

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：24405

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17791

研究課題名（和文）脊髄後角におけるパルス高周波法の鎮痛機序

研究課題名（英文）Analgesic mechanism of pulsed radiofrequency in the spinal dorsal horn

研究代表者

山崎 広之（Yamasaki, Hiroyuki）

大阪公立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：70759000

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,400,000円

研究成果の概要（和文）：パルス高周波法は難治性の慢性痛に対する低侵襲かつ比較的安全な痛み治療の手段の一つとして、近年臨床的に有用な報告が相次いでおり、適応疾患も拡大している。複雑なメカニズムで効果を発揮していると考えられるが、そのメカニズムは十分に解明されていない。今回、マウス坐骨神経結紮モデルの作成を行い、行動実験で測定の触刺激により逃避行動をとること、セボフルラン麻酔下での坐骨神経への直接のパルス高周波法施行により、逃避行動の閾値が上昇することを確認した。更に、DNAメチル化レベル比較解析、クラスタリング解析およびヒートマップ作製を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パルス高周波法の長期効果のメカニズムははまだ解明されていないが、この鎮痛法が疼痛関連領域のエピジェネティックな変化を引き起こすことが証明されれば、それが長期効果につながる可能性が高いと考えられる。この解析は、パルス高周波法の長期鎮痛効果に関連する可能性のある領域と関連がある可能性のあるDNAメチル化の候補領域の検討に寄与すると思われる。

研究成果の概要（英文）：Pulsed radiofrequency therapy is a less invasive and relatively safe means of pain treatment for intractable chronic pain, and in recent years, there have been a number of clinically useful reports, and the range of diseases for which it is applicable is expanding. It is thought that the effect is achieved through a complex mechanism, but the mechanism has not been fully elucidated. In this study, we created a mouse sciatic nerve ligation model and confirmed that the mouse exhibited escape behavior in response to tactile stimulation in behavioral experiments, and that the threshold for escape behavior increased when pulsed radiofrequency was applied directly to the sciatic nerve under sevoflurane anesthesia. Furthermore, we performed comparative analysis of DNA methylation levels, clustering analysis, and heat map creation.

研究分野：疼痛学

キーワード：パルス高周波法 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性痛は急性疾患の通常経過あるいは創傷の治癒に要する妥当な時間を超えて持続する痛みと定義され、患者の QOL を損ない、未だに治療に難渋することが多い。薬物療法のみで有意な疼痛緩和が得られない患者、副作用のため投薬を中止せざるを得ない患者も未だに多く、近年は米国でのオピオイドクライシスのように過度な投薬が社会問題にまで発展している状況も見受けられる。

パルス高周波法は、感覚神経に高周波電流を断続的に通電することで、電場による痛覚神経伝達の変化を引き起こすことで除痛を図る手法である。熱エネルギーを発生させないため、従来の高周波熱凝固法のように痛覚神経の変性により新たな神経障害痛を生じさせてしまうリスクが低く、1 回の治療で長期にわたる鎮痛効果が期待できる。過去の基礎研究では、神経細胞微細構造変化¹⁾、チャンネル抑制、炎症性サイトカイン抑制、下行性疼痛抑制系活性化、シナプス長期増強効果²⁾、ミクログリア³⁾への影響が報告されており、複雑なメカニズムで効果を発揮していると考えられるが、適応患者の選定、より強い効果を得る方法の検討のために、基礎的なメカニズムのさらなる詳細な追及が必要ではないかと考えている。

2. 研究の目的

日常診療においてパルス高周波法を難治性慢性疼痛患者に行い内服鎮痛薬で疼痛コントロールがうまくできなかった患者にパルス高周波法が著効する症例を数多く経験してきた中で、一般的な鎮痛薬の薬理作用以上の鎮痛機序が働いているのではないかと考えるようになった。パルス高周波法のメカニズムに関する基礎研究は現在までに国内外の多数の機関で行われているが、様々な作用機序が報告されており、脊髄後角においてもどの機序が主に鎮痛効果に関わっているかは未だ統一した見解が無い。パルス高周波法によるエピソード変化を検討した報告は単一の受容体をターゲットにした報告以外無く、長期効果を裏付けるメカニズムの更なる解明のためには研究を進める必要があると思われた。

3. 研究の方法

1) マウス坐骨神経結紮モデルの測定部疼痛閾値にパルス高周波法が及ぼす影響の検討

ラットを用いた実験をすることを当初予定していたが、詳細なエピゲノム解析のため実験動物の再検討を行い、マウス坐骨神経結紮モデルを使用した実験に変更した。マウス坐骨神経結紮モデルの作成を行い、行動実験で測定の触刺激により逃避行動をとること、セボフルラン麻酔下での坐骨神経への直接のパルス高周波施行により、逃避行動の閾値が上昇するかどうかを確認した。

2) マウス前頭前皮質における DNA メチル化にパルス高周波が及ぼす影響の検討

難治性慢性疼痛に影響すると考えられている前頭前皮質における DNA メチル化解析を網羅的に行うため、イルミナ社の Infinium Mouse Methylation Bead Chip Kit を用いて、DNA メチル化解析を行った。8 週齢の C57BL/6J JCL 系統のメチル化レベル比較解析、クラスタリング解析およびヒートマップ作製を行った。

4. 研究成果

1) マウス坐骨神経結紮モデルの測定部疼痛閾値にパルス高周波法が及ぼす影響の検討

5 週齢のマウスの坐骨神経結紮モデルをセボフルラン麻酔下に 8 個体作成し、7 日後に足底部の触刺激テストを行い、患側の有意な疼痛閾値低下を全個体に認めたことを確認した。続いてセボフルラン麻酔下に前回手術部位を再切開し、坐骨神経の結紮部位より中枢側においてパルス高周波法 42 360 秒を 4 個体に対して行った(Pulse 群)。一方で他の 4 個体に対しては坐骨神経結紮部位まで切開を加えるのみの sham 手術を行った(Sham 群)。

手術 7 日後に足底部の触刺激テストを行い、Pulse 群において Sham 群よりも患側で有意に

疼痛閾値上昇を認めた。行動実験によってパルス高周波法の鎮痛効果を確認できたが、実験動物の計画変更により、当初予定していたインビボパッチクランプ法は、技術的な問題により施行できなかった。

2) マウス前頭前皮質における DNA メチル化にパルス高周波が及ぼす影響の検討

続いてセボフルラン麻酔下にマウスの頸髄離断を行い、前頭前皮質を摘出して検体のバイサルファイト処理を実施し、全ゲノム増幅、増幅したゲノムの断片化、ハイブリダイゼーション、標識反応の工程を経て、DNA メチル化解析データの作成、データの集計および検証、クラスタリング解析およびヒートマップ作製(図 1)を行った。パルス高周波法施行群と Sham 手術群で検体間比較を行い、手術施行 7 日後から、DNA メチル化レベルに差がある領域のリスト作成を行うことができた。長期効果のメカニズムを解明するためには、今後もメチル化レベルの経時的な変化に関する解析や関連領域の絞り込みを検討していく必要がある。

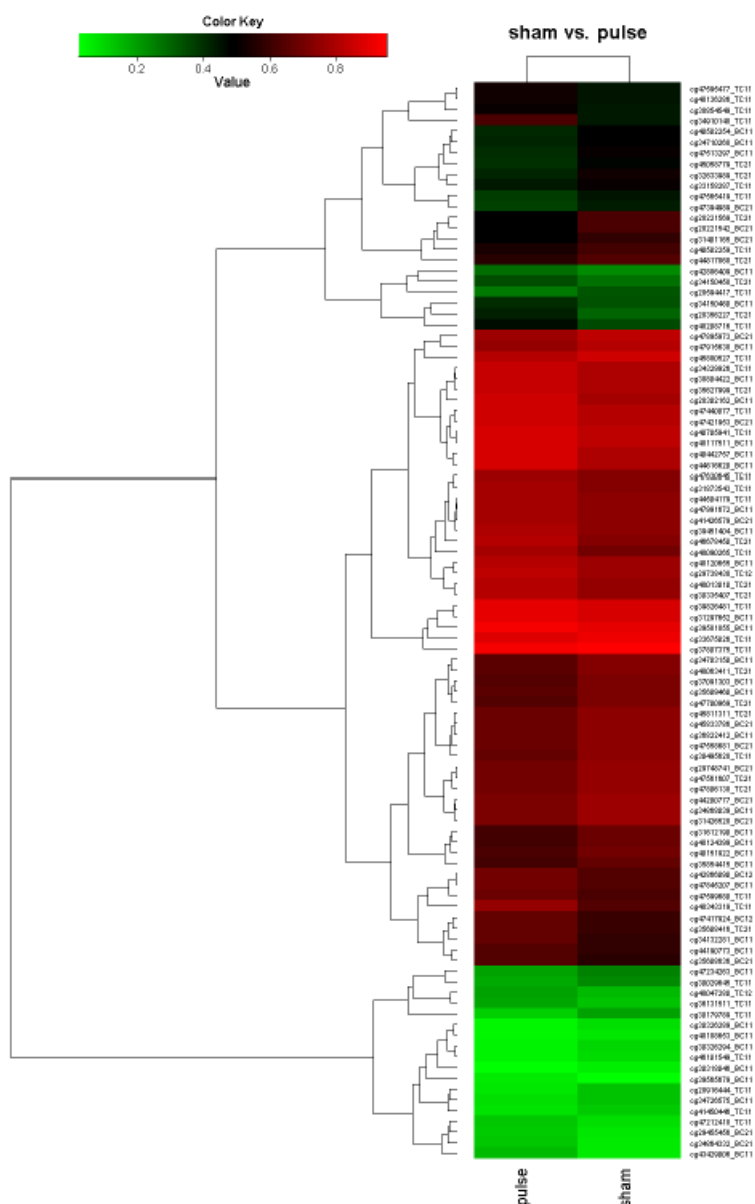


図 1. 検体間比較解析で、DiffScore 上位 50+下位 50 マーカによるヒートマップ (グループのメチル化レベルを表示)

参考文献

- 1) Arakawa K et al. Journal of Pain Research 2018;11:2645-2651
- 2) Huang R et al. Pain Physician 2017;20:E269-E283
- 3) Xu X et al. Pain Research and Management 2019;5948686

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------