

原 著

A 型ボツリヌス毒素は神経障害性疼痛による 脊髄興奮性シナプスの増強を抑制する

獨協医科大学 麻酔科学

根本 興平

要 旨 A 型ボツリヌス毒素 (BoNT/A) の神経障害性疼痛に対する鎮痛機序を明らかにするために、マウスの坐骨神経部分結紮モデルの髄腔内に BoNT/A を投与し、BoNT/A が von-Frey 試験による痛み回避行動への作用とパッチクランプ・ホールセル記録法による脊髄後角興奮性シナプス伝達に及ぼす作用を評価した。坐骨神経の部分結紮後に 0.15 単位の BoNT/A を髄腔内投与し、von-Frey 試験によって神経障害性疼痛の症状であるアロディニアに対する鎮痛効果を評価した結果、BoNT/A はアロディニアによる痛み回避行動を減少させた。また、BoNT/A 投与 7 日後に脊髄スライス標本のパッチクランプ・ホールセル記録法で微小興奮性シナプス後電流 (mEPSCs) を観察した結果、BoNT/A は対照と比較して mEPSCs の振幅に変化を生じずに発生頻度を減少させ、単刺激による刺激誘発性興奮性シナプス後電流 (eEPSCs) の振幅も抑制した。以上の結果から、BoNT/A の髄腔内投与は脊髄後角興奮性シナプス伝達の増強を、少なくともシナプス前性に抑制することが示唆された。

Key Words : A 型ボツリヌス毒素, 神経障害性疼痛, パッチクランプ・ホールセル記録, 微小興奮性シナプス後電流, 誘発性興奮性シナプス後電流

緒 言

A 型ボツリヌス毒素 (Botulinum Neurotoxin A, BoNT/A) はグラム陽性嫌気性桿菌であるボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) から産生され、神経筋接合部に作用してアセチルコリンの放出を抑制する、極めて毒性が強い物質である¹⁾。しかし近年、BoNT/A は医療用薬物として世界中で広く臨床使用されており、本邦でも眼瞼痙攣、片側顔面痙攣、痙攣斜頸、2 歳以上の小児脳性麻痺患者における下肢痙縮に伴う尖足、上肢痙縮・下肢痙縮、重度の原発性多汗症などに対する BoNT/A の局所投与は有用な治療手段として認められている²⁾。一方で本来は適応外とされている神経障害性疼痛に対する BoNT/A の有効例も散見されている³⁻⁵⁾。動物実験においても神経障害性疼痛に対する有効性が示されており、BoNT/A の皮下投与が神経障害性疼痛による温痛覚過

敏反応を減弱させ、これらの効果は P2X3⁶⁾ あるいは TRPV1⁷⁾ を介していることを示した実験や、BoNT/A の皮下投与および髄腔内投与が糖尿病性神経障害による疼痛を緩和した報告⁸⁾ がある。また BoNT/A の局所投与および髄腔内投与が神経再生過程を促進させることで坐骨神経絞扼によって惹起された神経障害性疼痛を緩和させることが証明されている⁹⁾。

このように、臨床および動物実験において BoNT/A の神経障害性疼痛に対する有効性が多く報告されているにもかかわらず、その詳細な鎮痛機序についてはいまだに解明されていない。そこで、本研究では BoNT/A の神経障害性疼痛に対する作用機序を明らかにする目的で、神経障害性疼痛の症状であるアロディニアの動物モデルとして認められている Seltzer 法による坐骨神経部分結紮を行ったマウスの髄腔内に BoNT/A を投与し、BoNT/A のアロディニアに対する鎮痛効果を調べるとともに、脊髄後角表層ニューロンの興奮性シナプス伝達に対する作用をパッチクランプ・ホールセル記録法によって評価した。

平成 25 年 10 月 28 日受付, 平成 25 年 11 月 22 日受理
別刷請求先: 根本興平

〒 321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880
獨協医科大学 麻酔科学

方 法

本研究は獨協医科大学動物実験委員会の承認を得て行われた。

1. 対 象

生後6-8週のICR雄性マウスを使用した。飼育室の明暗周期を12時間とし、すべての実験は明期に行った。また餌、水分は自由に摂取できるようにした。

2. 神経障害性疼痛モデルの作製

マウスにハロセンの吸入による全身麻酔を施行し、全身麻酔下にSeltzer法に従った左坐骨神経部分結紮^{10,11)}を行った。

3. BoNT/Aの髄腔内投与

Seltzer法による坐骨神経部分結紮を施行したマウスに対して、HyldenとWilcoxの方法¹²⁾に従ってマウスの髄腔内にBoNT/A 0.15Uとリドカイン110 μ gを坐骨神経結紮の2日後に投与し、これをBoNT/A群とした。また、髄腔内投与量が等量となるようにリドカイン260 μ gを投与した坐骨神経結紮マウスを対照群とした。これらの薬剤が髄腔内に確実に投与されていることは、リドカインによる下肢の運動麻痺の有無を指標とし、リドカイン投与による下肢麻痺がみられなかった動物は本研究から除外した。

4. von Frey 試験

結紮2日前から結紮後10日目まで、坐骨神経部分結紮後のマウスの機械的刺激に対する反応をvon Frey filament (No. 3.22, bending force 0.5g)を用いたvon Frey試験によって評価した。機械的刺激を10回加え、それに対して逃避行動を示した割合を連日測定し、測定結果について対照群とBoNT/A群間で比較した。

5. 電気生理学的手法

1) スライス標本の作製

BoNT/A髄腔内投与から7日後にケタミン50mg/kgとキシラジン10mg/kgの腹腔内投与による全身麻酔下に、マウスの椎弓を切除し、脊髄を摘出した。摘出した脊髄は、ただちに95% O₂、5% CO₂で飽和した4℃の氷冷クレブス液(組成: NaCl, 113mM; KCl, 3mM; NaHCO₃, 25mM; NaH₂PO₄, 1mM; CaCl₂, 2mM; MgCl₂, 1mM; D-glucose, 11mM; pH: 7.4)に浸漬し、スライサー(Microslicer[®], D.S.K., Japan)を用いて厚さ350~450 μ mの脊髄スライス標本を作製した。

2) マイクロピペット電極管の作製

マイクロピペット電極管は、マイクロピペット作製装置(P-97; Sutter Instrument, USA)を用いて作製し、KOHによってpHを7.4とした電極液(K gluconate, 123mM; KCL, 14mM, Na gluconate, 2mM; ethylene glycol tetraacetic acid (EGTA), 1mM; 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine Ethanesulfonic acid (HEPES), 10mM)を充填した。測定されたマイクロピペット電極管の抵抗は5から10M Ω であった。アクセス抵抗および記録ニューロンの膜容量値が両群間で差がないことを確認した。

3) パッチクランプ・ホールセル記録

顕微鏡のステージ上で脊髄スライス標本を持続的にクレブス液で灌流させながら、パッチクランプ・ホールセル記録を行った。顕微鏡には近赤外線微分干渉顕微鏡(Axioskop FS; Zeiss, Germany)を用い、光学CCDカメラ(IR-CCD2741; Hamamatsu Photonics, Japan)を接続、脊髄スライス標本の様子をモニターにて映像化した。パッチクランプ・ホールセル記録は脊髄後角表層レクセドの第II~III層内の直径10から20 μ mの神経細胞から行った。

微小興奮性シナプス後電流(mEPSCs)はパッチクランプ増幅器(Axopatch 200B; Axon Instruments, USA)を用いたvoltage-clamp mode下(膜電位を-70mVに固定)に、デジタル変換記録装置(Digidata 1230 interface; Molecular Devices, USA)を使用して10.0kHzの頻度でコンピュータに記録し、その振幅(pA)および発生頻度(Hz)について対照群とBoNT/A群を比較した。

単刺激誘発性興奮性シナプス後電流(eEPSCs)は記録されているニューロンの近傍にあるニューロンを刺激した。加える刺激を徐々に増強させ、記録が可能な最小閾値を測定し、この閾値の5倍、15倍および25倍の刺激に対するニューロンの反応を記録し、対照群とBoNT/A群を比較した。

クレブス液にはテトロドトキシン(0.3 μ M; Sankyo, Japan)を加えることで活動電位を遮断し、グリシン受容体アンタゴニストであるストリキニン(1-2 μ M; Sigma, USA)、GABA_A受容体アンタゴニストであるビククリン(10 μ M; Biomol International, USA)を加えることで抑制性シナプス入力を遮断した。

得られた記録は、解析ソフトであるpCLAMP 9.2(Molecular Devices, USA)とMini-Analysis 6.0.7(Synaptosoft, USA)を用いて処理を行った。

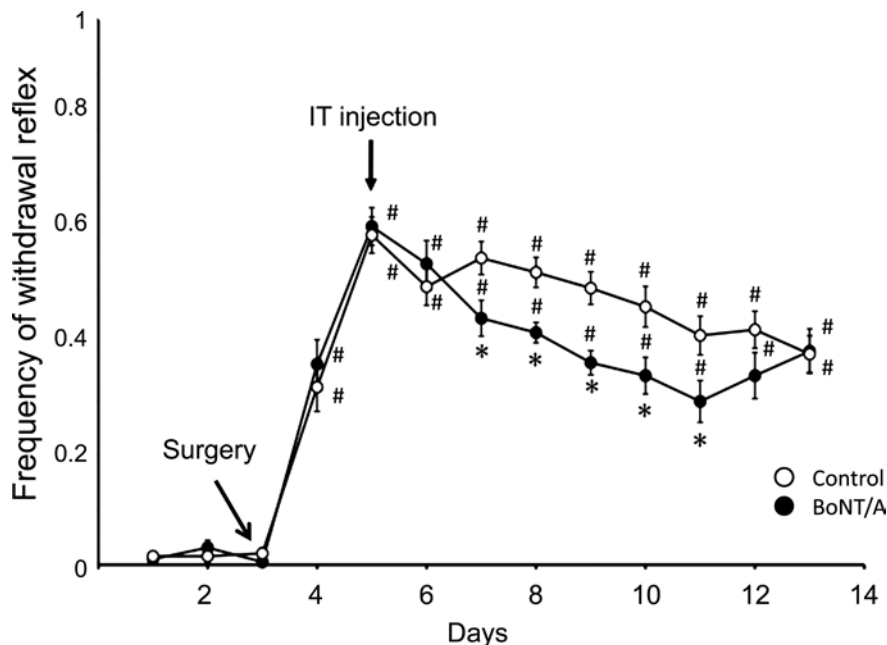


図1 坐骨神経部分結紮マウスに対する von Frey 試験の結果

縦軸は10回機械的刺激を加え、それに対して逃避行動を示した割合を、横軸は手術当日を0日とした手術後日数(日)を、○は対照群、●はBoNT/A群を示す。Surgeryは坐骨神経結紮手術を、IT injectionはBoNT/Aの髄腔内投与を示す。

対照群とBoNT/A群の両群において坐骨神経部分結紮により手術翌日以後から、手術前と比較して刺激に対する逃避行動を示す回数の増加を認めたが(# $p < 0.05$)、BoNT/A群では対照群と比較して4-8日目の逃避行動を示す回数の有意な減少がみられた(* $p < 0.05$)。

4) 統計解析

全ての結果は平均値±標準誤差で示し、対照群とBoNT/A群間におけるmEPSCsの頻度、振幅およびeEPSCsの振幅の比較には t 検定を用いた。またvon Frey試験の解析には一元配置分散分析法(one-way analysis of variance: one-way ANOVA)を用い、事後検定はTukeyの多重比較検定を行った。統計処理は統計ソフトPrism 5(Graph Pad, USA)を使用し、統計的有意水準は $p < 0.05$ とした。

結 果

1. von Frey 試験

von Frey試験の結果を図1に示す。坐骨神経部分結紮前の機械的刺激に対する逃避行動を示す回数は両群間で有意差はみられなかったが、結紮の翌日以後から、対照群とBoNT/A群の両群において手術前と比較して刺激に対する逃避行動を示す回数の有意な増加を認め($p < 0.05$)、坐骨神経部分結紮によるアロディニアが発症していることを確認した。しかし、BoNT/A群は対照群と比較して結紮後4-8日目の間で、逃避行動を示す回数の有意な減少を示した($p < 0.05$)。(対照群:n=

19, BoNT/A群:n=19)。

BoNT/Aの髄腔内投与による明らかな副作用は、すべてのマウスにおいて観察されなかった。

2. パッチクランプ・ホールセル記録

1) 微小興奮性シナプス後電流(mEPSCs)

対照群とBoNT/A群の脊髄後角表層ニューロンにおけるmEPSCs記録の1例を図2Aに示す。このニューロンで観察されたmEPSCs振幅と発生間隔を比較した結果、発生間隔はBoNT/Aの投与によって増加傾向が見られたが、mEPSCs振幅については明らかな差は見られなかった(図2B, 2C)。そしてすべての記録例のmEPSCsの発生頻度および振幅について対照群とBoNT/A群の2群間で比較した結果、mEPSCsの発生頻度はBoNT/A群で有意に減少していたが($p < 0.05$)、振幅については両群間で有意差はみられなかった(対照群:n=7, BoNT/A群:n=7)(図2D, 2E)。

2) 単刺激誘発性興奮性シナプス後電流(eEPSCs)

対照群とBoNT/A群の脊髄後角表層ニューロンから記録されたeEPSCs振幅の測定結果を図3に示す。刺激

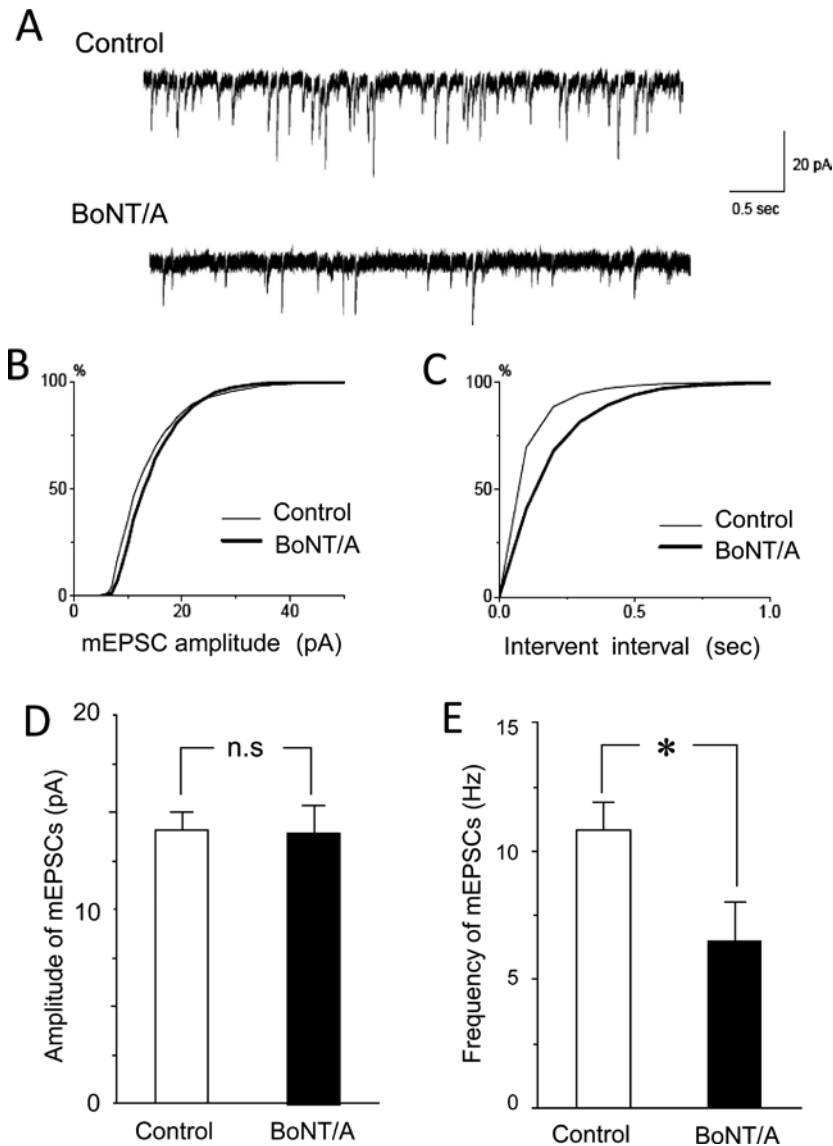


図2 パッチクランプ・ホールセル記録法による対照群とBoNT/A群における微小興奮性シナプス後電流(mEPSCs)記録とその解析

図2AはmEPSCs記録の1例を示し、図2Bはこの記録例の振幅、図2Cは発生間隔の累積ヒストグラムを示す。縦軸はmEPSCsの累積相対度数、横軸はそれぞれ振幅と発生間隔を示す。この観察例ではBoNT/Aの髄腔内投与によってmEPSCs振幅(pA)に変化はみられなかったが(図2B)、発生間隔(sec)は増大する傾向がみられた(図2C)。また、mEPSCs振幅と発生頻度の統計比較を行った結果、対照群とBoNT/A群においてmEPSCsの振幅に有意差はみられなかったが(図2D)、その発生頻度はBoNT/A群で有意に減少した(図2E)(* $p < 0.05$)。

に反応する最小閾値、すなわち最小刺激閾値の15倍と25倍の刺激において、BoNT/A群は対照群と比較してeEPSCs振幅の有意な抑制を示した($p < 0.05$) (対照群： $n = 15$, BoNT/A群： $n = 23$)。

以上の結果から、BoNT/Aの髄腔内投与は脊髄後角の興奮性シナプス伝達を少なくともシナプス前性に抑制することが示された。

考 察

神経筋接合部において神経終末からのアセチルコリン放出を抑制して骨格筋を弛緩させる作用を有するボツリヌス毒素¹⁾は、A型からG型までの7種類の抗原性が知られており、A型およびB型のボツリヌス毒素が臨床使用されている。BoNT/Aは運動神経終末のA型毒

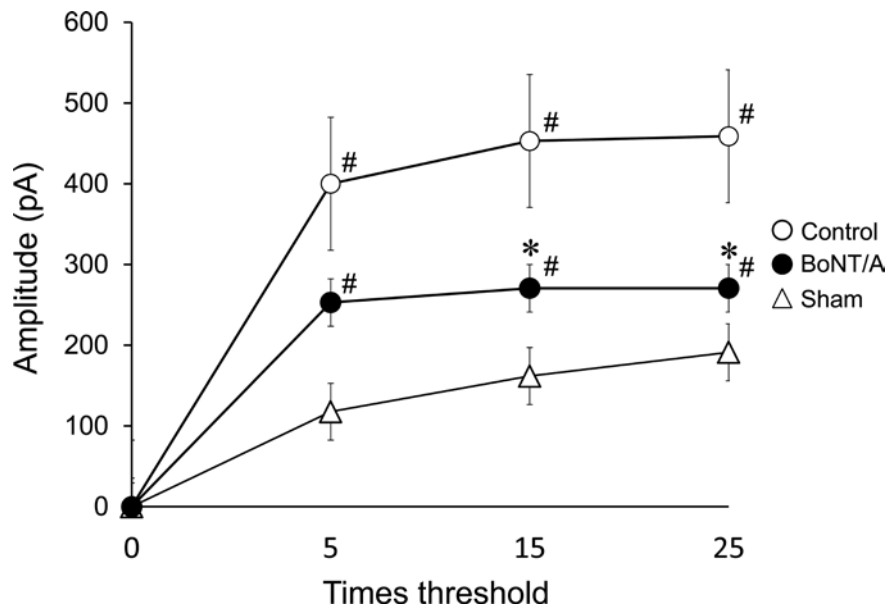


図3 パッチクランプ・ホールセル記録法による対照群とBoNT/A群における単刺激誘発性興奮性シナプス後電流 (eEPSCs) 記録の解析

縦軸はeEPSCs振幅 (pA) を、横軸はeEPSCsが確認できる最小刺激閾値を基準とした刺激閾値 (5, 15, 25 倍) を示す。○は対照群 (坐骨神経結紮群) を、●はBoNT/A群、△はsham手術群を示す。坐骨神経結紮によって対照群とBoNT/A群ではeEPSCsの振幅は有意に増大したが (# $p < 0.05$)、最小刺激閾値より15, 25倍の刺激閾値において、eEPSCs振幅の増大はBoNT/Aの髄腔内投与によって有意に抑制された (* $p < 0.05$)。

素受容体であるSV2 (synaptic vesicle protein 2) と結合して毒素が細胞内へエンドサイトーシスによって取り込まれると、内因性プロテアーゼによって活性化され、シナプス小胞に付随するSNAREタンパク質であるSNAP25を切断することによってシナプス小胞と細胞膜の膜融合を阻害する。その結果、神経伝達物質であるアセチルコリンの放出が抑制されて、筋弛緩作用が発現すると考えられている^{1,13,14}。

上述のように、BoNT/Aは筋弛緩作用以外に鎮痛作用も有することが知られているが、鎮痛機序に関しては十分に解明されていない。Arezzo¹⁵はBoNT/Aの神経筋遮断効果を介した鎮痛機序として、1) group III (薄いミエリン鞘による有髄線維) と group IV (無髄線維) 支配の筋線維の感受性と反応パターンを変化させる、2) γ 運動ニューロンによる筋収縮を抑制することで次に起こる γ ニューロンや筋紡錘の収縮を抑制する、3) 血管や自律神経系のコリン作動性活動を変化させる (神経の炎症を含む)、4) 神経軸索における可塑性変化を生じる、5) 痛みの求心性線維に対する非コリン作動性活動を抑制する、といった5つの機序を提唱している。それに加えて、末梢侵害受容器が刺激されると、ブラジキニン、セロトニン、 K^+ 、プロスタグランジン E_2 、サブスタンスP、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) など

の発痛物質によって活性化されて感受性が增大されるために神経過敏、末梢性感作が生じるといわれているが¹⁶、BoNT/Aはこれらの放出を抑制し、末梢性感作を抑制することで鎮痛効果を発現するといわれている¹⁷。また、中枢神経系に対しては、後根ニューロン培養細胞におけるサブスタンスP放出の抑制¹⁸、三叉神経節培養細胞におけるCGRP放出抑制¹⁹、大脳皮質におけるグルタミン酸、アスパラギン酸、 γ アミノ酪酸 (GABA)、メトエンケファリン放出抑制²⁰など、BoNT/Aの神経伝達物質の抑制に関する報告があり、BoNT/Aは中枢性感作も抑制し、鎮痛効果を発現していると考えられる。Xiaoら^{6,7}は脊髄レベルでのBoNT/Aの作用機序について、脊髄神経前根の離断によってP2X3の発現量増加やTRPV1のup regulationが起り、神経障害性疼痛が発症すると述べており、BoNT/Aの皮下注による鎮痛機序はこれらの受容体を介して行われている可能性があると言及している。さらに、オピオイド受容体アンタゴニストであるnaltrexonがBoNT/Aの抗侵害受容効果に対する抑制およびc-Fos発現に対する抑制を拮抗したことから、BoNT/Aの抗侵害受容機序に内因性オピオイドが関与していることを指摘している報告もある²¹。

以上の報告に基づき、BoNT/Aの鎮痛機序としては、

BoNT/A が脊髄レベルのシナプス伝達に作用している可能性が考えられ、神経障害性疼痛で生じる脊髄後角の興奮性シナプス伝達の増強を BoNT/A が抑制的に作用すると推察された。本研究では坐骨神経部分結紮によって惹起された神経障害性疼痛が BoNT/A の髄腔内投与により減弱することが確認され、パッチクランプ・ホールセル記録法による脊髄後角表層の興奮性シナプスの観察において mEPSCs の発生頻度が減少したことから、BoNT/A は神経障害性疼痛における自発的な脊髄後角表層の求心性線維からの興奮性神経伝達物質の放出をシナプス前性に抑制することが示された。一方で mEPSCs の振幅に対照群との差がなかったことから明らかなシナプス後性抑制は認めなかった。さらに BoNT/A は単刺激誘発による興奮性シナプス活動を表す eEPSCs 振幅の増強を抑制したことから、BoNT/A はアセチルコリンのみならず、グルタミン酸などの自発的あるいは刺激誘発性興奮性神経伝達物質の放出抑制に関与している可能性があるとして推察した。

現在、本邦では BoNT/A の難治性疼痛に対する使用は適応外であるが、臨床的には BoNT/A の局所皮下投与による鎮痛効果は数多く証明されており³⁻⁵⁾、BoNT/A の局所投与に対する安全性も確立されている。しかし、BoNT/A と筋弛緩作用を有する薬剤との併用で閉瞼不全、頸部筋脱力感、嚥下障害といった症状や反復、大量投与による中和抗体の産生などが問題視されており、加えて、直接的な因果関係は不明であるが、インフルエンザ様症状（筋肉痛、頭痛、発熱、悪寒、下痢、腹痛など）の出現も報告されているので¹⁾、慎重な症例の選択と投与が求められている。

本研究では BoNT/A のマウス髄腔内投与によって観察期間中に明らかな副作用はみられずに脊髄後角の興奮性シナプス伝達に対する抑制作用を確認できた。しかし、刺激に反応する最小閾値の5倍の刺激において、BoNT/A の髄腔内投与は単刺激誘発による興奮性シナプス活動を表す eEPSCs 振幅の増強を抑制せず、より強い刺激においてのみ BoNT/A は eEPSCs 振幅の増強を抑制した。その理由として、本研究で用いた BoNT/A の投与量では十分な鎮痛効果を示さない可能性が考えられたが、本研究では解明することは不可能であり、今後の研究で BoNT/A の至適投与量を検討する必要がある。また、現段階では BoNT/A の髄腔内投与は動物実験の報告のみで臨床的には行われていないので、本研究は直ちに臨床応用と直結する実験ではないため、臨床研究と関連させた検討を行っていく必要があると考えられた。

結 論

本研究では A 型ボツリヌス毒素 (BoNT/A) が神経障害性疼痛による脊髄後角表層ニューロン興奮性シナプス伝達へ与える影響を行動学および電気生理学的に評価した。BoNT/A の髄腔内投与は神経障害性疼痛を有意に減弱させ、BoNT/A の鎮痛機序として明らかなシナプス後性抑制は認められなかったが、少なくともシナプス前性に興奮性神経伝達物質の放出を抑制することが示唆された。

今後、さらに BoNT/A の有用性に関する多くの科学的根拠を積み重ねて慎重に検討を行うことで、BoNT/A の更なる臨床使用での有益性が見出されることが期待される。

謝 辞 稿を終えるにあたり、研究と論文報告のご指導を賜りました生理学（生体情報）教室の先生方、麻酔科学講座 濱口眞輔教授、山口重樹教授、高薄敏史講師、麻酔科先生方一同に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 矢島直, 花岡一雄: A 型ボツリヌス毒素 (ボトックス®). *ペインクリニック* **25**: 1381-1383, 2004.
- 2) 目崎高広, 梶龍児: ジストニアとボツリヌス治療 改訂第2版, 診断と治療社, 東京, 2005, p103.
- 3) Ranoux D, Attal N, Morain F, et al: Botulinum toxin type A induces direct analgesic effects in chronic neuropathic pain. *Ann Neurol* **64**: 274-283, 2008.
- 4) Fabregat G, De Andrés J, Villanueva-Pérez VL, et al: Subcutaneous and Perineural Botulinum Toxin Type A For Neuropathic Pain: A Descriptive Review. *Clin J Pain* **29**: 1006-1012, 2013.
- 5) Apalla Z, Sotiriou E, Lallas A, et al: Botulinum Toxin A in Postherpetic Neuralgia: A Parallel, Randomized, Double-Blind, Single-Dose, Placebo-controlled Trial. *Clin J Pain*: 2013 Jan 30. [Epub ahead of print].
- 6) Xiao L, Cheng J, Dai J, et al: Botulinum toxin decreases hyperalgesia and inhibits P2X3 receptor over-expression in sensory neurons induced by ventral root transection in rats. *Pain Med* **12**: 1385-1394, 2011.
- 7) Xiao L, Cheng J, Zhuang Y, et al: Botulinum toxin type A reduces hyperalgesia and TRPV1 expression in rats with neuropathic pain. *Pain Med* **14**: 276-286, 2013.
- 8) Bach-Rojecky L, Salković-Petrisić M, Lacković Z: Botulinum toxin type A reduces pain supersensitivity in experimental diabetic neuropathy: bilateral effect

- after unilateral injection. *Eur J Pharmacol* **633** : 10-14, 2010.
- 9) Mika J, Rojewska E, Makuch W, et al : The effect of botulinum neurotoxin A on sciatic nerve injury-induced neuroimmunological changes in rat dorsal root ganglia and spinal cord. *Neuroscience* **175** : 358-366, 2011.
- 10) Seltzer Z, Dubner R, Shir Y : A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* **43** : 205-218, 1990.
- 11) 成田年, 鈴木勉 : 疼痛行動の評価法. *日本薬理学雑誌* **130** : 124-127, 2007.
- 12) Hylden JL, Wilcox GL : Intrathecal morphine in mice : a new technique. *Eur J Pharmacol* **67** : 313-316, 1980.
- 13) Rossetto O, Seveso M, Caccin P, et al : Tetanus and botulinum neurotoxins : turning bad guys into good by research. *Toxicon* **39** : 27-41, 2001.
- 14) Dong M, Yeh F, Tepp WH, et al : SV2 is the protein receptor for botulinum neurotoxin A. *Science* **312** : 592-596, 2006.
- 15) Arezzo JC : Possible mechanisms for the effects of botulinum toxin on pain. *Clin J Pain* **18** : S125-S132, 2002.
- 16) Graven-Nielsen T, Mense S : The peripheral apparatus of muscle pain : evidence from animal and human studies. *Clin J Pain* **17** : 2-10, 2001.
- 17) 有田英子 : ボツリヌス毒素による疼痛治療. *ペインクリニック* **26** : 1259-1269, 2005.
- 18) Welch MJ, Purkiss JR, Foster KA : Sensitivity of embryonic rat dorsal root ganglia neurons to Clostridium botulinum neurotoxins. *Toxicon* **38** : 245-258, 2000.
- 19) Durham PL, Cady R, Cady R : Regulation of calcitonin gene-related peptide secretion from trigeminal nerve cells by botulinum toxin type A : implications for migraine therapy. *Headache* **44** : 35-42, 2004.
- 20) McMahon HT, Foran P, Dolly JO, et al : Tetanus toxin and botulinum toxins type A and B inhibit glutamate, gamma-aminobutyric acid, aspartate, and met-enkephalin release from synaptosomes. Clues to the locus of action. *J Biol Chem* **267** : 21338-21343, 1992.
- 21) Drinovac V, Bach-Rojecky L, Matak I, et al : Involvement of μ -opioid receptors in antinociceptive action of botulinum toxin type A. *Neuropharmacology* **70** : 331-337, 2013.

Intrathecal Administration of Botulinum Toxin type A Might Be Suppressed the Increasing of Excitatory Synaptic Transmission in the Spinal Cord Dorsal Horn

Kohei Nemoto

Department of Anesthesia and Pain Medicine, Dokkyo Medical University School of Medicine

To clarify the analgesic effect in neuropathic pain of botulinum toxin type A (BoNT/A), a study regarding intrathecal administration of BoNT/A in a neuropathic pain model was performed. 0.15 units of intrathecal BoNT/A was administered 2 days after sciatic ligation (Seltzer method). Allodynia was examined using the von Frey test, and the effect of BoNT/A on excitatory synaptic transmission in the spinal dorsal horn was evaluated using patch clamp whole-cell recording.

The attenuation of allodynia was observed in the BoNT/A treatment group after ligation with the von-Frey test after the sciatic nerve ligation ($p < 0.05$). Patch clamp whole cell recording of spinal slice was performed 7 days after BoNT/A treatment, and miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) were observed. The frequency of mEP-

SCs was significantly reduced compared with the vehicle group ($p < 0.05$) with no effect on amplitude. The amplitude of evoked excitatory postsynaptic currents (eEPSCs) induced by single stimulation was also inhibited by intrathecal BoNT/A.

These results suggested that the increasing of excitatory synaptic transmission in the spinal cord dorsal horn might be suppressed by intrathecal administration of BoNT/A, which is likely to produce presynaptic suppression underlying these analgesic effects.

Key words : botulinum toxin type A, neuropathic pain, patch clamp whole-cell recording, miniature excitatory postsynaptic currents, evoked excitatory postsynaptic currents