

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16455

研究課題名（和文）神経障害性疼痛への間欠的高周波照射とトラマドールの併用療法の有効性及び機序の検討

研究課題名（英文）Efficacy and mechanism of combination therapy with pulsed radiofrequency and tramadol for neuropathic pain.

研究代表者

日高 康太郎（HIDAKA, KOTARO）

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：20750392

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000 円

研究成果の概要（和文）：Resiniferatoxin(RTX)投与により作成した神経障害性疼痛モデルラットを用いて間欠的高周波照射(pulsed radiofrequency; PRF)とトラマドールの反復投与の併用療法の有効性を調査した。RTXにより機械刺激に対する閾値は低下し、PRFによって回復した。RTX投与5週目のPRFは効果を認めなかったが、トラマドールを反復投与することで5週目に行ったPRFも閾値を回復させた。後根神経節(dorsal root ganglion; DRG)ではRTXによりERKのリン酸化とNav1.7の発現の増加を認めた。PRFによりこれらは抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パルス高周波療法(Pulsed radiofrequency: PRF)は組織障害が少なく、かつ長期の鎮痛が得られる治療法であるが、神経障害性疼痛発症から時期がたつと有効性が低下することがある。また、臨床的には第一選択として用いられることは少なく、薬物療法が先行して行われている。本研究により、Tramadolが投与されている患者にはPRFが有効となる可能性が高いことが示され、発症から時期が経っていても治療の選択肢となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The efficacy of the combined therapy of pulsed radiofrequency (PRF) and repeated administration of tramadol was investigated using neuropathic pain model rats prepared by resiniferatoxin (RTX) administration. RTX lowered the threshold for mechanical stimulation and PRF restored it. Although PRF at 5 weeks of RTX administration had no effect, repeated administration of tramadol also restored the threshold value of PRF at 5 weeks. In the dorsal root ganglion (DRG), RTX showed ERK phosphorylation and increased Nav1.7 expression. These were suppressed by PRF.

研究分野：ペインクリニック

キーワード：高周波パルス療法 Tramadol Resiniferatoxin ERK Nav1.7

1. 研究開始当初の背景

神経障害性疼痛は末梢あるいは中枢神経系の損傷や機能異常によっておこる。そのメカニズムの複雑さが治療を困難なものとしている。薬物療法や神経ブロック療法が単独、もしくは併用して行われるが、鎮痛効果は確実ではない。これらの治療に加えて、高周波パルス療法 (pulsed radiofrequency: PRF) が行われる。PRF は神経に高周波をパルス状にかける電場による治療であり、針先温度を 42 以下に保つため組織障害が少なく、また、長期の疼痛軽減効果があるとされている。In-vivo 試験や臨床試験でその有効性が確認されているものの、PRF の詳しい作用機序はわかっていない。

レシニフェラトキシン (RTX) は、transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) の強力なアゴニストである。動物実験では、全身投与で機械刺激への閾値の低下と温熱覚の閾値上昇を認める。これらは帯状疱疹後神経痛 (postherpetic neuralgia: PHN) の症状と類似しており、PHN モデルとして用いられている。田中ら (Anesth Analg 111:784-90, 2010) は、RTX 誘発ラット疼痛モデルにおいて、RTX 投与後 1~2 週後の早期 PRF 照射は有効であったが、RTX 投与 5 週後の後期 PRF 照射は無効であったと報告している。

トラマドールは μ オピオイド受容体に対する弱い親和性とセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害作用を併せ持つことで鎮痛作用を発揮するとされ、本邦の神経障害性疼痛ガイドラインでは第 2 選択薬に位置している。トラマドールを坐骨神経部分結紮による神経障害性疼痛モデルラットに反復投与したところ、急性の鎮痛作用とアロディニアの改善作用があることが報告されている (J Pharmacol Sci 124:244-57, 2014)。興味深いことに、このアロディニア改善効果はトラマドールの投与中断後も一定期間持続した。

Nav1.7 は電位依存性 Na チャネルのサブタイプの一つであり、異常疼痛との関連性が注目されている。動物実験では炎症性疼痛や一部の神経障害性疼痛モデルの DRG で Nav1.7 の増加が報告されている。また、ヒトの遺伝病で Nav1.7 の機能亢進が異常疼痛を、Nav1.7 の機能低下が痛覚消失を引き起こすことが分かっている (Nat Rev Neurosci 2013;14:49-62)

2. 研究の目的

本研究の目的は、Nav1.7 に着目した RTX 誘発機械的アロディニアに対する PRF 療法のメカニズムを解明し、トラマドールの早期投与が PRF 施行時期に及ぼす影響を明らかにすることである。

3. 研究の方法

1) 神経障害性疼痛モデルの作製:

RTX 投与によるモデル作成: RTX は溶媒 (Tween80、エタノール、生理食塩水を 1:1:8 で混合したもの) で希釈し 100 μ g/ml とする。これをセボフルラン麻酔下に雄の SD ラット (200-250g) の腹腔内に 200 μ g/kg を投与する。Vehicle 群は溶媒のみを同容量投与する。

2-1) トラマドール投与、PRF 実施

1) で作成した疼痛モデルラットに対し、早期 PRF の有効性を確かめるために RTX 投与 1 週目 (day7) に PRF を照射する、PRF に先行した tramadol 投与の後期 PRF に与える影響を検討するために RTX 投与 2 週間目 (day14) から day20 まで、連日 Tramadol の投与を行い、RTX 投与 5 週目 (day35) に PRF を照射する、の 2 つの実験を行った。Tramadol は 20mg/ml を腹腔内投与する。PRF は、3 種混合麻酔下に腹臥位とし、右側の坐骨結節より末梢に刺激電極を穿刺した。その後、パルス高周波を 120 秒間照射した。

2-2) 疼痛行動テスト

全てのラットに対し、RTX 投与または RTX 溶媒投与当日から以下の要領で疼痛行動テストを行う。疼痛行動テストは電子式 von Frey 装置を用いて、機械刺激への逃避行動を認めた値から侵害閾値を決定する。

- ・ RTX+PRF 群: RTX 投与直前 (day0)、PRF 直前 (day7)、day14、day21、day28、day35

- ・ RTX+Tramadol+PRF 群: RTX 投与直前 (day0)、day7、Tramadol 投与直前 (day14)、day21、day28、PRF 直前 (day35)、day42、day49

- ・ Vehicle 群: RTX 溶媒 (Vehicle) 投与直前 (day0)、day7、day14、day21、day28、day35、day42、day49

3) 後根神経節細胞 (DRG) の採取

それぞれの群で最終日の疼痛行動テスト後、ラットの意識消失・安楽死確認後に L4-L6 の DRG を取り出す。Vehicle 群、PRF 照射側(右側)と非照射側(左側)の 3 群に分けて、PCR およびウェスタンブロット(WB)を用いて Nav1.7 の定量を行う。

4 . 研究成果

1) RTX 誘発神経性疼痛ラットにおける早期 PRF の効果

RTX 投与 1 週間後の侵害閾値は、vehicle 群に比べて有意に低かった (図 1)。RTX 投与 1 週間後に右坐骨神経に PRF を照射したところ、照射側では侵害閾値が回復した。

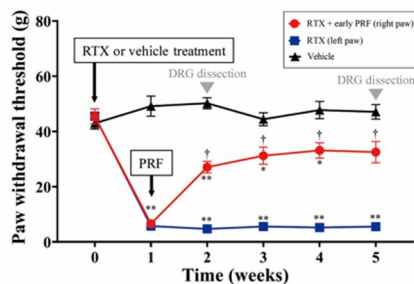


図 1 RTX 投与 1 週後の PRF の効果 : von Frey test

2) RTX 誘発性疼痛ラットへ早期 PRF 照射を行った際の DRG における Nav1.7 と ERK の解析結果

RTX 群では mRNA、タンパク量ともに Nav1.7 の発現が増加し、RTX+PRF 群ではこの増加が抑制された。(図 2)

ERK は MAPKs の経路の一つであり、神経障害性疼痛の発生と関連している[17,18]。RTX 群のリン酸化が RTX 投与の 2 週間後に増強し、RTX + PRF 群では抑制された (図 3 A および B)。しかし、RTX 投与から 5 週間後には、ERK のリン酸化に群間差は見られなかった (図 3 C および D)。

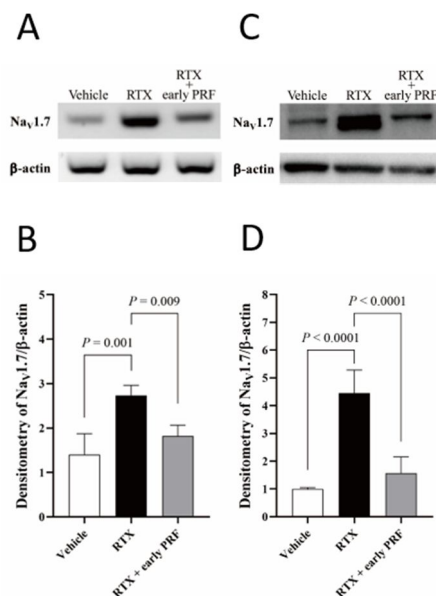


図 2 RTX 誘発性疼痛ラットの DRG における Nav1.7:A,B(RTX 投与 5 週後:PCR) C,D(RTX 投与 5 週後 : WB)

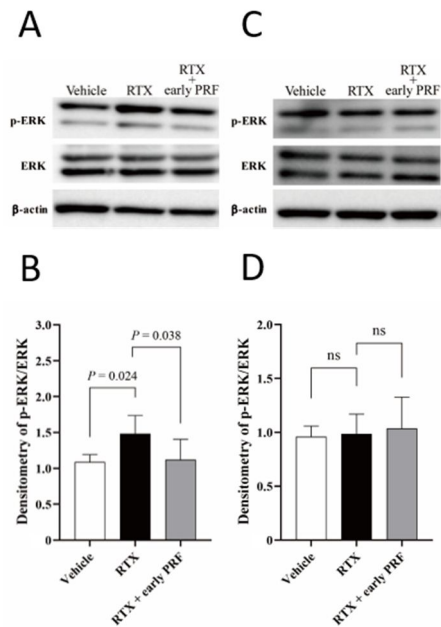


図3 RTX誘発性疼痛ラットのDRGにおけるERKリン酸化：A,B（RTX投与2週後：WB）
C,D（RTX投与5週後：WB）

3）トラマドール早期投与がRTX誘発性疼痛ラットに対するPRF療法に及ぼす影響
RTX投与5週間後のPRF照射は、侵害閾値を改善しなかった（図4）

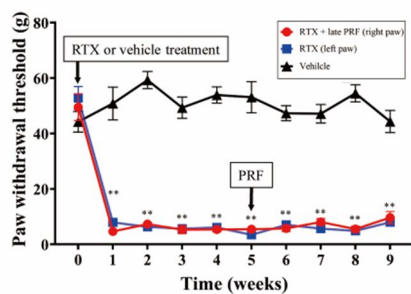


図4 RTX投与5週後のPRFの効果：von Frey test

しかし、RTX治療の2週間後よりトラマドール投与を1週間連日行った後、PRF照射を行うと、侵害閾値の回復を認めた（図5）

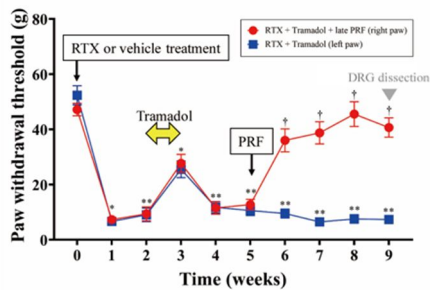


図5 Tramadolを早期投与した際のRTX投与5週後のPRFの効果：von Frey test

4) RTX 誘発性疼痛ラットヘト라마ドールを早期投与したのちに PRF 照射を行った際の DRG における NaV1.7 の解析結果

RTX 群では mRNA、タンパク量ともに NaV1.7 の発現が増加し、RTX+PRF 群ではこの増加が抑制された(図 6)。

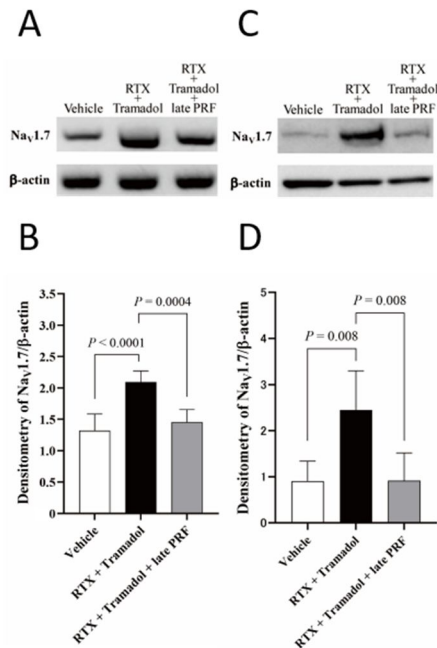


図 6 RTX 誘発性疼痛ラットの DRG における NaV1.7 : A,B (RTX 投与 9 週後 : PCR) C,D (RTX 投与 9 週後 : WB)

本研究では、RTX による侵害閾値の低下は、DRG における ERK リン酸化の亢進に続く、NaV1.7 の発現の増加に関連している可能性があることを示した。PRF 療法は、ERK のリン酸化と NaV1.7 の発現上昇の両方を抑制することで、侵害閾値を回復させることができる。さらに、PRF に先行してト라마ドールを投与することで PRF が有効となる時期が延長できる可能性を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Kotaro Hidaka |
| 2. 発表標題 Upregulation of Nav1.7 sodium channels expression and the effects of pulsed radiofrequency treatment in rat DRG with resiniferatoxin-induced neuropathic pain |
| 3. 学会等名 Euroaesthesia2020（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|----------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 日高 康太郎 |
| 2. 発表標題 Resiniferatoxin誘発性疼痛ラットでのTramadol治療後の高周波パルス療法の有効性と作用機序の検討 |
| 3. 学会等名 日本ペインクリニック学会第55回学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号） | 所属研究機関・部局・職 （機関番号） | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|