

氏名（本籍）	いし かわ 剛（東京都）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	乙第349号
学位授与の日付	平成28年3月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	動物の自発行動を指標とする新規非臨床疼痛 評価系の構築に関する研究

論文審査委員	（主査）教授 岡 淳一郎
	教授 磯濱洋一郎      教授 廣田 孝司
	教授 樋上 賀一      教授 山下 親正

## 論文内容の要旨

慢性疼痛は患者にとって精神的苦痛を伴うとともに、日常における身体活動の制限を強いることになる。米国では、10億人もの成人が慢性疼痛に罹患しているとされ、社会的にも多大な損失と影響を与えている。故に慢性疼痛に高い有効性を示す新規鎮痛薬の開発は喫緊の課題であるが、これまで上市された薬剤は、古くから民間療法として使用されてきた天然物由来成分や、抗うつ薬や抗不安薬として処方される薬剤のなかに鎮痛作用を有するとして新たに鎮痛薬としての適用を取得したものなど、はじめにヒトで鎮痛作用が見出されて鎮痛薬として新たに開発されたものが殆どである。すなわち、前臨床研究から見出された慢性疼痛に対する治療薬の上市確率は決して高いとは言えない状況である。鎮痛薬創薬研究においては主に齧歯類疼痛モデルを用いた薬効評価法が薬剤の臨床効果予測の研究基盤であるが、しばしば前臨床／臨床間で薬効の相違が認められる。従って、疼痛モデル動物における評価方法の改良により臨床効果予見性を向上させることは、今後の鎮痛薬の研究戦略における重要課題である。

これまでは機械、熱などの人為的な刺激に対する動物の回避反応閾値、すなわち刺激誘発痛が疼痛指標として用いられてきた。一方臨床では、外的刺激のない状態での疼痛強度、すなわち自発痛を患者の主観的かつ相対的に数値化する方

法で一般的に評価している。したがって、前臨床と臨床における疼痛評価指標を一致させるためには前臨床においても薬効評価に自発痛を指標とする必要がある。また従来法には特定の実験者の実験手技および主観的判断に依存している

といった課題もあり、実験者の負担の少ない客観的かつ自動測定可能な評価系が求められている。本研究では、そうした従来法の課題解決を目的として、自発痛関連行動を指標とした新規鎮痛薬評価系を構築し、臨床予測性の向上を目指した。第一章では、神経障害性疼痛モデルラットで認められる自発痛関連行動の客観的かつ簡便な測定系を構築することを目的として、後肢の異常動作を電磁誘導変化により自動測定する系を構築した。本系での自発痛関連行動測定結果は目視による測定結果と良く相関しており、自動測定により客観的に自発痛関連行動を評価可能となった。一方、本系の測定結果は刺激誘発痛測定結果と相関せず、従来の刺激誘発痛指標は自発痛の代替指標とはならないことが示唆された。また本系での既存薬の有効用量は、これまで報告されてきた刺激誘発痛評価での有効用量とは相違がみられ、鎮痛薬候補の臨床での自発痛に対する効果を予測するためには疼痛モデル動物においても自発痛指標を用いることが重要であることが示唆された。第二章では、臨床において変形性関節症(OA)患者の動作時の痛みの増悪が問題となっていることから、歩行時痛評価系の構築を目的としてモノヨード酢酸 (MIA) 誘発変形性関節症 (OA) モデルラットにおける自発痛様後肢異常動作を歩様変化として自動測定する系を構築した。本系で検出される様々な歩様異常パラメーターのうち鎮痛薬に感受性を示すものは、主に足跡面積あるいは足振り速度の後肢左右差であった。そこで、体重負荷に伴う左右後肢荷重差測定法による安静時痛指標と、歩様評価による歩行時痛指標に対する、異なる鎮痛作用機序を示す様々な既存薬の有効性を評価したところ、安静時痛評価においてはセロトニン/ノルエピネフリン再取り込み阻害剤 (SNRI) である duloxetine や  $\mu$  オピオイド受容体アゴニスト(morphine および tramadol) が有効性を示したものの、歩行時痛評価では duloxetine は無効であり、 $\mu$  オピオイド受容体アゴニストは安静時痛に対する有効用量より高い用量で有効性を示した。このことから歩行時の疼痛シグナルの増悪あるいは安静時と歩行時では一部異なる疼痛メカニズムが存在することが示唆された。第三章では、歩行時痛に有効な新規薬剤の探索として、現在 OA に伴う慢性疼痛に対する臨床試験において顕著な有効性を示している抗  $\beta$ -NGF 抗体を MIA 誘発 OA モデルラットの歩様変化自動測定系で評価し、臨床での抗  $\beta$ -NGF 抗体の顕著な鎮痛作用が前臨床試験の歩行時痛評価系においても再現し得るか、またその最も効果的な処方タイミ

ングについて検討し、鎮痛作用機序について考察を加えた。その結果、抗  $\beta$ -NGF 抗体は関節炎惹起早期に単回静脈内投与されることで1か月以上に渡って歩様異常を是正しており、一方有意な抗炎症や関節破壊抑制は認められず、本歩様異常改善効果は鎮痛作用に基づくことが示唆された。しかしながら抗  $\beta$ -NGF 抗体は歩様評価の前1日以内に投与された場合には有効性を示さなかった。以上から、抗  $\beta$ -NGF 抗体は、ラット OA 疼痛モデルにおいても単回静脈内投与により歩行時痛に持続的かつ顕著な鎮痛作用を示すことが明らかとなり、一部臨床効果を反映することが示唆された。また抗  $\beta$ -NGF 抗体は OA 惹起後早期から投与されることで、より強い持続的な作用を示し、 $\beta$ -NGF は発痛に関与するばかりでなく、慢性疼痛病態の形成にも寄与することが示唆された。このとき、抗  $\beta$ -NGF 抗体は関節腫脹を悪化させたが歩様異常は改善しており、本系でみられる歩様異常是正効果は鎮痛作用に基づくことが示唆された。

以上、本研究では、臨床における自発痛を反映する動物の自発痛関連行動の検出、およびその機械による自動測定法の開発に取り組み、神経障害性疼痛モデルにおける自発痛関連行動を一度に複数匹、客観的に自動測定できる高スループットな測定系を構築した。また変形性関節症モデルにおける痛みが反映される歩様パラメーターを精査し、歩行時痛を客観的に自動測定できる測定系を構築した。これら自発痛評価と既存の刺激誘発痛評価とでは既存薬剤の有効性に相違がみられ、刺激誘発痛と自発痛の発症機序が異なることが示唆された。以上から本研究にて構築された測定系は、従来法の課題であった前臨床/臨床の評価指標の不一致、および特定実験者の実験手技/主観的判断への依存を解決できていると考えられる。そのなかでも OA 鎮痛薬の新しい評価系である本歩様評価系において、抗  $\beta$ -NGF 抗体は持続的かつ顕著な薬効を示すことが明らかとなり、これは臨床で認められる有効性を一部反映した結果であることから本系の高い臨床効果予測性が示唆された。以上より、自発痛関連行動評価から自発痛・動作時痛に関するさらなる機序解明が進み、新規機序に基づく強い鎮痛薬が見出されることが期待される。

## 論文審査の結果の要旨

本研究では、非臨床試験から見出された鎮痛薬候補の薬効が患者において再現されない事例が少なからず存在して慢性疼痛に対する新規鎮痛薬の上市確率の低下を招いていることから、疼痛モデル動

物を用いた鎮痛薬評価方法の改良による臨床効果予測性の向上を目的とした。

従来の非臨床評価方法が外的刺激（機械や熱等）に対する逃避反射行動を指標とした刺激誘発痛評価である一方、臨床では、外的刺激を与えずに患者が主観的かつ相対的に痛みの強さを数値化する方法により自発痛を評価している。また、従来の非臨床評価方法は、特定実験者の手技や主観的判断に依存している点も課題であった。これらの課題解決のためには、自発痛指標を基にした機械による客観的な自動測定を実現する必要があった。そこで、学位申請者は、疼痛が反映される自発痛関連行動型を疼痛モデル動物毎に選択し、機械を用いた自動計測により客観性と高い処理速度を有する自動自発痛評価系構築を目指し、以下の3つの検討を行った。

第一に、神経障害性疼痛モデルラットの異常動作を自動測定する系の構築、第二に、変形性関節症(OA: osteoarthritis)モデルラットに生じる自発痛様異常動作を歩様変化として自動測定する系の構築を試み、それぞれ上市薬を用いて臨床効果予測性について検証した。第三に、OA慢性疼痛に顕著な有効性を示す抗  $\beta$ -nerve growth factor (NGF) 抗体を OA モデルラットの歩様変化自動測定系で評価し、本系でも抗  $\beta$ -NGF 抗体の臨床での顕著な鎮痛作用を再現し得るか、歩様変化自動測定系の臨床効果予測性について検証した。

第一章の研究では、神経障害性疼痛動物モデルである坐骨神経絞扼損傷 (CCI: chronic constriction injury) ラットの行動観察から、自発痛の自動評価系を構築し、その臨床予測性を明らかにした。

1. 搔痒評価システム MicroAct を流用して測定条件を検討した結果、様々な自発行動を識別でき、かつ30分間に16匹のラットの疼痛関連行動を自動かつ客観的に測定可能な評価系を構築した。

2. MicroAct による自発行動測定結果と、外的刺激に対する逃避反射行動測定結果との間に相関を認めず、本系は刺激誘発痛とは異なる痛みを評価し得ることを明らかにした。

3. 既存鎮痛薬の CCI モデル及び健常ラット自発行動に対する薬効を本自動測定系で検出し、Amitriptyline 30 mg/kg p.o. の用量が病態モデル特異的に薬効を示すことを明らかとした。

以上から、本系は神経障害性疼痛の自発痛に有効な新規鎮痛薬探索において有用であることが示唆された。

第二章の研究では、OAモデル動物であるモノヨード酢酸誘発関節炎ラットの安静時及び動作時の左右後肢不均衡を測定し、既存鎮痛薬に対する応答性について検討した。

1. 既存鎮痛剤の安静時痛と歩行時痛に対する有効性の違いを検出し、OAラットモデルにおいても、歩行時痛が存在することを明らかにした。

2. 本モデルでの歩行時痛には、主に臨床において動作時痛に有効な  $\mu$ -opioid 受容体アゴニストが高い有効性を示すことを明らかにした。

以上から、本歩行時痛評価系に有効な鎮痛薬は臨床においても動作時痛に有効性を示す可能性があり、本系は今後の OA 鎮痛薬探索において有用であることが示唆された。

第三章の研究では、OAラットモデルの歩行時痛に対する抗  $\beta$ -NGF 抗体の薬効について検討した。

1. 臨床 OA 歩行時痛に持続的かつ顕著な有効性を示している抗  $\beta$ -NGF 抗体は、OA 疼痛ラットモデルにおいても歩行時痛に持続的かつ  $\mu$ -opioid 受容体アゴニスト並の顕著な鎮痛作用を示し、本歩行時痛評価系が臨床効果を反映することを明らかにした。

2. OA 惹起後早期から抗  $\beta$ -NGF 抗体を投与することでより強い、持続的な作用を示すことが明らか

かとなり、B-NGF が発痛に関与するばかりでなく、慢性疼痛病態の形成にも寄与することを明らかにした。

以上、構築した各疼痛モデルの自発痛関連行動測定系は、従来法の課題であった非臨床／臨床の評価指標の不一致を解消して非臨床薬効評価法の臨床効果予測性を向上させ、かつ特定実験者の実験手技／主観的判断への依存を解決できていると考えられる。これら自発痛関連行動評価から自発痛・動作時痛に関する機序解明がさらに進み、新規機序に基づく強い鎮痛薬が見出されることが期待される。

以上、本研究は博士（薬学）の学位を与えるに十分な内容を有すると判断される。