

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 1日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659315

研究課題名（和文） 最新3D-CT画像と重粒子線を用いた高精度神経ブロック法の開発

研究課題名（英文） Potential application of 3-D computed topography and ion beam for a super-accurate nerve block.

研究代表者

齋藤 繁 (SAITO SHIGERU)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：40251110

研究成果の概要（和文）：最新3D-CT イメージを用いた高精度の神経ブロック法開発に加え、エネルギーの大きい重粒子線での神経ブロックの副作用可能性について検討した。特に3D-CT ガイド下神経ブロックの血管系合併症の可能性について詳細に検討し解剖学的リスクを明らかにした。神経細胞の活動に対する神経ブロック・麻酔薬の影響について、主に抑制性神経伝達物質の経路に着目して電気生理学的検討も進めた。GABA や Glycine などの伝達系に異常を持つ遺伝子改変動物をモデルとして、その分子生物学的異常と生理学的異常、行動学的異常の関係を解明しつつある。また、疼痛の下行性抑制系にも着目し、グリア細胞の挙動と疼痛回避行動の関係についても解析を行った。局所麻酔薬の徐放薬を作成し、高精度神経ブロックへの応用について臨床研究を開始した。

研究成果の概要（英文）：Potential use of 3-D computed topography and ion beam was assessed for a super accurate nerve block. Also, effects of nerve blocks and anesthetics on nerve activities were examined focusing on inhibitory neurotransmitters, such as GABA and glycine. Electrophysiological studies and behavioral experiments were adopted on gene manipulation rats. Descending inhibitory pathway and spinal cord glia were considered to play a crucial role in the chronic pain model.

Slowly releasing drug delivery system, a poly-lactic acid and lidocaine conjugate was invented in this study, and the application for nerve blocks was assessed in rat model. Adverse effects on nerve fibers was examined histologically and behaviorally. Clinical study was also conducted in computer topography guided lumbar sympathectomy. The topographic relationship between major vessels and the sympathectomy target was not identical across patients. We analyzed the shortest distances between the sympathectomy target and the major vessels, and the relationship between the location of the major vessels and the vertebral anterior line using CT images obtained during the procedure. At the L3 level, the shortest distances from the right side target to the inferior vena cava were significantly shorter than the other distances ($P < 0.05$). In 11 of 36 patients (30.6%), the IVC was located dorsal to the vertebral anterior line at the L3 level. Needle insertion for right side sympathectomy at the L3 level may present a higher risk of major vessel puncture than sympathectomy at other sites. CT guidance is recommended for lumbar sympathectomy to reduce the risk of vascular puncture.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・疼痛学

キーワード：虚血・神経再生・栄養因子・心機能

1. 研究開始当初の背景

激しい痛みの治療には局所麻酔薬が必須であるが、局所麻酔薬は神経毒性を持ちその副作用が問題となっていることから、その作用特性と神経毒性について細胞生物学的に解明するプロジェクトが進行している。局所麻酔薬の作用特性を利用した高濃度局所麻酔薬による神経ブロック法を開発し、従来の神経破壊薬を用いたブロックにみられる副作用を避け、長期に有効な鎮痛法を各種難治性疼痛の治療に応用することが求められている。

がん性疼痛をはじめとする各種難治性疼痛の治療は二十一世紀医療の最重要課題である。モルヒネの使用が普及した現在でも、がん性疼痛の緩和が7割前後に止まるのは、がんの進行に伴って高率に発生する神経障害性疼痛にオピオイドが効きにくいことが強く関わっており、その治療法の確立が急務となっている。一方、肺がんが急増しているが、その術後痛は激しく、さらには手術創が治癒したあとも慢性の痛みが続きやすい。これまでに開胸術による肺がん摘出術後に発生する慢性痛の予防には硬膜外鎮痛法を用いた先制鎮痛法が有効であることを報告し、世界的にも数少ない信頼性の高い臨床成績として高く評価されている。並行して、開胸術後痛の動物モデル作成に成功し、その基礎研究を推進している。今回はこのモデルを改良して、新規神経ブロックの開発プロジェクトに応用する。脊髄レベルの痛覚伝導系をターゲットにした研究では、痛み刺激の上行を抑制するセロトニン受容体と下降性抑制系に焦点をあて、抑制系を介する研究により難治性疼痛の新たな治療法を開発してきた。今回は、粒子線による脊髄疼痛知覚伝導路の破壊が粒子線で正確に可能か、効率と副作用の発生リスクも検討することを目的とした。

粒子線を神経ブロックに応用する研究は施設の都合もあり、世界ではまだ未実施である。世界でもまだ数台しか設置されていない小型重粒子線治療装置をがんの疼痛治療に応用する試みは世界初である。本手法の開発により、局在したがんの痛みに対して、高用量の鎮痛薬を用いることなく鎮痛を図ることは、患者のADLを上昇させ、医療コスト削減に大きく貢献することが期待される。

2. 研究の目的

粒子線治療に神経線維が暴露された場合、知覚異常や疼痛が発生することは知られているが、その神経線維破壊作用を逆転の発想で疼痛治療に応用しようという試みはない。大きなエネルギーをピンポイントに集中させることにより副作用の少ない、神経ブロック技法を開発することが可能かもしれない。本研究の目的は、重粒子線治療装置や最新鋭画像診断装置を有する本施設の特徴を生かし、疼痛治療技術を新規に開発することである。

原子の構成要素である電子や原子核の流れを粒子線という。そのうち、電子の流れを特に電子線といい、X線とともに一般の放射線治療で使われている。原子核の流れを重粒子線という。重粒子線はX線と違い、物質を通過する重粒子の数はある厚さまで変化しないで、到達距離の終端付近で急激に減少し、ある厚さ以上には達しない。重粒子線の原子核1個を人体に打ち込むと、電離作用などによって少しずつエネルギーが失われるが、その損失は小さく、停止する寸前になると急にエネルギー損失が増加して停止する。この点をブラッグピークという。また、重粒子線は電子と比べてはるかに重いので物質の原子にある電子との衝突で方向が曲がらず直進する。このため、方向が正確に定まる。重粒子を用いた癌治療の臨床試験では、眼球、脊髄や視神経などの近くにある腫瘍にもそれらに放射線を照射することなく治療が可能であることが実証されており、逆に、脊髄や末梢神経などにエネルギーを集中させることで、神経ブロックへの応用が可能である。

3. 研究の方法

神経細胞突起の細胞骨格と情報伝達機構に関する細胞生物学的研究

細胞の成長過程、細胞突起間認識をリアルタイムで顕微鏡下に観察する研究

○自動焦点補正タイムラップスビデオシステムを用いて神経線維ならびに成長円錐部の形態変化を解明した。

A. 胎生 8 日目 chick DRG を採取→BPE 添加 F12 培地で 20 時間培養→アクチン線維のローダミンラベル→局所麻酔薬、放射線エネルギー暴露→アクチン線維の動態の継続的観察→濃度依存性、暴露時間依存性等の解析

B. 胎生 1 0 日目 chick sympathetic chain と DRG を採取→BPE 添加 F12 培地で 20 時間共培養→成長円錐部の反発現象観察→抗 SemaIII (collapsin) 抗体による中和効果の確認→局所麻酔薬、放射線エネルギー暴露→反発頻度、交差頻度、成長円錐崩壊頻度の計測→濃度依存性、暴露時間依存性等の解析

副作用予防のための栄養因子実験
神経傷害後の回復に及ぼす各種栄養因子の影響を、放射線エネルギー暴露による神経傷害をモデルとして検討

(1) 培養細胞を細胞死 (アポトーシスを含む) を誘発する濃度の放射線エネルギーに暴露し、暴露後の回復過程で栄養因子もしくは発現阻害物質を存在させた場合に培養細胞の回復率が高まるか、分化が進むか観察した。

A. 培養細胞を血清加 MEM 培地で 4 日間培養→粒子線照射→固定→0.5% trypanblue または 1 μ M Hoechst 33258 染色→死細胞、アポトーシス細胞の測定、anti-PARP 抗体による caspase-3 活性測定

B. 培養細胞を 4 日間培養→粒子線照射→培養液交換→BDNF, NT-3, GDNF (5-20 ng/ml) または FGF-2, VEGF (1-10 ng/ml) 添加培地で 24-48 時間回復→固定→0.5% trypanblue または 1 μ M Hoechst 33258 染色→死細胞、アポトーシス細胞の測定、anti-PARP 抗体による caspase-3 活性測定

C. 胎生 8 日目 chick DRG を採取→BPE 添加 F12 培地で 20 時間培養→粒子線照射→growth cone collapse assay→テトラカイン washout →BDNF, NT-3, GDNF (5-20 ng/ml) または FGF-2, VEGF (1-10 ng/ml) 添加培地で 24-48 時間回復→growth cone collapse assay

in vivo 動物実験
疼痛回避行動を指標とした行動学的研究

疼痛回避行動を指標とした神経機能異常の評価

(1) 骨髄がん細胞移植によるがん疼痛モデルおよび慢性疼痛モデルラットにおいて神経ブロックが行動異常を予防または回復させるか検討

A. 骨髄がん細胞移植によるがん疼痛モデル・Chung モデル・肋間神経結紮モデル→閉創時に粒子線照射→経時的な慢性痛の評価 (ホットプレートテスト、フォンフレイフィラメントテスト等)

B. (A) において変化が認められた動物→灌流固定→DRG、脊髄後角スライスの作成→免疫組織学的解析 (c-FOS、PKC、ERK 等)

(2) 粒子線照射したがん疼痛の治療に関する臨床試験の予備試験
緩和医療対象のがん疼痛患者を想定し、重粒子線治療装置でのイメージ画像作製をシミュレーション

3D-CT イメージ下の神経ブロックでの機器の使用法を評価改良

動物モデルでの経時的な visual analogue scale、activity、副作用評価を別の臨床的疼痛モデルで実施

4. 研究成果

最新 3D-CT イメージを用いた高精度の神経ブロック法開発に加え、エネルギーの大きい重粒子線での神経ブロックの副作用可能性について検討した。特に 3D-CT ガイド下神経ブロックの血管系合併症の可能性について詳細に検討し解剖学的リスクを明らかにした。神経細胞の活動に対する神経ブロック・麻酔薬の影響について、主に抑制性神経伝達物質の経路に着目して電気生理学的検討を進めた。GABA や Glycine などの伝達系に異常を持つ遺伝子改変動物をモデルとして、その分子生物学的異常と生理学的異常、行動学的異常の関係を解明しつつある。また、疼痛の下行性抑制系にも着目し、グリア細胞の挙動と疼痛回避行動の関係についても解析を行った。局所麻酔薬の徐放薬を作成し、高精度神経ブロックへの応用について臨床研究を開始した。

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 5 件)

①Kimura M, Saito S, Obata H.
Dexmedetomidine decreases hyperalgesia in neuropathic pain by increasing acetylcholine in the spinal cord.
Neurosci Lett. 査読あり; 2012 Oct 31;529(1):70-4. (IF: 2.105)

②Kimura M, Obata H, Saito S.
Antihypersensitivity effects of tramadol

hydrochloride in a rat model of postoperative pain. 査読あり; Anesth Analg. 2012 Aug;115(2):443-9. (IF: 3.286)

③Nakajima K, Obata H, Iriuchijima N, Saito S.

An increase in spinal cord noradrenaline is a major contributor to the antihyperalgesic effect of antidepressants after peripheral nerve injury in the rat. Pain. 査読あり; 2012 May;153(5):990-7. (IF: 5.777)

④山田真紀子 Koizuka S, Saito S, Masuoka S, Nakajima K, Koyama Y.

Location of major vessels in prone-positioned patients undergoing percutaneous lumbar sympathectomy. Neuroradiology. 査読あり; 2012 Oct;54(10):1127-31. (IF: 2.824)

⑤Yamada MH, Nishikawa K, Kubo K, Yanagawa Y, Saito S.

Impaired glycinergic synaptic transmission and enhanced inflammatory pain in mice with reduced expression of vesicular GABA transporter (VGAT). Mol Pharmacol. 査読あり; 2012 Apr;81(4):610-9. (IF: 4.883)

[学会発表] (計 0件)

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 繁 (SAITO SHIGERU)
群馬大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 40251110

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし