The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Go-sha-jinki-Gan (GJG) ameliorates allodynia in chronic constriction injury model mice via suppression of TNF-$\alpha$ expression in the spinal cord |
| Author(s) | 中西, 美保 |
| Citation | 大阪大学, 2017, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/61569 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

# 論　文　内　容　の　要　旨
# Synopsis of Thesis

| 氏　名<br>Name | 中西　美保 |
|---|---|
| 論文題名<br>Title | Go-sha-jinki-Gan (GJG) ameliorates allodynia in chronic constriction injury model mice via suppression of TNF-α expression in the spinal cord<br>（牛車腎気丸は脊髄のTNF-αの発現を抑制して神経障害性疼痛を軽減させる） |

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

神経障害性疼痛は、そのメカニズムが解明されつつあるが、臨床の現場ではしばしば治療に難渋し、副作用の少ない有効な薬剤の開発が期待されている。牛車腎気丸（以下GJG）は、高齢者の痛みに経験的に使用され、鎮痛作用以外に血行や浮腫の改善作用など複数の作用を合わせ持ち、質の高い有効性を示す薬剤である。GJGの薬効機序は、これまで、糖尿病性神経障害や抗癌剤による神経障害モデルにおける研究で、nitric oxide(NO)の産生促進作用、κオピオイド受容体刺激作用、transient receptor potential(TRP)チャンネルの関与などが報告されているが、未だ十分に解明されていない。我々は、最も一般的な神経障害性疼痛モデルである、坐骨神経の絞扼性神経損傷(chronic constriction injury; 以下CCIモデル)を使って、GJGの鎮痛作用の分子薬理機序を探索した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

6週齢の雄性C57BLマウスを用いて左坐骨神経を結紮しモデルを作成し、結紮を行わないSham群を対象群とした。術当日より牛車腎気丸を普通餌に混餌し（4%(w/w)）し、4週間投与した。疼痛行動を、機械刺激(von Frey test)、寒冷・熱刺激(cold/hot plate test)で評価した。すべてのテストにおいて、CCI群でみられた疼痛閾値の減少は、GJG投与により有意に改善した(von Frey test, $p<0.0001$; cold-plate test, $p<0.0001$; hot-plate test $p=0.011$; two-way repeated measures ANOVA)。特に、von Frey test、cold plate testでは、術後１週目の早期より閾値の改善が認められた。脊髄後角におけるミクログリアの活性化を免疫組織化学染色とウエスタンブロッティングで検討したところ、CCI群では、術後2日目よりIba1の発現が増加し、術後3日目に発現の増加がピークとなったが、GJGの投与によりその発現は抑制された。TNF-αのウエスタンブロッティングでは、CCI群で認められた術後1日目、3日目のTNF-αの発現の増加は、GJGの投与により抑制された。術後3日目の脊髄後角におけるIba1とTNF-αの免疫二重染色では、CCI群では、多くのTNF-αがIba1と共発現していたが、GJGの投与でその発現は抑制された（CCI, 72.2±9.1%; GJG-treated CCI, 43.7±3.6%; $p=0.008$, one-way ANOVA）。以上の結果より、GJGは活性化ミクログリアからのTNF-α発現抑制を介し疼痛行動を改善することが示された。そこで、GJGを投与して痛みが抑制されているCCIマウスに、少量のTNF-αを髄腔内投与したところ、GJGの鎮痛効果は有意に減弱することが確認された(cold plate test; i.t. TNF-α GJG-treated CCI vs. i.t. PBS GJG-treated CCI, $p<0.0001$; two-way repeated measures ANOVA)。

〔総　括(Conclusion)〕

牛車腎気丸は、神経障害の早期に活性化ミクログリアからのTNFαの発現抑制を介し、神経障害性疼痛を軽減させることから、神経障害性疼痛治療に広く応用可能な薬剤と考えられる。

# 論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）中西　美保

| | | （職） | 氏　　名 |
|---|---|---|---|
| 論文審査担当者 | 主　査 | 大阪大学教授 | 吉川秀樹 |
| | 副　査 | 大阪大学教授 | 藤野裕士 |
| | 副　査 | 大阪大学教授 | 望月秀樹 |

## 論文審査の結果の要旨

牛車腎気丸（以下 GJG）の神経障害性疼痛に対する有効性とその鎮痛作用の分子薬理機序を探索した。6週齢の雄性C57BL/6Jマウスを用いて、左坐骨神経を結紮した絞扼性神経損傷モデル(chronic constriction injury; 以下CCIモデル)と、結紮を行わないShamを作成し、術当日よりGJGを投与した。痛み行動試験（von Frey test、cold plate test、hot plate test）では、CCI群で認めた疼痛閾値の減少は、GJG投与により早期より有意に改善した。脊髄後角におけるミクログリアの活性化をIba1の免疫組織化学染色とウエスタンブロッティングで検討したところ、CCI群のIba1の発現が増加は、GJGの投与により抑制された。TNF-αのウエスタンブロッティングでは、CCI群のTNF-αの発現の増加は、GJGの投与により抑制された。術後3日目の脊髄後角におけるIba1とTNF-αの免疫二重染色では、CCI群ではTNF-αとIba1と発現が増加し、それらの多くは共発現していたが、GJGの投与により有意に抑制された。GJGを投与したCCIマウスにTNF-αを髄腔内投与したところ、GJGの鎮痛効果は有意に減弱した。GJGは、活性化ミクログリア由来のTNF-αの発現を抑制して神経障害性疼痛を軽減させることを示した。GJGの早期における鎮痛機序と中枢性の鎮痛機序を明らかにした初めての論文であり、学位の授与に値すると考えられる。