

第37回麻布環境科学研究会 一般学術講演2

ゲニステインの慢性投与による炎症性痛覚過敏に対する効果

○荒川 殊帆, 井上 もがみ, 島津 徳人, 武田 守

麻布大学 生命・環境科学部 食品生理学研究室

【研究背景】

現在、生体調節機能に関わる食品中の化学成分の一つとして、様々な“ポリフェノール”が知られており、ハーブ療法や鍼治療などの“補完代替医療”(Complementary Alternative Medicine)の観点より注目されている。ポリフェノールの中でも大豆などに多く含まれる植物由来の「イソフラボン(ゲニステイン)」は*in vitro*で三叉神経節ニューロンの電位依存性Na⁺チャネルを直接修飾することにより、活動電位発火頻度を抑制することが判明している(Liu *et al.*, 2004)。さらにゲニステインは炎症部位で産生される起炎物質であるプロスタグランジン(Prostaglandin E₂:PGE₂)産生に関わるシクロオキシゲナーゼ(Cyclooxygenase-2:Cox-2)活性を抑制することが報告されている(Corbert *et al.*, 1996; Liang *et al.*, 1999)。また、これらの末梢性感作に起因した中枢性感作はグルタミン酸シナプス伝達における(N-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体のリン酸化がゲニステインにより修飾を受けることも判明している(Guo *et al.*, 2002; Luo *et al.*, 2014)。したがって、ゲニステインが炎症性痛覚過敏の緩和に強く関わることを推測される(Guo *et al.*, 2002; Luo *et al.*, 2014)。

最近、本研究室の研究により三叉神経脊髄路核尾側亜核(trigeminal spinal nucleus caudalis: SpVc)広作動域(wide-dynamic range: WDR)ニューロンの過興奮性が、赤ワインに多く含まれるポリフェノール:レスベラトロールの慢性投与により抑制され、炎症性痛覚過敏を緩和することが判明し、非ステロイド性鎮痛薬(Non-steroidal analgesics: NSAIDs)に替わる“副作用のない抗炎症鎮痛薬”の可能性が示唆された(Sekiguchi *et al.*, 2016; Matsumoto *et al.*, 2017)。

しかし、現在までに、*In vivo*の条件下においてゲニステインの炎症性疼痛と侵害受容性ニューロンの過興奮に対する修飾効果については不明である。そこで、本実験では、まず(1)ゲニステインの慢性的全身投与が、三叉神経支配領域の炎症時に発現する痛覚過敏を緩和するか否かを行動学的手法を用いて解析を行い、(2)炎症時に発現する痛覚過敏の誘導に重要な役割を担うSpVc WDRニューロンの過興奮がゲニステインにより緩和されるか否かを電気生理学的に解析を行った。

【方法】

①行動学的解析: Wistar雄ラット(11週齢)を①対照群、②炎症群、③炎症+ゲニステイン(i.p.)投与群の3群に分ける。ペントバルビタールNa麻醉後(50mg/kg, i.p.), 顔面皮膚に起炎物質(Complete Freund's adjuvant: CFAを50μl)を投与し、これを“炎症群”とする(Takeda *et al.*, 2013)。一方、溶媒(0.9% NaCl)投与群を“対照群”とする。炎症群ラットに連日ゲニステイン(100,200mM,i.p.)投与したものを“炎症+ゲニステイン投与群”とする。起炎物質投与1-4日後、顔面皮膚に加えたvon Frey hairによる機械刺激による逃避反射閾値測定(低下)により痛覚過敏の有無を判定する(Takeda *et al.* 2007; Matsumoto *et al.*, 2017)。炎症痛覚過敏がゲニステイン投与で緩和されるか否かを解析する。

②電気生理学的解析: 上記3群のラットをペントバルビタールNa麻醉後(50mg/kg,i.p.), 露出した延髄に微小ガラス電極(0.5M酢酸Na溶液含有)を刺入し、顔面皮膚の機械刺激(侵害, 非侵害)に応じるWDRニューロン活動をPower LabとPCを用いて定量的に解析する。炎症群が顔面皮膚に加えたvon Frey hairに

対する炎症性痛覚過敏に関連する SpVc/C1 ニューロンの”過興奮”(Takeda et al., 2011; Sekiguchi et al., 2016)の誘導を確認する。次に、行動学的解析により得られた炎症群ラットに連日ゲニステイン投与により痛覚閾値が正常レベルに回復したラットを用い炎症性痛覚過敏に関わるニューロンの①機械刺激閾値の低下 ②自発放電の増加 ③侵害刺激後の後発射の有無が緩和されるか否かを解析する。

【結果】

- ▶ 行動学的解析：炎症群における逃避反射閾値は対照群に比較して有意に低下した(痛覚過敏)。この低下は 100mM ゲニステイン投与により炎症誘発後 4 日目に有意に対照群レベルに回復し ($p < 0.05, n = 6$), 200mM ゲニステインでは 3 日目で有意に対照群レベルに回復した。 ($p < 0.05, n = 4$)
- ▶ 電気生理学的解析：炎症群で観察された、顔面皮膚侵害刺激に対する SpVcWDR ニューロンの機械刺激に対する①閾値の低下 ②自発放電の増加 ③刺激に対する放電頻度の増強 ④侵害

刺激後の後発射の有無 ⑤受容野サイズの増大がゲニステイン投与により有意に減少し対照群レベルに回復した。 ($p < 0.05, n = 6$)

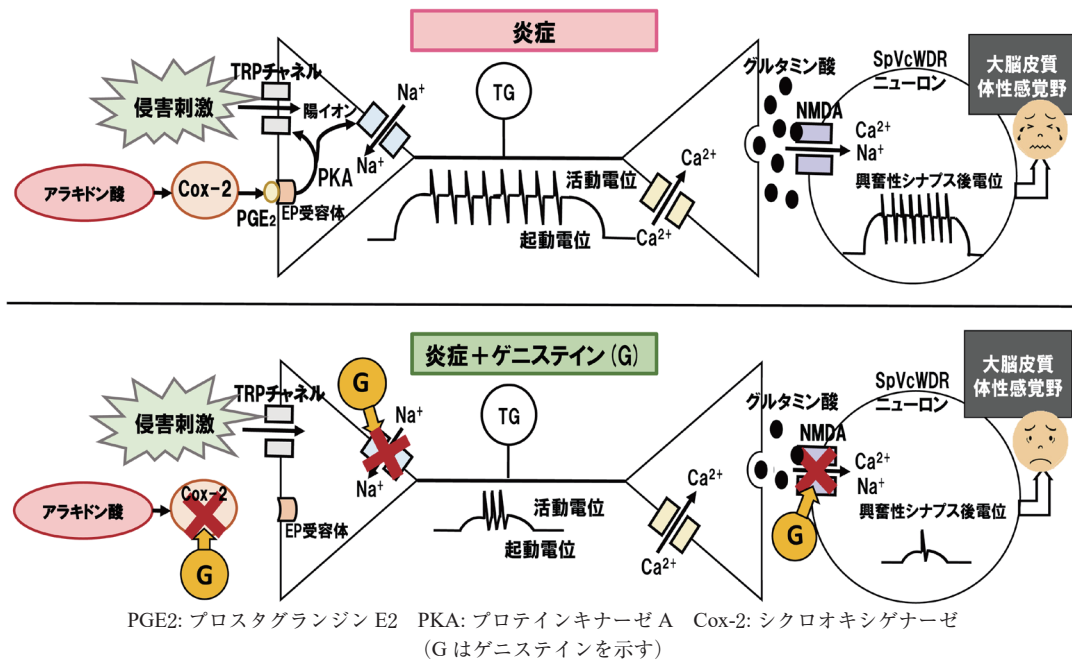
【結論と考察】

- ▶ 大豆などに含まれるゲニステインの全身投与が、三叉神経支配領域の炎症時に発現する痛覚過敏の誘導に重要な役割を担う SpVc WDR ニューロンの過興奮を抑制することが判明した。
- ▶ 本実験により、食品由来成分のゲニステインが NSAIDs に替わる抗炎症性鎮痛薬として、薬に頼らない安全性の高い治療「補完代替医療」に貢献する可能性が示唆された。

【文献】

- Sekiguchi et al., *Mol Pain*. 2016; 11: 12.
- Liang et al., *Carcinogenesis*. 1999; 20: 1945-52
- Takeda et al., *J Oral*. 2011; 53: 318-329
- Luo et al., *Brain Res*. 2014; 167: 75
- Liu et al., *Pain*. 2004; 112: 131-141
- Corbert et al., *Am J Physiol*. 1996; 270: 1581-7
- Takeda et al., *J Peripher Nerv Syst*. 2012; 17: 169-81
- Guo et al., *J Neurosci*. 2002; 22: 6208-17
- Takeda et al., *Brain Behav Immun*. 2013; 28: 100-7

炎症性痛覚過敏に対するゲニステインの緩和効果 (仮説)



組織炎症時において、ゲニステインは Cox-2 を抑制することで、三叉神経節 (Trigeminal ganglion: TG) ニューロンの侵害機械刺激を受容する TRP チャンネル、電位依存性 Na⁺ チャンネルを介して末梢性感作を減弱させる。恐らくシナプス後膜における NMDA 受容体のリン酸化により生じる中枢性感作もゲニステインにより修飾を受け、結果的に SpVc WDR ニューロンの興奮を減少し、高位の中枢へ伝達される疼痛シグナルを減弱させ炎症性痛覚過敏を緩和するものと推測される。