

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791587

研究課題名(和文) 骨髄は痛みを感じるか

研究課題名(英文) Characteristics of spinal dorsal horn neurons responding to mechanical stimulation of bone marrow

研究代表者

石田 高志 (ISHIDA, Takashi)

信州大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：60531952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：骨髄内を刺激することで興奮する脊髄ニューロンの活動電位を記録することに成功した。これらのニューロンは主に痛み刺激に反応するニューロンであり、骨髄内の神経が痛み刺激を伝達している可能性が示唆された。また、骨髄内の刺激に反応するニューロンは皮膚からの刺激にも反応があり、骨の中の刺激を皮膚の痛みとして感じる可能性があることが分かった。これらの結果から骨のがん、整形外科手術後などの骨の中だけの病変でも痛みを感じる原因となりうることが分かった。

研究成果の概要(英文)：We recorded 43 SDH neurons sensitive to balloon inflation in the medullary cavity. Most of the SDH neurons had somatic receptive field at the lower back and the lateral part of thigh. Thirty-two of the SDH neurons were WDR neurons and 11 of the SDH neurons were HT neurons. There were no LT neurons in the 43 SDH neurons tested. Spinally administered morphine (1 microg) did not suppress the responses of the SDH neurons to brush and 4-g von Frey filament but those to pinch and balloon inflation in the medullary cavity. The results suggest that nerve fibers in the medullary cavity sense noxious stimulation and send the signals to SDH. Bone marrow afferent input converges onto the SDH neurons responding to somatic mechanical stimuli. The results supported the concept that activation of bone marrow afferent might lead to the production of referred pain in somatic fields.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学，麻酔・蘇生学

キーワード：痛み 骨 オピオイド 脊髄

### 1. 研究開始当初の背景

体性痛のメカニズムの研究は進歩しているが、筋骨格系、中でも骨痛の研究は端緒にいたばかりである。これまで、骨膜は機械刺激で痛みを受容すると考えられてきたが (Cichocki et al., *Folia Histochem Cytobiol*, 2004; Freeman et al., *Anesthesiology*, 2008), 骨髄が痛みを受容するかどうかについての詳細な研究は行われていない。

申請者(石田)の教室での骨髄に局限した骨がんマウスの研究や (Kawamata et al., *Anesthesiology*, 2009), 臨床の関節炎の研究から (Kofoed, *J Rheumatol*, 1986), 骨髄が骨転移や関節炎における骨痛の発生部位の可能性のある。こうした痛みの機序としては、腫瘍細胞・炎症細胞・免疫細胞・破骨細胞からの生理活性物質の放出による痛みの発生機序が検討されてきた (Jimenez-Andrade, *Ann N Y Acad Sci*, 2010)。

一方、腫瘍や炎症がなくとも C 線維に発現するカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 陽性神経が骨髄には分布しており (Mach et al., *Neurosci*, 2002), 正常状態でも骨髄が痛みを受容していると推察される。実際、骨髄吸引は痛みを伴い (Vanhellenputte et al., *J Pain Symptom Manage*, 2003), 逆に関節炎では骨髄圧の上昇で痛みが出現し、骨髄除圧で痛みが軽減する (Arnoldi et al., *J Bone Joint Surg Br*, 1975; Astrom, *Acta Orthop Scand*, 1975)。すなわち骨髄には圧受容器を介した痛みが発生している可能性がある。さらに骨がんや関節炎の痛みは、腫瘍や炎症細胞からの活性物質により圧受容体の感受性が亢進した病態がその本態との仮説が考えられる。

他方、骨髄に局限した骨がんモデルではオピオイドが無効であり、骨転移によるがん性疼痛患者や難治性の関節痛患者にも有効な薬物療法が乏しい。したがって、骨髄が痛みを圧受容により痛みを感じるとしても、そのメカニズムは機械的刺激による体性痛とは大きく異なり、通常の鎮痛薬・鎮痛法が無効の可能性が高い。

このため、骨痛に対する有効な治療法を開発するためには、何よりその痛みの発生メカニズムの解明が求められる。そこで本研究では、骨髄の圧刺激による痛みの発生に関与する受容体や修飾因子を解明し、難治性の骨がんや関節炎の痛みに新たな治療戦略の構築を目指す。

### 2. 研究の目的

本研究では骨髄が痛みを受容し、骨折、骨接合・置換手術、悪性腫瘍の骨転移などにおける痛みの発生への関与を、ラットにおける (1) 行動生理学、(2) 脊髄後角ニューロン

における in vivo 電気生理学、(3) 分子生物学的手法 (免疫染色、タンパク定量) を用いて検証するのが目的である。本研究により、骨髄が受容する骨痛のメカニズムを解明し、筋骨格系の痛みに対する鎮痛法の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

#### 骨髄内刺激モデルラットの作成

セボフルラン麻酔下にラット膝関節を切断し、大腿骨顆間窩より 1 mm の穴をあけバルーンを挿入する。ラット皮下にカテーテルを埋め込み、頸部で露出し固定する。3 日間飼育後、骨髄内刺激モデルとして使用する。

#### 行動生理学：骨髄内刺激モデルによる行動生理学的検討

骨髄内刺激モデルラットを用いて、骨髄内圧上昇による疼痛関連自発行動 (足なめ行動、足振り行動、自傷行動) の評価を行う。また、予備実験によって得られた骨髄内刺激にตอบสนองするニューロンの持つ皮膚受容野での機械性痛覚過敏 (von Frey filament による逃避反応閾値の測定) について評価を行う。

#### 電気生理学：骨髄内刺激による脊髄後角 層 II ニューロンの応答及び特性の評価

骨髄内刺激モデルラットをウレタン麻酔下に T11~L1 レベルで椎弓切除を行い、胸腰部脊髄を固定する。タングステン電極を脊髄後角に刺入させ 500  $\mu\text{m}$ ~1,000  $\mu\text{m}$  の深さで、単一ニューロン活動を導出する。皮膚に非侵害・侵害性機械刺激を加えニューロン応答、皮膚受容野の記録を行う。von frey filament を用いて皮膚受容野の閾値を調べる。埋め込まれたバルーンを用いて大腿骨内に刺激を与え、ニューロン応答及びニューロンが応答するバルーン内圧閾値を記録する。

記録されたニューロンを Wide-dynamic-range (WDR), Low-threshold (LT), High-threshold (HT) に区別し、骨髄痛にいずれのニューロンが関与しているかを検討する。

#### 行動薬理学：薬剤投与による骨髄内刺激疼痛の評価

モデルラットに Cisterna magna から尾側に向けて PE-10 カテーテルを留置する。バルーン拡張による骨髄内刺激を行い、ラットの疼痛関連行動、自発行動、逃避反応閾値を記録する。PE-10 カテーテルに持続的薬物注入ポンプ (Alzet osmotic pump, DURECT Co., America) を接続して皮下に埋め込みオピオイドなどを脊髄くも膜下に持続投与し、その後の自発活動性、逃避反応閾値を記録する。

#### 4. 研究成果 電気生理学的評価

細胞外記録法により骨髄内刺激に反応する43の脊髄後角ニューロンの活動電位を記録した (Fig. 1) .

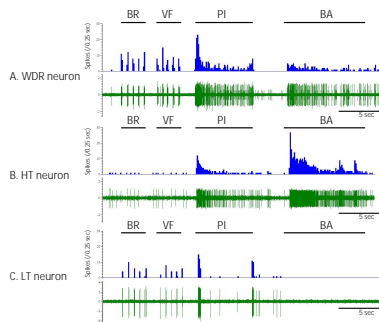


Fig. 1 骨髄刺激に反応するニューロンの活動電位

骨髄内の刺激に反応するニューロンは WDR ニューロン, HT ニューロンに分類され, 腰部から大腿部にかけ皮膚受容野があった (Fig.2) .

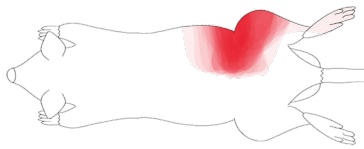


Fig. 2 骨髄刺激に反応するニューロンの皮膚受容野

骨髄刺激に反応するニューロンの中には皮膚受容野を持つものが存在し, これらのニューロンは皮膚侵害刺激により反応するニューロンであることが分かった .

骨髄内刺激に反応する5つの WDR ニューロンに対し, 活動電位を記録した後, モルヒネの脊髄投与による刺激応答の変化を記録した (Fig. 3) .

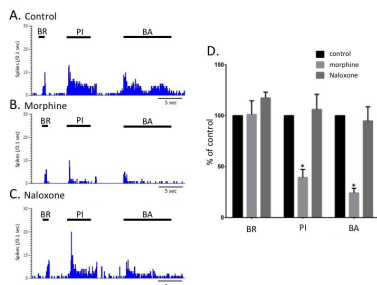


Fig. 3 モルヒネ脊髄投与による反応の変化

モルヒネ脊髄投与により, 骨髄刺激に対する脊髄ニューロンの活動電位の抑制が認められた. この結果により, 骨髄内の神経が侵害刺激を脊髄後角に伝達していることが確認された .

#### 行動薬理学的評価

5匹のラットのモルヒネくも膜下投与による骨髄内刺激の応答を記録した (Fig. 4) .

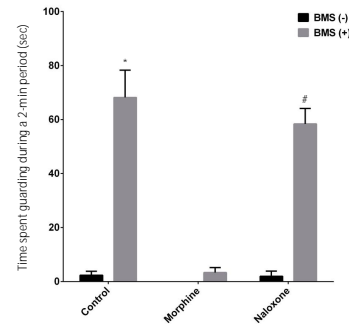


Fig. 4 骨髄内刺激に対する疼痛関連行動

骨髄内刺激により疼痛関連行動が惹起され, モルヒネ投与後は骨髄内刺激に対して疼痛関連行動が抑制された .

また, 同ラットに対し骨髄内刺激およびモルヒネ投与による皮膚受容野の逃避閾値の変化を記録した (Fig. 5) .

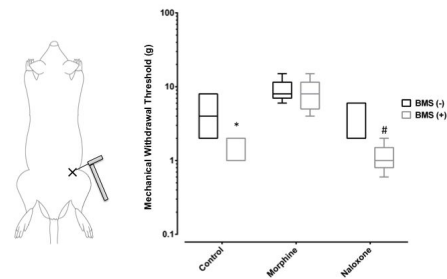


Fig.5 皮膚に対する機械刺激による逃避閾値の変化

骨髄内刺激により皮膚受容野で痛覚過敏がおき, モルヒネ投与により痛覚過敏が抑制された .

以上の結果より, 骨髄内刺激により痛みが惹起され, 関連皮膚受容野に痛覚過敏を引き起こすことが明らかとなった .

#### 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1件)

Hyuga S, Sekiguchi T, Ishida T, Yamamoto K, Sugiyama Y, Kawamata M: Successful tracheal intubation with the McGrath® MAC video laryngoscope after failure with the Pentax-AWS™ in a patient with cervical spine immobilization. Can J Anaesth 2012; 59-12: 1154-1155.2012 査読有

〔学会発表〕(計4件)

Ishida T, Sakata M, Hamada Y, Matsuo A, Kawamata M: The effect of the TRPV1 antagonist JTS-653 in a rat model of postoperative pain. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, San Francisco, USA, 2013.10.12-16

Takahashi C, Ishida T, Kawamata M: McGrath® MAC facilitates transesophageal echocardiography probe insertion. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, San Francisco, USA, 2013.10.12-16

Watanabe N, Ishida T, Kawamata M: Activation of transient receptor potential M8 by cooling and application of menthol can reduce propofol injection-induced pain. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, San Francisco, USA, 2013.10.12-16

Ishida T, Tanaka S, Kawamata T, Kawamata M: Characteristics of spinal dorsal horn neurons responding to mechanical stimulation of bone marrow. Annual Meeting of American Society of Anesthesiologists, Washington DC, USA, 2012.10.13-17

〔図書〕(計3件)

石田高志, 川真田樹人: 手術後痛とTRPV1. 痛みの Science&Practice 第1巻. 手術後痛のすべて. 川真田樹人編. 東京, 文光堂, 2013, pp. 30-31

石田高志, 川真田樹人: 術後痛と循環生理. 麻酔科医のための循環管理の実際(新戦略に基づく麻酔・周術期学). 森田潔他編. 東京, 中山書店, 2013, pp. 290-293.

石田高志, 川真田樹人: 神経麻酔 Q&A エビデンスに基づく最新の知識とテクニック. 内野浩之編. 東京, 総合医学社, 2013, pp. 173-177.

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

石田 高志 (ISHIDA, Takashi)  
信州大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号: 60531952

(2)研究分担者

( )

研究者番号:

(3)連携研究者

( )

研究者番号: