

平成 22 年 6 月 2 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19390398

研究課題名（和文） 運動器の慢性難治性疼痛の機序解明と治療法の確立

研究課題名（英文） Study of mechanism and treatment of chronic musculoskeletal pain.

研究代表者 山下 敏彦（YAMASHITA TOSHIHIKO）

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：70244366

研究成果の概要（和文）：運動器の慢性疼痛の診断・治療に寄与すべく、疼痛の機序解明、客観的指標の検索、集学的治療の確立を目的とした。パッチクランプ法を用いた電気生理学的検索では、ラット神経根絞扼モデルの後根神経節細胞において、 Na^{2+} 電流量の増大など易興奮性が認められた。また、交感神経の関与が示唆された。脊髄レベルでの分析では、脊髄後角におけるグリア細胞の活性化や脊髄膠様質細胞の興奮性の増大が認められた。腰椎椎間板ヘルニア患者において、血清中 CGRP が疼痛と相関を示した。慢性腰痛患者で、集学的治療プログラムを施行した群では、非施行群に比べ SF-36 が有意に高得点であった。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigate the mechanisms and subjective indicators of chronic pain. We also evaluated the treatment of chronic pain patients by a multidisciplinary treatment program. An electrophysiological study using the patch-clamp method revealed increased Na^{2+} current and excitability of the DRG neuron in the root constriction model. The sympathetic nervous system also appeared to contribute to chronic radicular pain. In addition, activation of the glial cells and excitation of the substantia gelatinosa neuron may also contribute to chronic pain in the dorsal horn of spinal cord. Serum concentrations of CGRP and galanin were found to correlate to pain intensity in patients with lumbar disc herniation. Scores for SF-36 and self-efficacy were found to be lower in chronic low-back pain patients, and the multidisciplinary treatment program was effective in improving SF-36 scores in patients with chronic pain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2008年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：運動器、慢性疼痛、後根神経節、交感神経、グリア細胞、神経ペプチド、脊髄膠様質細胞、集学的治療

1. 研究開始当初の背景

脊柱や四肢の関節など「運動器」の健康保持は、現代社会の国民が豊かな生活を送る上できわめて重要である。一方、運動器に関連する痛みは、国民の症状別有訴者数の統計において常時上位を占めている。さらに、その中の少なからぬ症例が慢性化し、遷延性・難治性の疼痛を呈する。慢性腰痛や複合性局所疼痛症候群などに代表される難治性疼痛疾患は、患者の QOL を著しく損なうだけでなく、休業や補償による社会的損失も甚大なものがある。

運動器の難治性疼痛症例においては、神経システムの可塑性変化による神経因性疼痛が関与している場合があり、その病態の解明には、単に骨・関節組織だけでなく、神経根を含む末梢神経レベル、脊髄を含む中枢神経レベルなど広範な神経システムにおける疼痛メカニズムを検索する必要がある。

2. 研究の目的

(1) 慢性疼痛の発生メカニズムに関する研究

脊柱や四肢における難治性慢性疼痛に関わるメカニズムを解明する。電気生理学および分子生物学的アプローチを用い、慢性疼痛状態における後根神経節、脊髄等の変化を分析し、疼痛の遷延化・難治化に関わる因子を検索する。

(2) 疼痛に関与する客観的指標に関する研究

疼痛関連マーカーの同定などを通して、客観的な疼痛評価に有用な指標を検索する。

(3) 慢性疼痛患者の臨床像の分析と集学的治療の試み

慢性疼痛（腰痛）患者を対象として、その臨床像を分析するとともに、基礎的研究結果に基づく薬物療法の試みや、複数診療科が連携した集学的治療体制の構築など、有効な治療法の樹立を目標とする。

3. 研究の方法

(1) 慢性疼痛の発生メカニズムに関する研究

腰部神経根症モデルラットにおける後根神経細胞の電気生理学的検討

150-200g の雄 Sprague-Dawley ラットを使用した。神経根絞扼群 (n=32) は、左 L5 神経根を露出し、8-0nylon 糸で DRG の近位部を絞扼した (図 1)。Sham 群 (n=24) は神経根の露出のみを行い、処置を加えない対照群 (n=5) と比較した。手術前、手術後 3、7、10、14、21、28 日で機械的・熱刺激を加え、その



図1. 神経根絞扼モデル

反応を記録した。機械的刺激は後肢を逃避した回数を、熱刺激に対する反応性は、熱照射から後肢が逃避するまでの時間を測定した。測定は両側で行い、手術群、sham 群、対照群でその差を比較した。

手術後 10 日以後に絞扼側 L5 DRG を採取し、neuron を急性単離した。痛覚伝達を司る小型細胞を対象に、パッチクランプ法を用いた。活動電位の解析は、閾値電流量、静止膜電位、活動電位振幅、後過分極、閾値膜電位、APD50、活動電位立ち上がりの dV/dt max 値について行った。また、DRG neuron の反復性 discharge パターンを測定した。パターンを 3 群

(sustained burst, transient burst, single spike) に分類した。次に、 Na^+ 、 K^+ 電流量の測定を行った。 Na^+ 電流は peak、steady-state 電流を、 K^+ 電流は steady-state 電流を測定した。

神経根性疼痛発生における交感神経の関与：行動学的、免疫組織学的研究

交感神経切除群 (n=14) は神経根絞扼と同時に交感神経を切除して作製した。経腹膜のアプローチで進入し、L2 から L5 交感神経節を同定し切除した。また、神経根絞扼の後、交感神経に処置を加えない群を交感神経非切除群 (n=10) とした。

免疫組織染色には、神経根絞扼手術後 28 日のラットを使用した。両側の L4 および L5 DRG を摘出し、tyrosine hydroxylase (TH) に対する抗体で免疫組織染色を行った。交感神経線維の定量には、TH-immunoreactive (IR) fiber を測定し、その TH-IR fiber が含まれる格子数を計測した。

神経根絞扼モデルラットにおける脊髄のグリア細胞の活性化

神経根絞扼後 1 日、7 日、28 日に屠殺して L5 レベルの脊髄を取りだし、脊髄の障害側、非障害側にわけて、p38 MAPK に関して western blot を用いた定量解析を行った。

次に屠殺・灌流固定を行ったあと取り出した脊髄を microglia, astrocyte, neuron の各々の特異的のマーカ―と p-p38MAPK で二重免疫組織染色を行い共焦点顕微鏡を用いて観察した。

脊髄膠様質細胞におけるシナプス伝達の変化

神経根絞扼後 11-15 日のラットに、ウレタン麻酔後、人工呼吸器管理下に、T13-L3 椎弓切除を行い L4 髄節及び L5 髄節の膠様質細胞から in vivo patch-clamp 記録を行った。電流固定法により、興奮性シナプス後電位及び活動電位を、電圧固定法により、興奮性シナプス後電流 (EPSC) 及び抑制性シナプス後電流 (IPSC) を記録した。また感覚受容野に air-puff 刺激 (触覚刺激) と pinch 刺激 (痛覚刺激) を加え、その応答変化を解析した。また触覚刺激及び痛覚刺激に対して活動電位を発する細胞を multi-receptive type, 痛覚刺激に対してのみ活動電位を発する細胞を nociceptive type, 触覚刺激及び痛覚刺激に対して活動電位を発しない細胞を subthreshold type と分類し評価した。

(2) 疼痛に關与する客観的指標に關する研究

腰椎椎間板切除術施行患者における血清および脳脊髄液中神経ペプチドの解析

腰椎椎間板ヘルニアで椎間板切除術を施行する患者の血清、脳脊髄液を対象とした。神経ペプチドとして CGRP, galanin, neuropeptide Y (NPY)、substance P を測定した。測定方法として ELISA 法を用いた。結果の解析は、Student *t*-test と Pearson の相関係数を用いて行った。

(3) 慢性腰痛患者の臨床像と集学的治療

慢性腰痛患者の社会心理学的背景の分析

a) 対象

対象は慢性腰痛 (非特異的腰痛) の 52 症例 (男性 15 例、女性 37 例) である。調査時年齢は平均 51.5 歳、調査時罹病期間は平均 33.4 か月であった。

b) 方法

52 症例に対し Cornell Medical Index (CMI)、SF-36 および一般的セルフエフィカシー (SE) 尺度の評価を行った。SF-36 の結果は国民標準値換算値を用い、SE 尺度は坂野らの一般 SE 尺度検査を用いた。SF-36 総点と SE 尺度の相関をスピアマン順位相関で解析した。

集学的治療の効果の検討

a) 対象

慢性腰痛 (非特異性慢性腰痛) に対して脊髄電気刺激装置 (SCS) 留置による脊髄電気刺激療法を受けた 18 症例 (男性 13 例、女性 5 例) を対象とした。調査時年齢は平均 50.4 歳であった。罹病期間は平均 5 年 6 か月、経過観察期間は平均 20 か月であった。

b) 方法

対象の 18 症例を、脊髄電気刺激療法のみで経過観察した 10 例と、脊髄電気刺激療法後に集学的治療を行った 8 例に分けた。脊髄電気刺激療法終了時における VAS で評価した疼痛程度は、両群間に有意差はなかった。

集学的治療としては、理学療法、心理療法および生活環境整備に関する介入を行った。訓練期間は 4 週間とした。心理療法は精神科の協力を得て森田療法を中心としたアプローチを行った。

脊髄刺激療法終了後 4 週目 (集学的治療終了時) において、両群の SF-36 を評価した。SF-36 の結果は国民標準値換算値を用いた。SF-36 の下位尺度に關し、両群間の差を分散分析を用いて検定した。危険率 5% 以下を有意水準とした。

4. 研究成果

(1) 慢性疼痛の発生メカニズムに關する研究

腰部神経根症モデルラットにおける後根神経細胞の電気生理学的検討

Sham 群、対照群と比較して、手術群で有意に機械的、熱刺激に対する反応性が増大した。術後 3 日目より両刺激に対する反応性の増大が観察され、機械的の刺激は術後 10 日目で、熱刺激は術後 7 日目で、それぞれ反応が定常に達した。両刺激に対する反応性の増大は、術後 28 日においても認められた。

単発の活動電位の特徴としては、sham 群と比較して、神経根絞扼群で閾値電流量の低下、静止膜電位の脱分極側へのシフト、APD50 の延長、後過分極の増大が認められた。他の項目では両群間に有意差は認められなかった。反復性 discharge パターンは、神経根絞扼群は sustained burst が 60% と優位であった。一方、sham 群では、single spike が 85% であった。神経根絞扼群の DRG neuron で反復性 discharge の亢進が見られ、興奮性増加が確認された。Sham 群と比較して、神経根絞扼群で -10mV から +20mV 間で peak Na⁺電流量の増加が認められた (図 2)。

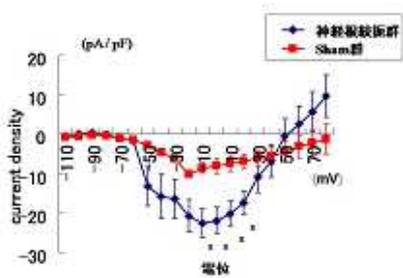


図2. DRGニューロンのpeak Na⁺電流量

Steady-state Na⁺電流量に有意差は認められなかった。一方、K⁺電流量は有意差を認めなかった。

神経根性疼痛発生における交感神経の関与：行動学的、免疫組織学的研究

免疫組織染色では、神経根絞扼群において非絞扼側 DRG と比較して絞扼側 DRG 髄鞘周囲に交感神経線維を豊富に認めた。この交感神経線維の増加は髄鞘周囲に起こっており、細胞体周囲には起こらなかった。交感神経線維の定量を行うと、TH-IR fiber を含む平均格子数は L5 DRG の非絞扼側では、sham 群 4.8、手術群 5.7 と両群間に有意差は認めなかった。一方、L5 DRG の絞扼側では、平均格子数は sham 群 7.2、手術群 23.6 と手術群で有意に交感神経線維の増加を認めた。

交感神経切除群の疼痛関連行動の観察では、交感神経非切除群で出現した疼痛行動が、交感神経を切除することで術後早期より有意に抑制された(図3)。

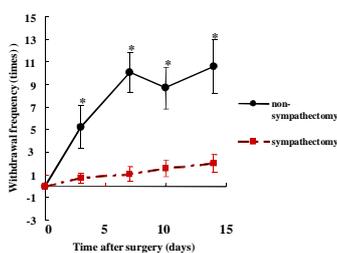


図3. 交感神経切除が疼痛関連行動に及ぼす影響

神経根絞扼モデルラットにおける脊髄のグリア細胞の活性化

免疫組織染色の結果、術後1日、7日の障害側脊髄後角部を中心に、胞体が肥大化し突起が短く太くなった活性化型のmicrogliaが認められ、二重染色ではp-p38MAPKと共染した(図4)。

術後28日では形態変化は認められずp-p38MAPKとの共染も見られなかった。astrocyteとneuronでは全経過を通して形態変化及びp-p38MAPKとの共染は認められなかった。

Western blotによる定量解析の結果では術後1日、7日の脊髄においてp-p38MAPKは障害側と非傷害側の比は無処置のものに比べてそれぞれ1.8倍、1.7倍と有意に増加していたが、術後28日では無処置のものに比べて有意差は認められなかった。

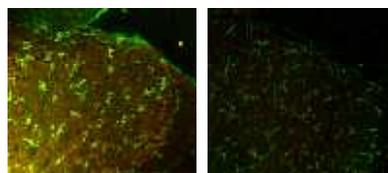


図4. 交感神経切除が疼痛関連行動に及ぼす影響

脊髄膠様質細胞におけるシナプス伝達の変化

141個の膠様質細胞からin vivo patch-clamp法を用いて記録を行った。L4, L5 髄節では自発活動電位を発生する細胞の割合は増加し、自発活動電位の発生頻度は有意に増加した。また触覚刺激、痛覚刺激により誘発されたEPSCの振幅は増大した。L5 髄節では絞扼群で自発性EPSCの頻度と振幅は増大したが、自発性IPSCの頻度と振幅は減少していた(図5)。

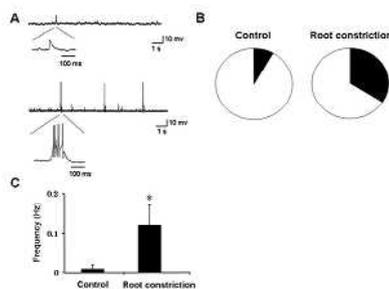


図5. L5髄節における自発活動電位の発生

A: 電流固定法 (EPSP, AP), B: 自発発火している細胞の割合, C: 発火頻度

絞扼群では細胞タイプの割合が変化しており、nociceptive type, subthreshold typeは減少しmulti-receptive typeは増加した。また絞扼群にのみ感覚受容野をもたない細胞を認めた。

(2) 疼痛に關与する客観的指標に關する研究

腰椎椎間板切除術施行患者における血清および脳脊髄液中神経ペプチドの解析

腰椎椎間板ヘルニア患者39人の解析より、血清CGRP値と術前の疼痛スケール間に有意な相関があることがわかった。また27人の術前と術後3週の血清神経ペプチド値の解析の結果、術後に坐骨神経痛の消失とともに、血清CGRP値とgalanin値が有意に低下して

いることがわかった。術前の血清 CGRP、galanin、substance P と脳脊髄液中の濃度は有意な相関を示さなかった。

(3) 慢性腰痛患者の臨床像と集学的治療
慢性腰痛患者の社会心理学的背景の分析

a) CMI

CMI を用いた心理傾向の分析では、領域 I もしくは II に分類される症例が 19.7%、領域 III もしくは IV に分類される症例は 80.3%であった。

b) SF-36

慢性腰痛患者における SF-36 総得点は、国民標準値換算で 800 点満点中 324.4 点であり、すべての下位尺度で国民標準値を下回っていた。疼痛のみならず、身体機能とそれに基づく身体性社会的役割に関する点数がそれぞれ 15.5 点、22.1 点と低値を示した(図 6)。

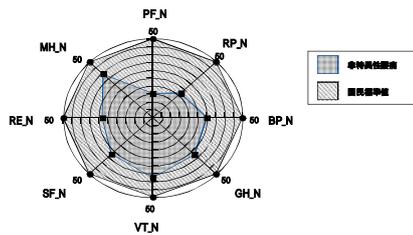


図6. 非特異性腰痛における SF-36 下位尺度
PF: 身体機能 RP: 日常役割機能(身体的) BP: 身体疼痛 GH: 全般的健康感
VT: 活力 SF: 社会機能 RE: 日常役割機能(精神的) ML: 精神的健康感

c) SE

慢性腰痛における SE 得点は 8.7 点であり、坂野らの報告による一般成人値 9.6 点より下回っていた。

スเปアマン順位相関による検討では、一般性 SE 総得点と SF-36 総得点の間に相関を認めた。

また一般性 SE 総得点と SF-36 の下位尺度の相関では、身体機能 (PF)、身体性社会的役割 (RP)、全般的健康感 (GH)、精神的健康 (MH) に有意な相関を認めた。

慢性腰痛患者に対する集学的治療

集学的治療非施行群における SF-36 の総得点は 218 点であった。これに対して、集学的治療施行群における SF-36 総得点は 303.1 点であり、全ての下位尺度において非施行群と比較して高得点であった。分散分析を用いた統計学的検討では、疼痛、活力、精神的健康感を除き、両群間に有意な差を認めた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

(1)Takeuchi H, Kawaguchi S, Mizuno S, Kirita T, Takebayashi T, Shimozaawa K,

Torigoe T, Sato N, Yamashita T. Gene expression profile of dorsal root ganglion in a lumbar radiculopathy model. Spine 33: 2483-2488, 2008. 査読有

(2)山下敏彦. 腰痛のメカニズムと治療 - 学術的アプローチ - . 日脊会誌 . 19:685-696, 2008. 査読有

(3)Mizuno S, Takebayashi T, Kirita T, Tanimoto K, Tohse N, Yamashita T. The effects of the sympathetic nerves on lumbar radicular pain. A behavioral and immunohistochemical study. J Bone Joint Surg 89-B:1666-1672, 2007. 査読有

(4)Takeuchi H, Kawaguchi S, Ohwada O, Kobayashi H, Hayakawa M, Takebayashi T, Torigoe T, Sato N, Yamashita T. Plasma neuropeptides in patients undergoing lumbar discectomy. Spine 32:E79-E84, 2007. 査読有

(5)山下敏彦. 骨・関節の疼痛のメカニズム . 特集 骨・関節疾患における疼痛管理 . クリニカ . 34:7-12, 2007. 査読有

(6)山下敏彦. 椎間関節性腰痛の基礎 . 特別企画 腰痛の病態解明 . 日本腰痛会誌 . 13:24-30, 2007. 査読有

[学会発表](計 19 件)

(1)竹林庸雄、水野諭、谷本勝正、寺島嘉紀、岩瀬岳人、山下敏彦、桐田卓 . 神経根絞扼モデルラットの後根神経節におけるアドレナリン受容体の電気生理学的検討 . 日本整形外科学会基礎学術集会 . 2009 年 11 月 5 日 . 横浜市 .

(2)Terashima Y, Kawamata M, Takebayashi T, Tanaka S, Sugiyama D, Yamashita T. Plastic change in substantia gelatinosa neurons in an animal model of radicular pain. Neuroscience2009. 2009,10,17. Chicago,USA

(3)寺島嘉紀、竹林庸雄、岩瀬岳人、山下敏彦、川真田樹人 . 腰部神経根絞扼モデルにおける脊髄膠様質細胞の特性変化の解析 . 整形外科痛みを語る会 2009 年 7 月 4 日 福岡市 .

(4)村上孝徳、山下敏彦 . 非特異的腰痛への集学的対策 (シンポジウム 生活習慣病と腰痛 - 早期予防・早期対策に向けて -). 日本整形外科学会学術総会 . 2009 年 5 月 14 日 . 福岡市 .

(5)谷本勝正、竹林庸雄、水野諭、寺島嘉紀、山下敏彦、桐田卓 . 神経根性疼痛の交感神経の関与 - パッチクランプ法による電気生理学的研究 - . 日本脊椎脊髄病学会 . 2009 年 4 月 23 日 . 神戸市 .

(6)寺島嘉紀、竹林庸雄、谷本勝正、山下敏彦 . 神経根性疼痛に対するカルシトニンの鎮痛効果の DRG への作用 . 日本脊椎脊髄病学会 . 2009 年 4 月 23 日 . 神戸市 .

(7)高畑成雄、谷本勝正、竹林庸雄、山下敏彦

彦、相馬仁、小海康夫．神経根性疼痛モデルにおける脊髄 microglia の活動性の変化．日本脊椎脊髄病学会．2009年4月23日．神戸市．

(8)Tanimoto K, Takebayashi T, Kirita T, Mizuno S, Terashima Y, Kobayashi T, Tohse N, Yamashita T. Contribution of sympathetic nervous system on lumbar radicular pain Electrophysiological study using patch clamp recordings. Orthopaedic Research Society(ORS). 2009,2,22. Las Vegas,USA.

(9)Terashima Y, Takebayashi T, Tanimoto K, Yamashita T. Antinociceptive effects of calcitonin on lumbar radicular pain. Orthopaedic Research Society(ORS). 2009,2,22. Las Vegas,USA.

(10)Takahata S, Takebayashi T, Terashima Y, Tanimoto K, Wada T, Sohma H, Kokai Y, Yamashita T. Activation of glial cells in the spinal cord of a lumbar radiculopathy model. Orthopaedic Research Society(ORS). 2009,2,22. Las Vegas,USA.

(11)谷本勝正、竹林庸雄、水野諭、寺島嘉紀、山下敏彦、桐田卓、小林武志、前田佐知子、當瀬規嗣．神経根絞扼モデルラットの後根神経節におけるアドレナリン受容体の電気生理学的検討．北海道整形災害外科学会．2009年1月24日．札幌市．

(12)寺島嘉紀、竹林庸雄、谷本勝正、高畑成雄、山下敏彦．神経根性疼痛モデルラットにおけるカルシトニンの鎮痛効果とDRGへ作用．北海道整形災害外科学会．2009年1月24日．札幌市．

(13)谷本勝正、竹林庸雄、水野諭、寺島嘉紀、山下敏彦、桐田卓、小林武志、前田佐知子、當瀬規嗣．神経根性疼痛への交感神経の関与 - パッチクランプ法による電気生理学的研究 - ．日本整形外科学会基礎学術集会．2008年10月23日．京都市．

(14)高畑成雄、谷本勝正、寺島嘉紀、竹林庸雄、山下敏彦．神経根性疼痛モデルにおける脊髄のグリア細胞の活性化．日本整形外科学会基礎学術集会 2008年10月23日 京都市．

(15)寺島嘉紀、竹林庸雄、谷本勝正、高畑成雄、山下敏彦．カルシトニンの神経根性疼痛に対する鎮痛作用．日本整形外科学会基礎学術集会．2008年10月23日．京都市．

(16)谷本勝正、竹林庸雄、水野諭、寺島嘉紀、山下敏彦、桐田卓、小林武志、前田佐知子、當瀬規嗣．神経根性疼痛への交感神経の関与 - パッチクランプ法による電気生理学的研究 - ．北海道整形災害外科学会．2008年6月21日．旭川市．

(17)高畑成雄、谷本勝正、寺島嘉紀、竹林庸雄、山下敏彦、相馬仁、小海康夫．神経根絞扼モデルラットにおける脊髄の可塑的变化．

北海道整形災害外科学会 2008年1月26日．札幌市．

(18)竹内宏仁、水野諭、川口哲、竹林庸雄、山下敏彦．ラット神経根絞扼モデルに対する選択的5-HT₂受容体拮抗薬の影響．日本整形外科学会基礎学術集会．2007年10月25日．浜松市．

(19)竹内宏仁、水野諭、川口哲、竹林庸雄、山下敏彦．ラット神経根絞扼モデルに対する選択的5-HT₂受容体拮抗薬の影響．北海道整形災害外科学会．2007年6月23日．札幌市．

〔図書〕(計4件)

(1)山下敏彦、他．金原出版．運動器慢性疾患に対する運動療法．2009．40-46．

(2)山下敏彦、他．南江堂．運動器の痛み 診療ハンドブック．2007．248-254．

(3)山下敏彦、他．日本医事新報社．よくわかる病態生理 10 運動器疾患．2007．150-153．

(4)村上孝徳、山下敏彦、他．南江堂．運動器の痛み 診療ハンドブック．2007．316-335．

6．研究組織

(1)研究代表者

山下 敏彦 (YAMASHITA TOSHIHIKO)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：70244366

(2)研究分担者

竹林 庸雄 (TAKEBAYASHI TSUNEO)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：30347166

研究分担者

石合 純夫 (ISHIAI SUMIO)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：80193241

研究分担者

當瀬 規嗣 (TOSE NORITSUGU)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：80192657

研究分担者

小海 康夫 (KOKAI YASUO)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：20178239