疹患者より有意に高いことを明らかにされた。⁹⁶⁾ 带状疱疹の発症と HLA とには相関がみられないことから、HLA アリルタイ

プの差異はウイルス再活性化過程ではなく、带状疱疹から带状疱疹後神経痛への移行過程にのみ影響していると考察された。⁹⁶⁾ このことを実験的に確認するために、HSV1 接種による带状疱疹後神経痛のマウスモデルを用いた。MHC ハプロタイプが H-2^b の C57BL/6 系マウスは MHC ハプロタイプが H-2^d の BALB/c 系マウスよりも、带状疱疹後の静的アロディニアの発症頻度が有意に高かった。⁹⁷⁾ また、H-2^b 以外は遺伝的背景が BALB/c 系マウスと同じ BALB/b 系マウスの带状疱疹後アロディニアの発症頻度は C57BL/6 系マウスとほぼ同じであった。⁹⁷⁾ MHC ハプロタイプの相違は带状疱疹期の静的アロディニアの発症頻度には影響しなかった。⁹⁷⁾ 以上の結果から、感染防御及び免疫応答反応を遺伝的に司る MHC のタイプが带状疱疹後神経痛の発症率に影響することが実験的に確認された (Fig. 4)。

7-6. 带状疱疹後神経痛と末梢神経障害

HSV1 が感染したマウスの後根神経節では、障害を受けた一次感覚ニューロンのマーカーとされる activating transcription factor 3 が带状疱疹期に発現誘導されるが、皮疹の治癒とともに消失した。⁹⁸⁾ したがって、带状疱疹期に一次感覚ニューロンが障害を受けると考えられる。皮疹部の静的アロディニアは、皮疹の治癒過程で発症率が次第に増加したので、⁸³⁾ この時期に神経障害が進行すると推定された。带状疱疹後、瘢痕化した皮膚 (表皮と真皮) で CGRP (無髄 C 線維のマーカー) 陽性神経線維が著しく減少し、後根神経節では peripherin (C 線維ニューロンのマーカー) 陽性ニューロンが減少した。⁹⁹⁾ Neurofilament 200 (有髄 A 線維ニューロンのマーカー) 陽性神経線維は真皮中に観察されるが、その密度は瘢痕化した皮膚 (真皮) でも減少しなかった。⁹⁹⁾ また、瘢痕化した皮膚では侵害性熱刺激とカプサイシン刺激 (どちらも一次求心線維の TRPV1 チャネルを刺激して痛みを生じると考えられる) に対する反応性が低下しており、動のアロディニアの強さがこれらの反応性低下の程度と関連した。⁹⁹⁾ 以上の結果から、A 線維ニューロンの障害が軽度な状態で、C 線維ニューロンが重度に障害されることにより動のアロディニアが生じるものと考えた。带状疱疹後神経痛患者の患部皮膚の動のアロディニアが一次求心 C 線維の機能障害と関係することが報告されている。¹⁰⁰⁾ また、带状疱疹の治癒と

ともに疼痛も消失した患者に比較して、帯状疱疹後神経痛の患者の患部表皮中の神経線維密度が低いことが報告されている。¹⁰¹⁾ 表皮内の神経線維は C 線維であることから、筆者らの動物実験の結果と帯状疱疹後神経痛患者の知見とを勘案し、C 線維ニューロンの障害が帯状疱疹後神経痛の重要な原因であると考えている。

帯状疱疹後、瘢痕部に隣接した皮膚節の静的アロディニアの有無にかかわらず、表皮中の神経線維は瘢痕部と隣接部で有意に減少したが、真皮中の神経線維は瘢痕部でのみ減少し隣接部では減少しなかった。¹⁰²⁾ これらの変化は帯状疱疹後の静的アロディニアの有無と対応しなかった。健常なマウスの皮膚でも真皮中の神経線維の密度は均一でなく高い部位と低い部位で 10 倍弱の差があるが、静的アロディニアの残存した群では、真皮中の神経線維の密度は高い部位と低い部位の値、及び平均値のいずれも健常マウスよりも有意に減少していた。¹⁰²⁾ 他方、皮疹治癒後に静的アロディニアの消失した群では、神経線維密度の減少の程度が比較的軽度であり、健常マウスの皮膚と同定度の密度を保った部位も多く観察された。¹⁰²⁾ この結果から、皮膚内の一次求心線維の減少を部分的にでも抑制あるいは回復できれば、帯状疱疹後の静的アロディニアが軽減できることを示唆すると考えている (Fig. 4)。

NMDA 型グルタミン酸受容体は、痛み刺激による痛覚過敏の形成に係わるだけでなく、神経毒性に係わることが知られている。また、脊髄後角において、NR2B サブユニットからなる NMDA 型グルタミン酸受容体は神経障害性疼痛の維持に係わることが示唆されている。¹⁰³⁾ NMDA 型グルタミン酸受容体の NR2B サブユニットは、脊髄後角に加え、C 線維一次感覚ニューロン (大部分の非ペプチド作動性と過半数のペプチド作動性ニューロン) と一部の有髄 A δ 線維ニューロンにも存在する。¹⁰⁴⁾ NR2B サブユニットの 1472 番目の tyrosine (Y, Tyr) がリン酸化されると NMDA 型受容体の機能が亢進すると考えられている。¹⁰³⁾ NR2B サブユニットの Tyr¹⁴⁷² を phenylalanine (F, Phe) に置換した Y1472F 変異マウスは、この部位がリン酸化されないため、Tyr¹⁴⁷² のリン酸化による作用が阻害される。Y1472F 変異マウスに HSV1 を接種すると、帯状疱疹期の静的アロディニアは野生型マウスと同様

に生じるが、帯状疱疹期の静的アロディニアが減弱した。⁹⁸⁾ また、帯状疱疹後の表皮内神経線維の減少が Y1472F 変異により抑制された。⁹⁸⁾ 脊髄後角では、帯状疱疹後に、非ペプチド作動性 C 線維 (isolectin B4 により標識) の減少が顕著であるが、Y1472F 変異によりこの減少が抑制された。⁹⁸⁾ CGRP 陽性あるいは substance P 陽性のペプチド作動性 C 線維も帯状疱疹後に減少が観察されたが、これらの減少は Y1472F 変異により抑制されなかった。⁹⁸⁾ HSV1 接種による帯状疱疹期に後根神経節で観察される activating transcription factor 3 の発現誘導も Y1472F 変異マウスでは抑制されたことから、⁹⁸⁾ Y1472F 変異は NMDA 型受容体を介した神経毒性を軽減したと考えられた。NMDA 受容体は、ペプチド作動性 C 線維にも存在することから、帯状疱疹期に NMDA 型グルタミン酸受容体遮断薬を投与しておくこと、帯状疱疹後神経痛への移行を抑制できるのではないかと考える (Fig. 4)。

帯状疱疹痛と帯状疱疹後神経痛のマウスモデルは、用いるウイルスは HSV1 であり水痘・帯状疱疹ウイルスではないが、症状や性質はヒトの帯状疱疹痛及び帯状疱疹後神経痛との共通性が多い。病原性ウイルスを用いる実験のため研究者が自由に利用できるものではないが、帯状疱疹と帯状疱疹後神経痛の予防と治療にこの動物モデルが活用されることを願っている。なお、帯状疱疹痛と帯状疱疹後神経痛のマウスモデルの詳細については、Basbaum の推薦により最近まとめて解説することができた。¹⁰⁵⁾

8. おわりに

筆者の疼痛・鎮痛研究は、morphine の鎮痛作用と下行性ノルアドレナリン作動性神経との関係の研究に始まり、脊髄後角の痛覚情報物質の研究に移り、最後はがん性疼痛、抗がん薬による疼痛と不快な異常感覚と帯状疱疹・帯状疱疹後神経痛など、疼痛性疾患の病態の一部を反映した動物モデルを作出しての研究と変化してきた。その過程で、鎮痛によるがんの増殖と転移の抑制、帯状疱疹痛の抑制による帯状疱疹後神経痛への移行の抑制など、鎮痛の積極的な意義を明らかにすることができた。

ところで、自らの痛み経験であるが、最近顔側部の脂肪腫を切除する手術を受けた。その際、局所麻酔薬注射は、皮膚の切開などの痛みを完全に抑制したが、医師の手による圧迫や組織の引っ張りによる

痛みは抑制しなかった。また、手術の直後から、術側の頭頂部に突っ張ったような異常感覚を覚え、その部位を触るとゴムの膜を介して触っているような感覚を生じた。当初は患部に局所麻酔薬を注射したためかと思っていたが、手術の際に神経を傷付けたとのことであった。また、術後2週間すると時々手術部の周囲に自発痛（鋭い痛み）を生じ、その後1ヵ月ほどすると同側の頭頂部にも時々自発痛を生じるようになり、痛みのある部位を触りたいとの衝動を伴うことがあった。アロディニアはなかった。術後3ヵ月もすると、同側頭頂部の異常感覚はかなり治まり、自発痛の発生頻度も低下してきた。ところが、ほとんど跡が残っていない手術部を押さえると同側の頭頂部に痛みを覚えるようになった。刺激部位と痛みの部位が全く離れているのが不思議であった。自発痛とアロディニアは耐えられる程度であるので特に治療はしていないが、神経障害性疼痛の動物実験の問題点や限界を感じさせる経験をした。

謝辞 最後に筆者の研究を指導して頂いた方々、研究の動機を与えて下さった方々、研究室員を含めた共同研究者の方々に謝意を表します。

REFERENCES

- 1) Takagi H., Shiomi H., Kuraishi Y., Fukui K., Ueda H., *Eur. J. Pharmacol.*, **54**, 99–107 (1979).
- 2) Shiomi H., Takagi H., *Br. J. Pharmacol.*, **52**, 519–526 (1974).
- 3) Takagi H., Doi T., Kawasaki K., *Life Sci.*, **17**, 67–71 (1975).
- 4) Takagi H., Satoh M., Akaike A., Shibata T., Kuraishi Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **45**, 91–92 (1977).
- 5) Akaike A., Shibata T., Satoh M., Takagi H., *Neuropharmacology*, **17**, 775–778 (1978).
- 6) Kuraishi Y., Fukui K., Shiomi H., Akaike A., Takagi H., *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 2756–2758 (1978).
- 7) Kuraishi Y., Harada Y., Satoh M., Takagi H., *Neuropharmacology*, **18**, 107–110 (1979).
- 8) Kuraishi Y., Harada Y., Takagi H., *Brain Res.*, **174**, 333–336 (1979).
- 9) Reddy S. V., Yaksh T. L., *Brain Res.*, **189**, 391–401 (1980).
- 10) Gotoh Y., Omori Y., Andoh T., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **115**, 417–420 (2011).
- 11) Gotoh Y., Andoh T., Kuraishi Y., *Neuropharmacology*, **61**, 825–831 (2011).
- 12) Kuraishi Y., Sugimoto M., Hirota N., Takagi H., *Life Sci.*, **30**, 2071–2077 (1982).
- 13) Kuraishi Y., Sugimoto M., Hamada T., Kayanoki Y., Takagi H., *Brain Res. Bull.*, **12**, 123–127 (1984).
- 14) Nagy J. I., Vincent S. R., Staines W. A., Fibiger H. C., Reisine T. D., Yamamura H. I., *Brain Res.*, **186**, 435–444 (1980).
- 15) Nagy J. I., Emson P. C., Iversen L. L., *Brain Res.*, **211**, 497–502 (1981).
- 16) Hökfelt T., Elde R., Johansson O., Luft R., Nilsson G., Arimura A., *Neuroscience*, **1**, 131–136 (1976).
- 17) Kuraishi Y., Hirota N., Sato Y., Hino Y., Satoh M., Takagi H., *Brain Res.*, **325**, 294–298 (1985).
- 18) Morton C. R., Hutchison W. D., Hendry I. A., Duggan A. W., *Brain Res.*, **488**, 89–96 (1989).
- 19) Tiseo P. J., Adler M. W., Liu-Chen L. Y., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **252**, 539–545 (1990).
- 20) Duggan A. W., Hendry I. A., Morton C. R., Hutchison W. D., Zhao Z. Q., *Brain Res.*, **451**, 261–273 (1988).
- 21) Kuraishi Y., Hirota N., Hanashima N., Takagi H., Satoh M., *Neuroscience*, **30**, 241–250 (1989).
- 22) Satoh M., Kuraishi Y., Kawamura M., *Pain*, **49**, 273–278 (1992).
- 23) Ohno H., Kuraishi Y., Minami M., Satoh M., *Brain Res.*, **474**, 197–200 (1988).
- 24) Ohno H., Kuraishi Y., Nanayama T., Minami M., Kawamura M., Satoh M., *Neurosci. Res.*, **8**, 179–188 (1990).
- 25) Kuraishi Y., Hirota N., Sugimoto M., Satoh M., Takagi H., *Life Sci.*, **33** (Suppl. 1), 693–696 (1983).
- 26) Kuraishi Y., Hirota N., Sato Y., Kaneko S., Satoh M., Takagi H., *Brain Res.*, **359**, 177–182 (1985).
- 27) Sugimoto M., Kuraishi Y., Satoh M., Takagi H., *Neuropharmacology*, **25**, 481–485 (1986).
- 28) Basbaum A. I., Clanton C. H., Fields H. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 4685–4688 (1976).

- 29) Kuraishi Y., Harada Y., Aratani S., Satoh M., Takagi H., *Brain Res.*, **273**, 245–252 (1983).
- 30) Kuraishi Y., Hirota N., Satoh M., Takagi H., *Brain Res.*, **326**, 168–171 (1985).
- 31) Kuraishi Y., Satoh M., Takagi H., *Pain Headache*, **9**, 101–128 (1987).
- 32) Ju G., Hhökfelt T., Brodin E., Fahrenkrug J., Fischer J. A., Frey P., Elde R. P., Brown J. C., *Cell Tissue Res.*, **247**, 417–431 (1987).
- 33) Kuraishi Y., Nanayama T., Ohno H., Minami M., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **92**, 325–329 (1988).
- 34) Kawamura M., Kuraishi Y., Minami M., Satoh M., *Brain Res.*, **497**, 199–203 (1989).
- 35) Kuraishi Y., Nanayama T., Ohno H., Fujii N., Otaka A., Yajima H., Satoh M., *Peptides*, **10**, 447–452 (1989).
- 36) Nanayama T., Kuraishi Y., Ohno H., Satoh M., *Neurosci. Res.*, **6**, 569–572 (1989).
- 37) Kuraishi Y., Kawamura M., Yamaguchi T., Houtani T., Kawabata S., Futaki S., Fujii N., Satoh M., *Pain*, **44**, 321–324 (1991).
- 38) Kuraishi Y., Kawabata S., Matsumoto T., Nakamura A., Fujita H., Satoh M., *Neurosci. Res.*, **11**, 276–285 (1991).
- 39) Rusin K. I., Jiang M. C., Cerne R., Randic M., *Brain Res. Bull.*, **30**, 329–338 (1993).
- 40) Okano K., Kuraishi Y., Satoh M., *Jpn. J. Pharmacol.*, **76**, 15–22 (1998).
- 41) Ueda M., Kuraishi Y., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **155**, 179–182 (1993).
- 42) Ueda M., Kuraishi Y., Sugimoto K., Satoh M., *Neurosci. Res.*, **20**, 231–237 (1994).
- 43) Ueda M., Oyama T., Kuraishi Y., Akaie A., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **188**, 137–139 (1995).
- 44) Tohda C., Kuraishi Y., *Neurosci. Res.*, **24**, 183–187 (1996).
- 45) Sasaki M., Tohda C., Kuraishi Y., *Neuroreport*, **9**, 3219–3222 (1998).
- 46) Tohda C., Sasaki M., Konemura T., Sasamura T., Itoh M., Kuraishi Y., *J. Neurochem.*, **76**, 1628–1635 (2001).
- 47) Sasamura T., Nakamura S., Iida Y., Fujii H., Murata J., Saiki I., Nojima H., Kuraishi Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **441**, 185–191 (2002).
- 48) Page G. G., Ben-Eliyahu S., Yirmiya R., Liebeskind J. C., *Pain*, **54**, 21–28 (1993).
- 49) Harimaya Y., Koizumi K., Andoh T., Nojima H., Kuraishi Y., Saiki I., *Cancer Lett.*, **187**, 121–127 (2002).
- 50) Shavit Y., Martin F. C., Yirmiya R., Ben-Eliyahu S., Terman G. W., Weiner H., Gale R. P., Liebeskind J. C., *Brain Behav. Immun.*, **1**, 318–328 (1987).
- 51) Lewis J. W., Shavit Y., Terman G. W., Nelson L. R., Gale R. P., Liebeskind J. C., *Peptides*, **4**, 635–638 (1983).
- 52) Zhang H. W., Sasamura T., Iida Y., Nojima H., Murata J., Saiki I., Kuraishi Y., *Pain Res.*, **16**, 43–49 (2001).
- 53) Fujita M., Andoh T., Sasaki A., Saiki I., Kuraishi Y., *Eur. J. Neurosci.*, **31**, 1629–1636 (2010).
- 54) Hamilton S. G., Warburton J., Bhattacharjee A., Ward J., McMahon S. B., *Brain*, **123**, 1238–1246 (2000).
- 55) Fujita M., Andoh T., Ohashi K., Akira A., Saiki I., Kuraishi Y., *Eur. J. Pain*, **14**, 588–594 (2010).
- 56) Fujita M., Andoh T., Saiki I., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **106**, 257–263 (2008).
- 57) Wacnik P. W., Eikmeier L. J., Ruggles T. R., Ramnaraine M. L., Walcheck B. K., Beitz A. J., Wilcox G. L., *J. Neurosci.*, **21**, 9355–9366 (2001).
- 58) Sevcik M. A., Ghilardi J. R., Halvorson K. G., Lindsay T. H., Kubota K., Mantyh P. W., *J. Pain*, **6**, 771–775 (2005).
- 59) Zhang H. W., Iida Y., Andoh T., Nojima H., Murata J., Saiki I., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **91**, 167–170 (2003).
- 60) Omori Y., Kagaya K., Enomoto R., Sasaki A., Andoh T., Nojima H., Takahata H., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **109**, 532–539 (2009).
- 61) Kuraishi Y., Iida Y., Zhang H. W., Uehara S., Nojima H., Murata J., Saiki I., Takahata H., Ouchi H., *Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 550–552 (2003).
- 62) Andoh T., Sugiyama K., Fujita M., Iida Y., Nojima H., Saiki I., Kuraishi Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 520–522 (2008).
- 63) Hidaka T., Shima T., Nagira K., Ieki M., Nakamura T., Aono Y., Kuraishi Y., Arai T., Saito S., *Eur. J. Pain*, **13**, 22–27 (2009).
- 64) Quasthoff S., Hartung H. P., *J. Neurol.*, **249**, 9–17 (2002).

- 65) Gauchan P., Andoh T., Kato A., Sasaki A., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **109**, 469–472 (2009).
- 66) Gauchan P., Andoh T., Ikeda K., Fujita M., Sasaki A., Kato A., Kuraishi Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, 732–734 (2009).
- 67) Luo Z. D., Chaplan S. R., Higuera E. S., Sorokin L. S., Stauderman K. A., Williams M. E., Yaksh T. L., *J. Neurosci.*, **21**, 1868–1875 (2001).
- 68) Field M. J., Cox P. J., Stott E., Melrose H., Offord J., Su T. Z., Bramwell S., Corradini L., England S., Winks J., Kinloch R. A., Hendrich J., Dolphin A. C., Webb T., Williams D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 17537–17542 (2006).
- 69) Kitamura R., Andoh T., Mizoguchi S., Saito Y., Takahata H., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **124**, 502–510 (2014).
- 70) Tanabe M., Takasu K., Takeuchi Y., Ono H., *J. Neurosci. Res.*, **86**, 3258–3264 (2008).
- 71) Nishioka M., Shimada M., Kurita N., Iwata T., Morimoto S., Yoshikawa K., Higashijima J., Miyatani T., Kono T., *Int. J. Clin. Oncol.*, **16**, 322–327 (2011).
- 72) Kitamura R., Andoh T., Fushimi H., Komatsu K., Shibahara N., Kuraishi Y., *J. Trad. Med.*, **30**, 183–189 (2013).
- 73) Bahar M. A., Andoh T., Ogura K., Hayakawa Y., Saiki I., Kuraishi Y., *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2013**, 849754 (2013).
- 74) Kaku H., Kumagai S., Onoue H., Takada A., Shoji T., Miura F., Yoshizaki A., Sato S., Kigawa J., Arai T., Tsunoda S., Tominaga E., Aoki D., Sugiyama T., *Exp. Ther. Med.*, **3**, 60–65 (2012).
- 75) Andoh T., Shiraki K., Kurokawa M., Kuraishi Y., *Neurosci. Lett.*, **190**, 101–104 (1995).
- 76) Shiraki K., Andoh T., Imakita M., Kurokawa M., Kuraishi Y., Niimura M., Kageyama S., *Neurosci. Res.*, **31**, 235–240 (1998).
- 77) Takasaki I., Andoh T., Shiraki K., Kuraishi Y., *Pain*, **86**, 95–101 (2000).
- 78) Sasaki A., Adhikari S., Andoh T., Kuraishi Y., *Neuroreport*, **24**, 652–656 (2013).
- 79) Sasaki A., Takasaki I., Andoh T., Nojima H., Shiraki K., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **92**, 329–336 (2003).
- 80) Pappagallo M., Oaklander A. L., Quatrano Piacentini A. L., Clark M. R., Raja S. N., *Anesthesiology*, **92**, 691–698 (2000).
- 81) Ochoa J. L., Yarnitsky D., *Ann. Neurol.*, **33**, 465–472 (1993).
- 82) Koltzenburg M., Lundberg L. E., Torebjörk H. E., *Pain*, **51**, 207–219 (1992).
- 83) Sasaki A., Serizawa K., Andoh T., Shiraki K., Takahata H., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **108**, 266–273 (2008).
- 84) Takasaki I., Andoh T., Nitta M., Takahata H., Nemoto H., Shiraki K., Nojima H., Kuraishi Y., *Jpn. J. Pharmacol.*, **83**, 319–326 (2000).
- 85) Sasaki A., Mabuchi T., Serizawa K., Takasaki I., Andoh T., Shiraki K., Ito S., Kuraishi Y., *Neuroscience*, **150**, 459–466 (2007).
- 86) Adhikari S., Sasaki A., Kuraishi Y., *Acta Derm. Venereol.*, **93**, P616 (2013).
- 87) Nishikawa Y., Sasaki A., Andoh T., Nojima H., Shiraki K., Kuraishi Y., *Neuroreport*, **20**, 1077–1080 (2009).
- 88) Takasaki I., Nojima H., Shiraki K., Sugimoto Y., Ichikawa A., Ushikubi F., Narumiya S., Kuraishi Y., *Neuropharmacology*, **49**, 283–292 (2005).
- 89) Takasaki I., Taniguchi K., Komatsu F., Sasaki A., Andoh T., Nojima H., Shiraki K., Hsu D. K., Liu F. T., Kato I., Hiraga K., Kuraishi Y., *Pain*, **153**, 585–592 (2012).
- 90) Takasaki I., Sasaki A., Andoh T., Nojima H., Shiraki K., Kuraishi Y., *Anesthesiology*, **96**, 1168–1174 (2002).
- 91) Takasaki I., Nojima H., Shiraki K., Kuraishi Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **550**, 62–67 (2006).
- 92) Takasaki I., Nojima H., Shiraki K., Sugimoto Y., Ichikawa A., Ushikubi F., Narumiya S., Kuraishi Y., *Neuropharmacology*, **49**, 283–292 (2005).
- 93) Jung B. F., Johnson R. W., Griffin D. R., Dworkin R. H., *Neurology*, **62**, 1545–1551 (2004).
- 94) Kuraishi Y., Takasaki I., Nojima H., Shiraki K., Takahata H., *Life Sci.*, **74**, 2619–2626 (2004).
- 95) Sasaki A., Takasaki I., Andoh T., Shiraki K., Takeshima H., Takahata H., Kuraishi Y., *Neuroreport*, **19**, 83–86 (2008).
- 96) Sato-Takeda M., Ihn H., Ohashi J., Tsuchiya N., Satake M., Arita H., Tamaki K., Hanaoka

- K., Tokunaga K., Yabe T., *Pain*, **110**, 329–336 (2004).
- 97) Sato-Takeda M., Takasaki I., Takeda K., Sasaki A., Andoh T., Nojima H., Shiraki K., Kuraishi Y., Hanaoka K., Tokunaga K., Yabe T., *Anesthesiology*, **104**, 1063–1069 (2006).
- 98) Unezaki S., Sasaki A., Mabuchi T., Matsumura S., Katano T., Nakazawa T., Nishio N., Andoh T., Yamamoto T., Nakatsuka T., Kuraishi Y., Ito S., *Mol. Pain*, **8**, 59 (2012).
- 99) Sasaki A., Inomata Y., Serizawa K., Andoh T., Kuraishi Y., *Neuroreport*, **24**, 137–141 (2013).
- 100) Baron R., Saguer M., *Brain*, **116**, 1477–1496 (1993).
- 101) Oaklander A. L., *Pain*, **92**, 139–145 (2001).
- 102) Inomata Y., Gouda M., Kagaya K., Yamagami K., Sasaki A., Andoh T., Kuraishi Y., *Anesth. Analg.*, **116**, 722–729 (2013).
- 103) Abe T., Matsumura S., Katano T., Mabuchi T., Takagi K., Xu L., Yamamoto A., Hattori K., Yagi T., Watanabe M., Nakazawa T., Yamamoto T., Mishina M., Nakai Y., Ito S., *Eur. J. Neurosci.*, **22**, 1445–1454 (2005).
- 104) Ma Q. P., Hargreaves R. J., *Neuroscience*, **101**, 699–707 (2000).
- 105) Kuraishi Y., Sasaki A., “Current Topics in Behavioral Neurosciences,” ed. by Geyer M. A., Ellenbroek B. A., Marsden C. A., Springer-Verlag, Berlin, 2014, pp. 1–18.