

平成21年 5月 7日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号： 19791494
 研究課題名（和文） 神経因性疼痛におけるACイオントフォレーシス効果の基礎的研究
 研究課題名（英文） Basic Study of the Effect of AC Iontophoresis in a Model of Neuropathic Pain
 研究代表者
 山崎 陽子（YAMAZAKI YOKO）
 東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
 研究者番号：90366609

研究成果の概要：交流電流を使用する AC イオントフォレーシス(AC IOP)を，神経因性疼痛のモデルの一つである眼窩下神経 CCI モデルラットに適用する実験を行った。その結果，AC IOP には薬剤の輸送に加え，電気刺激においても三叉神経脊髄路核尾側亜核に存在する侵害受容ニューロンの活動に影響を与える可能性があることが明らかになった。AC IOP は，神経因性疼痛を緩和する方法の一つとなる可能性があるといえる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	0	2,300,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	300,000	3,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：AC イオントフォレーシス，CCI，三叉神経脊髄路核尾側亜核，神経因性疼痛，Fos，リドカイン

1. 研究開始当初の背景

(1)今日までに報告されているイオントフォレーシスの研究は、直流電流を使用した報告が多い。しかし直流を使用する場合の欠点として、分極による皮膚内への薬剤浸透量低下や薬剤の電気分解の可能性が挙げられる。そこで芝地らは、この欠点を克服するため交流電流を用いたイオントフォレーシス：AC イオントフォレーシス (AC IOP) を開発した。

(2)東京医科歯科大学歯学部ペインクリニックでは、帯状疱疹後神経痛や外傷による神経

因性疼痛などに適用したところ、良好な結果を得たと報告している。

(3)しかし、AC IOP がどのような機序で鎮痛効果を発揮するのか、詳しいメカニズムは明らかでない。

2. 研究の目的

本研究では、眼窩下神経 Chronic constriction injury (CCI) モデルラットに AC IOP を用い、逃避行動閾値および機械的

侵害刺激による三叉神経核内の Fos 様タンパク陽性細胞発現の変化を検討した。これにより、CCI モデルラットの神経過敏が AC IOP 適用によってどのように経時的変化をするのか、また AC イオントフォレーシスによる鎮痛には中枢変化も関与するのかどうかを調査することが可能となる。

以上より、AC IOP の効果には、どのような要因が関係するのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

使用動物：Sprague-Dawley 系 雄性ラット (7~9 週齢)

(1)眼窩下神経 CCI モデルラットの作成

- ①手術前日に左右鼻毛部の刺激部位の剃毛を行った。
- ②von Frey filament で術前の逃避行動閾値を測定した。
- ③ペントバルビタール (50mg/kg) を腹腔内投与し、全身麻酔を施した後に、口腔内より左側眼窩下神経を、4-0 クロミックガット糸にて、緩く 2 箇所結紮した (1997 年今村ら)。
- ④神経結紮後 7 日目に、逃避行動閾値を再度測定し、術前と比較して有意差が認められたラットのみを、CCI モデルラットとして使用した。

(2)群分け

ラットを 10 匹ずつ、以下の 4 群に分けた。

- ・コントロール群
- ・リドカイン貼付群
- ・生食 IOP 群
- ・リドカイン IOP 群

さらに、各群 5 匹ずつ 2 群に分け、行動学的実験および免疫組織学的実験を行った。

(3)AC イオントフォレーシス (AC IOP) 準備

AC IOP には、刺激装置に Lasper CS-504 (三共電子工業株式会社製) を、電極にコットン (7×7mm) および銅線電極を用いた。電極は三叉神経第 2 枝領域にサージカルテープにて固定した。

(4)行動学的実験

- ① 全群、AC IOP 直前に、von Frey filament で逃避行動閾値を測定した。その後、ペ

ントバルビタール (50mg/kg) を腹腔内投与し、全身麻酔を施した。

②以下のように各群処置を行った。

- ・コントロール群：60 分間放置
- ・リドカイン貼付群：4%リドカインを 0.05ml 浸み込ませた電極を 60 分間貼付
- ・生食 IOP 群：0.9%生理食塩水を 0.05ml 浸み込ませた電極で、1V 50Hz 60 分間通電
- ・リドカイン IOP 群：4%リドカインを 0.05ml 浸み込ませた電極で、1V 50Hz 60 分間通電

③AC IOP 直後・30 分後・60 分後・90 分後・120 分後に逃避行動閾値を測定した。

④その後、AC IOP 後 1 日目から 7 日まで、毎日逃避行動閾値を測定した。

(5)免疫組織学的実験

①全群、AC IOP 直前に、von Frey filament で逃避行動閾値を測定した。その後、ウレタン 1200mg/kg を腹腔内投与し、全身麻酔を施した。

②(4)の②の処置を各群で行った。

③刺激後、60g 0.5Hz 10 分間、左側鼻毛を刺激した。

④刺激 2 時間後、致死量のペントバルビタールを腹腔内投与し、0.9%生理食塩水および 4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定した。

⑤延髄を摘出し、24 時間、4%パラホルムアルデヒドにて後固定し、その後 30%シュウクロスに 48 時間浸漬した。

⑥凍結連続切片を作成し、Fos 様タンパクをターゲットに免疫染色を行った。使用した主な薬剤は、以下のとおりである。

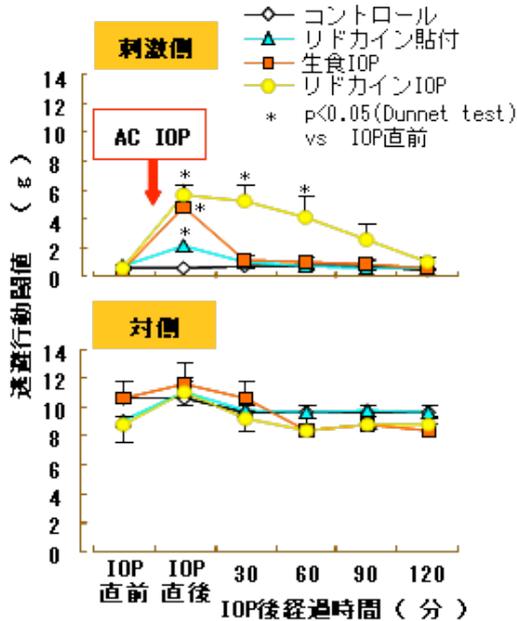
- ・一次抗体：rabbit anti c-Fos (1:10,000, Ab-5, Oncogene 社)
- ・二次抗体：ビオチン化ヤギ抗ウサギ IgG 抗体 (1:200, BA-1000, Vector 社)
- ・ABC 反応：ABC KIT STANDARD (1:100, PK-4000, Vector 社)
- ・発色：DAB

⑦スライドガラスにマウントし、Fos 様タンパク陽性細胞の発現を観察した。

4. 研究成果

(1) 逃避行動閾値の経時的変化

< 図 1 >



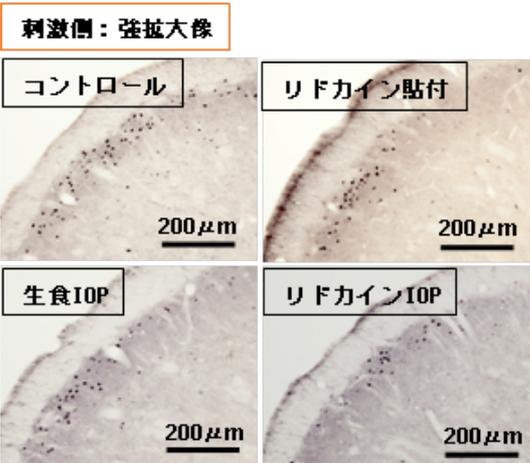
※AC IOP 後、1~7 日目では、IOP 直前の値と比較して、有意差を認めなかった。

- 図 1 のとおり、コントロール群を除く 3 群全てに、刺激側において AC IOP 直後の逃避行動閾値の上昇を認めた。
- リドカイン IOP 群では、他の群より逃避行動閾値の上昇が継続し、有意差は 60 分後まで認められた。
- 4%リドカイン AC IOP の単回使用では、数日間の効果の持続は認められなかった。

(2) 免疫組織学的実験結果

① 顕微鏡組織標本写真

< 図 2 >

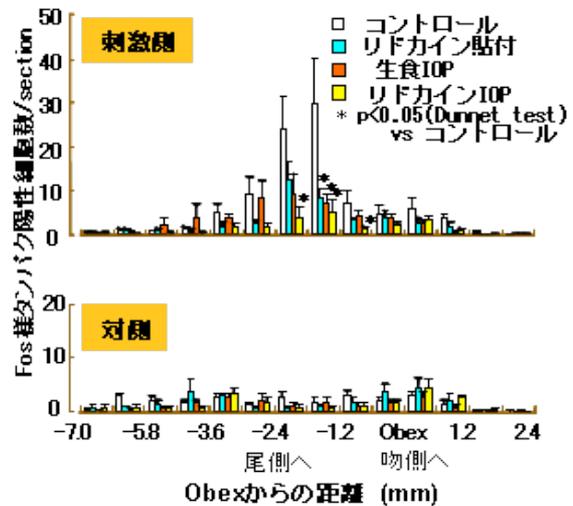


※ 対側の組織標本には、著明な Fos 様タンパク陽性細胞の発現は認めなかった。

- 図 2 は、三叉神経脊髄路核尾側亜核部の組織像を示している。コントロール群では、表層に広がる Fos 様タンパク陽性細胞発現を認める。リドカイン貼付群と生食 IOP 群ではコントロール群にくらべ、発現の低下を認める。リドカイン IOP 群では、より明確に Fos 様タンパク陽性細胞発現の低下が認められる。

② Fos 様タンパク陽性細胞分布

< 図 3 >



- 図 3 で示すとおり、-3.6mm から 1.2mm にかけて、コントロール群では、多数の Fos 様タンパク陽性細胞発現を認めた。
- -1.8mm から -1.2mm の位置では、リドカイン貼付群と生食 IOP 群で有意な Fos 発現の低下が認められた。
- リドカイン IOP 群では -2.4mm から -0.6mm の範囲で有意な Fos 発現の低下が認められた。つまり、リドカイン IOP 群では吻側-尾側方向に、より広範囲での発現の低下を認めた。

以上より、行動学的実験からは、リドカイン IOP 群では他の群より効果が継続したことから、局所麻酔薬と電気刺激双方が利用された場合は、どちらかの単独使用より、効果的に刺激に対する反応の抑制が期待できるものとする。

また、免疫組織学的実験より、生食 IOP 群でも Fos 様タンパク陽性細胞の発現低下を認めたため、AC IOP は、皮膚への薬剤の輸送だけでなく、中枢の三叉神経脊髄路核尾側亜核

に存在する侵害受容ニューロンの活動に影響を与え、効果を発揮する可能性があると言える。

今回の結果は、薬剤の輸送による効果に重点を置いていた AC IOP の有用性に、電気刺激による効果の可能性を見出した点に独創性かつ重要性がある。今後、局所麻酔薬にアレルギーを持つ慢性疼痛患者でも、AC IOP による疼痛緩和を行うことができる可能性があるからだ。

また、局所麻酔薬と電気刺激を同時に使用すると、それぞれの単独使用より、長い効果時間を発現した。全身的に問題のない患者であれば、局所麻酔薬と電気刺激双方使用することで、より効率的に AC IOP の効果を期待できるだろう。

今回は、単回使用による効果の評価のみを行った。臨床上は、反復して AC IOP を行った場合に、効果時間の延長を認めることから、今後、反復して適用した場合の実験も必要になると考える。

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)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 山崎陽子, 芝地貴夫, 高橋知子, 安藤祐子, 海野雅浩, 嶋田昌彦, 眼窩下神経 CCI モデルラットに対する AC イオントフォレーシスの効果, 第 36 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2008 年 10 月 9 日, 大阪
- ② 山崎陽子, 芝地貴夫, 川島正人, 坂元麻弥, 高橋知子, 安藤祐子, 海野雅浩, 嶋田昌彦, 眼窩下神経 CCI モデルラットの機械的侵害刺激に対する AC イオントフォレーシス効果, 第 37 回日本慢性疼痛学会, 2008 年 2 月 22 日, 宇都宮

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 陽子 (YAMAZAKI YOKO)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号: 90366609

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者 ()

研究者番号: