

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350640

研究課題名(和文) 運動器慢性痛の発症予防プログラム開発のための基盤構築

研究課題名(英文) The fundamental structure for the development of the prevention program of the chronic pain of locomotor organs

研究代表者

大道 美香 (Mika, Ohmichi)

愛知医科大学・医学部・助教

研究者番号：30581079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：運動習慣が慢性痛に及ぼす効果を検証するため、ギプス固定後慢性痛モデル(CPCP)の処置前に運動を負荷(前運動)し、痛み行動への影響の評価を進めている。CPCP処置前の不安や恐怖といった負の精神状態や運動環境への人的介入頻度が自発運動性に大きく影響を及ぼすと示唆されたことから、CPCP処置前に精神行動評価し、運動環境における人的介入頻度に制限を設け、痛みの行動の評価を行った。人的介入頻度を減弱した環境下で、前運動量に依存した広範囲機械痛覚増強の減弱と腰髄アストロサイト活性化の抑制が認められた。運動習慣の確立は、運動器慢性痛の発症予防につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of the present study is to evaluate whether the exercise habit is effective against the chronic pain. In order to do this, we let the rats exercise freely before treatment of post-cast chronic pain model (CPCP) and then we evaluated the effect of the exercise on pain behavior. Because it was suggested that two factors greatly influence voluntary exercise: the frequency of human intervention in the exercise environment and the negative mental state (anxiety, fear and so on) before CPCP treatment, it is necessary to evaluate mental behavior before the CPCP treatment. For the correct assessment of pain behavior, restrictions were placed on the frequency of interventions. In the environment where human intervention frequency was restricted, the mechanical hyperalgesia and lumbar astrocyte activation were attenuated. The analgesic effects correlated with the amount of exercise. It was suggested that establishment of exercise habits could lead to the prevention of chronic pain.

研究分野：慢性痛

キーワード：運動習慣 予防 慢性痛 不働化 精神行動

## 1. 研究開始当初の背景

近年の精力的な研究により慢性痛の誘因となる種々の病態変化の解明が進んでいる一方で、今なお決定的な治療方法の確立には至っていない。現状では一旦慢性痛に陥ってしまうと、その多くは、難治性の一途をたどるケースが少なくない。予防的見地からの介入が極めて重要であることは誰も異存ないところであろう。その中でも生活習慣病の予防として日常的運動習慣の重要性が一般的な支持を獲得しており、それは慢性痛に対しても同様に意義深いものであると考える。

そこで我々は運動習慣が慢性痛に及ぼす効果を検証するため、独自に開発したギプス固定後慢性痛 chronic post-cast pain (CPCP) モデルを用いて、慢性痛発症前の予防的運動（前運動）が慢性痛に及ぼす効果について検証を行ってきた。その結果、前運動は、慢性的な機械痛覚増強行動を減弱し、その拡大を抑制できる可能性があることが示唆された。

しかしながら、前運動を負荷したラットの中に、平均的な運動量から大きく逸脱した個体が出現し、これらについては、慢性的な機械痛覚増強行動を抑制することができなかった。運動習慣による慢性痛の予防効果を検証するには、運動量のみならず、慢性痛の発症に影響を及ぼしている可能性がある CPCP モデル処置前の不安や恐怖といった負の精神状態について検証する必要があると推測した。また、実験中の飼育環境（ケージ交換などの人的介入の頻度など）の影響も考慮する必要があると考えた。そこで、CPCP 処置前の精神状態を動物のスクリーニングパラメータの一つとして導入すること、動物飼育における人的介入頻度をコントロールすること、以上、2つの対策を設けることが純粋な自発運動による慢性痛の予防効果を検証するために有意義であると考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、純粋な自発運動量による慢性痛予防効果を検証するため、次の3つの検証をおこなった。運動前の精神行動と運動量の関係および慢性痛予防効果の関係について検証した。動物飼育における人的介入頻度と慢性痛予防効果の関係を検証した。さらに運動による慢性痛抑制効果について、腰椎アストロサイトの活性化を指標に検証した。

## 3. 研究の方法

### (1) CPCP モデル動物の作成

SD系雄ラット(300-400g)を用い、骨盤から体幹まで片側後肢ギプス固定を2週間固定した後、ギプス除去することで作製した(Eur J Pain,16338-348, 2012)。

### (2) 機械痛覚増強行動

下腿部筋圧痛閾値(push-pull gauge), 足底部, 尾部の皮膚の機械痛覚増強行動(von Frey filaments)を経時的に計測した。

### (3) 自発運動量の測定

ランニングホイール(Activity Wheel with Plastic Home Cage for Rat ENV-FHC046 Med associates 会社)を用いた。運動期間は、2週間(20:00~8:00)とし、その期間内の運動距離を自発運動量として測定した。

### (4) 不安・恐怖関連行動の評価

不安・恐怖関連行動の評価として高床式十字迷路試験を行った。行動評価の時間を10分とし、ビデオ撮影後、ビデオ上方行動解析システム(Top Scan Suite: プライムテック社)を用い解析した。

### (5) 免疫組織学的解析

動物を4%イソフルランで深麻酔し、4の0.1M PBS (pH 7.4)を心臓より灌流した。脱血が完了したことを確認した後、ice cold の Zamboni's fixative [0.1 M phosphate buffer saline (PBS) containing 2% paraformaldehyde and 0.2% picric acid]で固定した。脊髄、後肢を採取し、4のZamboni's fixative に24時間浸漬し、後固定した。その後、10, 20, 30% Sucrose に4でそれぞれ一日の計3日間浸漬した後、OCTコンパウンドに凍結包埋し、凍結切片を作成した。ギプス除去後5週目において、第4腰椎アストロサイトの活性化の変化を、GFAP抗体(アストロサイトマーカー)を用いて免疫組織学的検討を行った。ギプス固定2週間目、ギプス除去後2時間目、1日目、3日目、1週目、3週目、5週目において、固定後肢を抗8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)抗体で免疫組織学的検討を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 動物飼育環境における人的介入頻度と自発運動量による慢性痛予防効果の検証

自発運動環境への人的介入頻度(給餌, ケージ移動, 床替えなど)を1週間に2回と7回の2群に設定し、自発運動量の個体間再現性を検証するとともに、2群間で慢性期の機械痛覚増強行動の抑制効果を検証した。その結果、7回介入群は、自発運動量の個体間のバラツキが多く、自発運動量に依存した慢性期の機械痛覚増強行動の抑制効果を示さない例が複数存在した。2回介入群は、7回介入

群と比べ、個体間の自発運動量の再現性が高く、すべての個体で慢性期の機械痛覚増強行動が抑制された。自発運動環境における頻回な人的加入は、ラットの自発運動性にネガティブに作用し、慢性期の機械痛覚増強行動の抑制効果に悪影響を及ぼすことが明らかとなった。

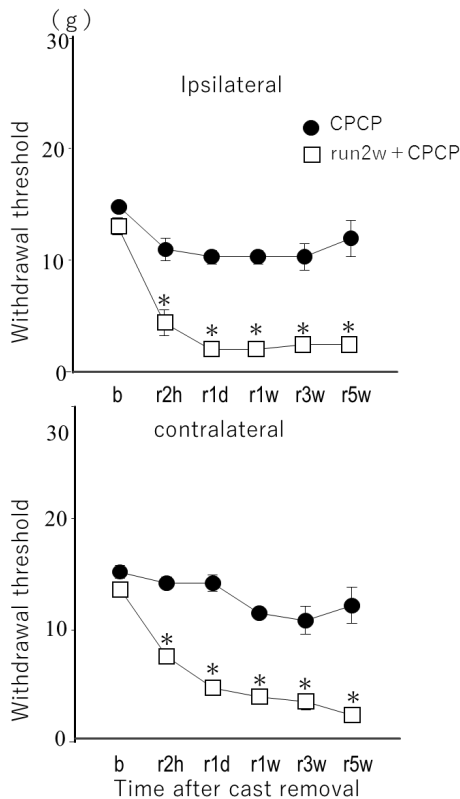


図 1：足底の機械痛覚増強行動の変化

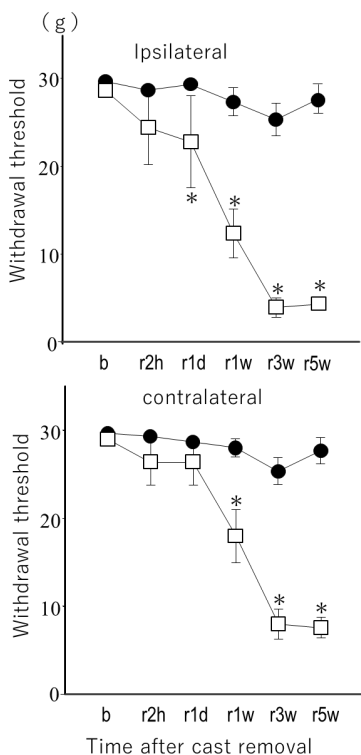


図 2：尾部の機械痛覚増強行動の変化

## (2) 腰髄アストロサイトの活性化による機械痛覚増強行動の抑制効果の検証

前運動を負荷し、慢性期の機械痛覚増強行動の抑制が認められた個体は、腰髄アストロサイトの活性化が有意に減弱していた。

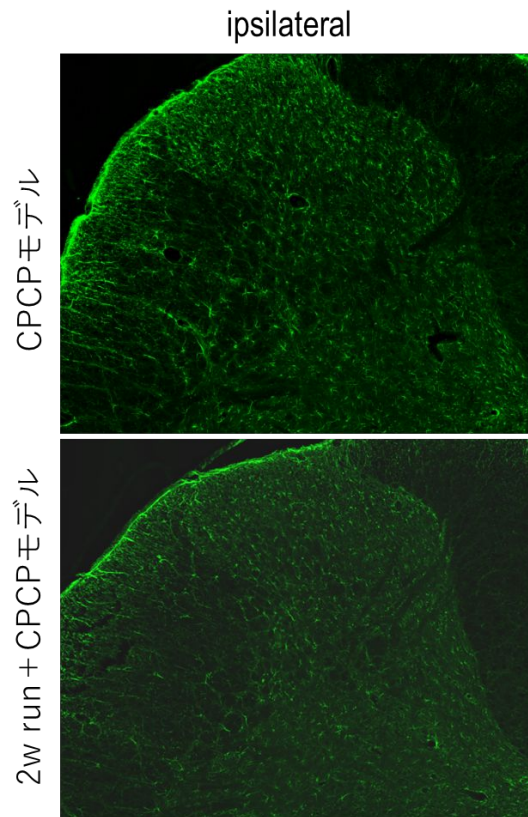


図 3：腰髄後角アストロサイト像

## (3) 運動前の精神行動と自発運動量の関係および慢性痛予防効果の関係について検証

不安・恐怖行動の強度は、自発運動量ならびに機械痛覚増強行動の発現に有意な関係性は認められなかった。無処置の動物の範囲内で認められる負の精神傾向は、ラットの運動性や疼痛行動の発現に影響しない可能性が示唆された。

## (4) CPCP モデルの酸化ストレス評価

未運動群において、ギプス固定除去後 2 時間から 1 日にかけて、固定肢全域（皮下組織、筋膜、骨膜、神経、血管内皮など）で 80HdG の免疫応答が漸増し、ギプス除去後 1 週後も残存していた。身体の不動化は、固定肢に酸化障害を誘発することが示唆された。現在、前運動群について、80HdG の免疫染色および ELISA を用い、酸化障害の抑制効果について検証を進めている。

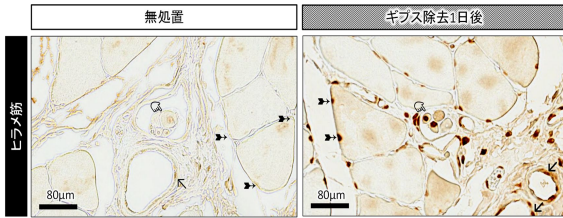


図4：後肢不動後に生じた固定部後肢の酸化ストレス局在  
 ▶▶：骨格筋細胞の核、C：筋紡錘の核、  
 \：血管内皮細胞の核を示す

## 結論

前運動によるフィットネス増大は、慢性痛の予防に繋がる可能性が示唆された。

## 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 件)

〔学会発表〕(計 件)

1. 大道裕介，大道美香，内藤宗和，押淵英弘，山田麻記子，矢倉富子，中野隆．不動化が誘発する自発痛関連行動と広範囲機械痛覚増強における扁桃体ドパミンの動態．第 121 回全国解剖学会総会・学術集会（福島）．2016.3
2. 大道裕介，安井正佐也，大道美香，内藤宗和，中野隆．ラット後肢不動後に生じる広範囲機械痛覚増強の病態解明～酸化ストレスにより生じた神経原性炎症の関与．第 76 回 中部地方会（松本）．2016.10
3. 大道裕介，大道美香，安井正佐也，内藤宗和，中野隆．ラット後肢不動によって生じた酸化ストレスに起因する広範囲機械痛覚増強．第 122 回全国解剖学会総会・学術集会（長崎）．2017.3

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 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

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

大道美香 (OHMICHI Mika)  
 愛知医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：30581079

### (2)研究分担者

大道 裕介 (OHMICHI Yusuke)  
 愛知医科大学・医学部・講師  
 研究者番号：50506673

安井正佐也 (YASUI Masaya)  
 愛知医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：10723695

内藤宗和 (MUNEKAZU Naito)  
 愛知医科大学・医学部・教授  
 研究者番号：10384984