

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26670688

研究課題名(和文)痛み動物のMRI画像の新たな診断ツールの開発

研究課題名(英文)The development of evaluation tools of animal model of chronic pain

研究代表者

真下 節 (Mashimo, Takashi)

大阪大学・その他部局等・名誉教授

研究者番号：10110785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：痛みでは多くの患者が苦しんでいるが、特に慢性痛でその治療に対する満足度はきわめて低いのが現状である。本研究は、痛みの客観的評価とバイオマーカーの開発を通してトランスレーショナルリサーチのツールとなるソフトウェアの開発の元となるデータの取得を目的とした。痛みの動物モデルを各種作成し、脳を高解像MRIで撮像し、脳画像を標準化し、その特異的パターンを見出せるデータセットを明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：The pain is a devastating problem and many patients are suffering, but there is no perfect treatment so far. The purpose of this study was to obtain the data set that evaluate the pain objectively and to develop the tool of translational research. The animal models of chronic pain was made and scanned their brain, with high resolution MRI. By normalizing the brain image, it was possible to get the data set which found out its specific pattern that expressed the chronic pain.

研究分野：疼痛医学

キーワード：高解像MRI 神経障害性疼痛モデル

## 1. 研究開始当初の背景

痛みでは多くの患者が苦しんでいるが、特に慢性痛でその治療に対する満足度はきわめて低いのが現状である。その理由のひとつは、特に痛みが慢性化すると局所の問題ではなく脳内の刺激の受容部位や、痛みシグナルの修飾過程に異常が起こり、些細な痛みが辛い痛みと感じられたり、本来痛くないはずの刺激を痛いと感じたりする現象が起こるためと考えられる。しかし、これまでの創薬は、脳内の変化に着目していなかった。現在、創薬の過程に動物による検証は必須である。しかし、痛みによる脳内変化を比較的簡便に客観的にとらえる方法論がない以上、脳内変化が重要と考える研究者は多く存在しても、実際のトランスレーショナルリサーチはうまく機能しなかった。

最近になって、痛みの脳機能画像を用いた痛みの判別アルゴリズム・バイオマーカーについての報告がなされた(Wager et al, NEJM 2013)。それは痛みによる画像変化データを複数組み込んだアルゴリズムを開発し、痛みの程度まで予測するというもので画期的であった。本年、我々は11.7T高解像MRIを用いた痛みの画像化を試験的に行い、有意な結果が得られつつある。

今回、Dr.Rosaとの知己を得て、ヒトで適用されるのと同様の比較的簡便な痛みの客観的画像診断ソフト開発が急務と考え本研究を着想した。

## 2. 研究の目的

本研究は、痛みの客観的評価とバイオマーカーの開発を通して、トランスレーショナルリサーチのツールとなるソフトウェアの開発の元となるデータの取得を目的とする。そのために、

1. 痛みの動物モデルを各種作成し、脳を高解像MRIで撮像する。

2. 撮像した脳画像を標準化するために、モデル動物、コントロール動物の撮像を15匹程度ずつ行い、そのデータを用いて標準化

する。

3. 標準化したデータを下に解析を試み、その特異的パターンを見出せるデータセットを明らかにする。

## 3. 研究の方法

本研究は、痛みの客観的評価を可能にするバイオマーカーの開発を目指し、トランスレーショナルリサーチのツールとなるソフトウェア開発の基礎となるデータセットの取得を目的とする。そのために、

1. 顔面の神経障害性モデルと術後痛モデルを作成し、疼痛関連行動を評価する。

2. マンガネーゼ(造影剤)を用いたT1強調画像でモデル動物の脳を撮像し、造影剤によってエンハンスされる領域を明らかにする。

3. 標準画像とモデル動物のデータを基に痛みのある個体とない個体を区別可能な解析方法の開発を念頭に置いたデータセットを作成する。

## (1). 痛みのモデル動物の作成と行動評価

オスのウィスターラットを4週令で導入し、1週間飼育室で慣らした後、5週令で手術する。

セボフルレン麻酔下に下記のような手術操作を加える。

顔面術後痛モデル：顔面に切開を加え、縫合する。

顔面神経障害性疼痛モデル：顔面に切開を加えた後、三叉神経第2枝である眼窩下神経を露出させ、ナイロン糸でゆるく結紮する。手術後は回復まで1ケージ1匹で管理する。

手術3日前、3日後、7日後、14日後にvon Frey Filamentを用いて痛覚過敏行動を評価する。その時には、1つの太さのフィラメントで5回施行し3回以上反応が見られた場合を痛覚過敏行動があると判定する。

パターンアルゴリズム開発に向けて上

記のモデルを各 20 匹ずつ作成する。

## (2). MRI の撮像とその解析(担当: 分担者

### 中江・研究協力者 吉岡)

手術操作を行わない 8 週令のウィスターラットの脳と脊髄の MRI 画像を 20 匹撮像する。

おのおののモデル動物については、手術後 1 週間でラットを大阪大学動物実験施設から脳情報通信融合研究センター (CiNET) の動物飼育室に移動させる。

撮像の 3 日前から 3 回に分けてセボフルレン麻酔下に体重あたり 3mg/kg のマンガネーゼを腹腔内投与する。

CiNET 内に現有する 11.7T の高解像 MRI 装置を用いて T1 強調画像を撮像する。エンハンスされた領域のマンガネーゼの濃度変化を手動で位置決めを行って解析し、その差を明らかにするとともに、神経障害性疼痛モデル・術後痛モデルの違いを明らかにする。

## (3). 痛みのパターンアルゴリズム開発の元となる基礎データセットの取得(担当: 主任研究者 眞下・分担者 中江)

2 で得られた 60 匹の画像データから、標準化し、標準化した画像のおのおのの領域の造影剤の取り込みを評価する。

おのおのの領域のモデル動物間の取り込み強度の違いを Tukey Kramer Multiple Comparison Test で検討する。おのおのの領域の動物間での取り込み強度の相関関係を明らかにする。

## 4. 研究成果

マンガネーゼの神経毒性によると思われる死亡例を除き、神経障害モデル動物 17 匹、外科的侵襲モデル 14 匹、ナイーブ 18 匹の計 49 匹の解析を行った。

### (1) 目視による解析(分担者 中江)

特に造影剤の取り込みが顕著に見られた扁桃体に対し、造影剤の取り込みがない筋肉における輝度変化をコントロールにし、そ

の造影剤の取り込みについて検討した。

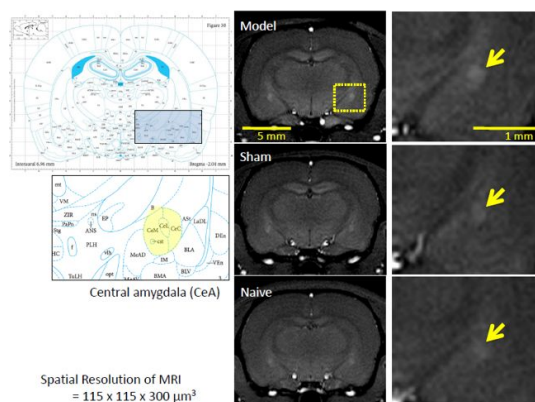


図 1. 扁桃体中心核における輝度変化造影剤の取り込みを認める。

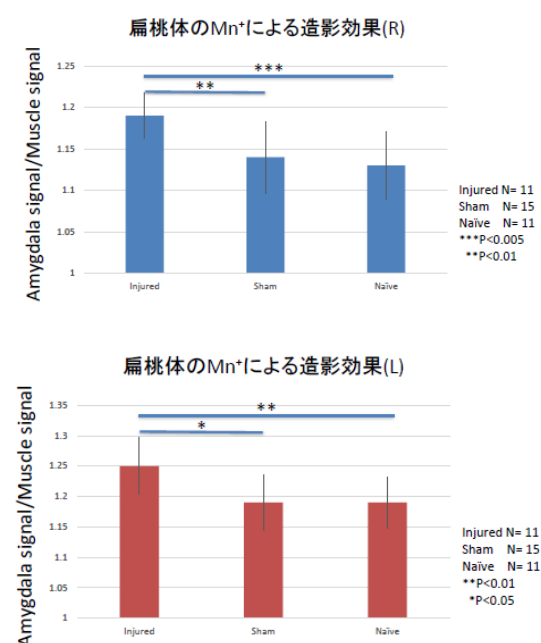


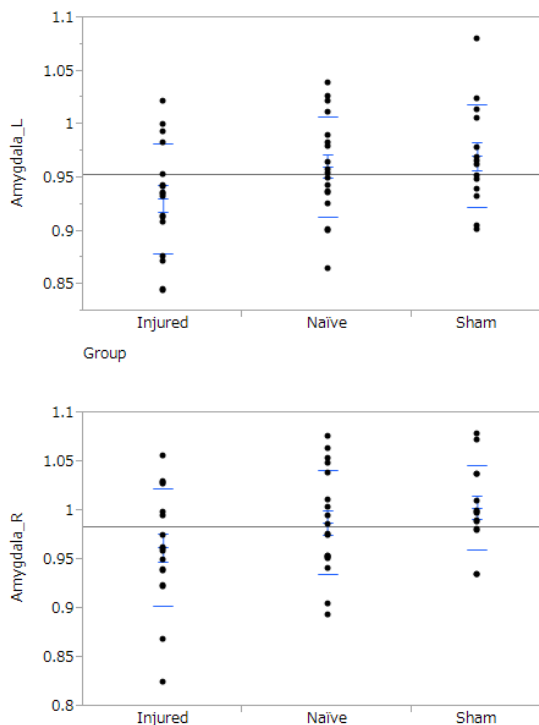
図 2. 扁桃体中心核の造影剤取り込みの違い

造影剤の取り込みを筋肉における輝度変化をコントロールにして検討したところ図 2 に示すように、神経にダメージを与えた障害も出る群で有意に取り込みの増加を認められた。

### (2) 解剖学的標準化に基づく解析(研究協力者 加藤弘樹・分担者中江が担当)

撮像した全ての MRI: 49 例 x 2 sequences 画像に関して、DICOM 解凍、画像変換、Co-registration、解剖学的標準化を行い、Anatomical labeling を用いた Volume of Interest (VOI) 解析を行った。その結果、目視で差を認めた、扁桃体中心核における輝度

変化の有意な差は、標準化の過程で画像が補正された影響と思われるが、認めることが出来なくなった。

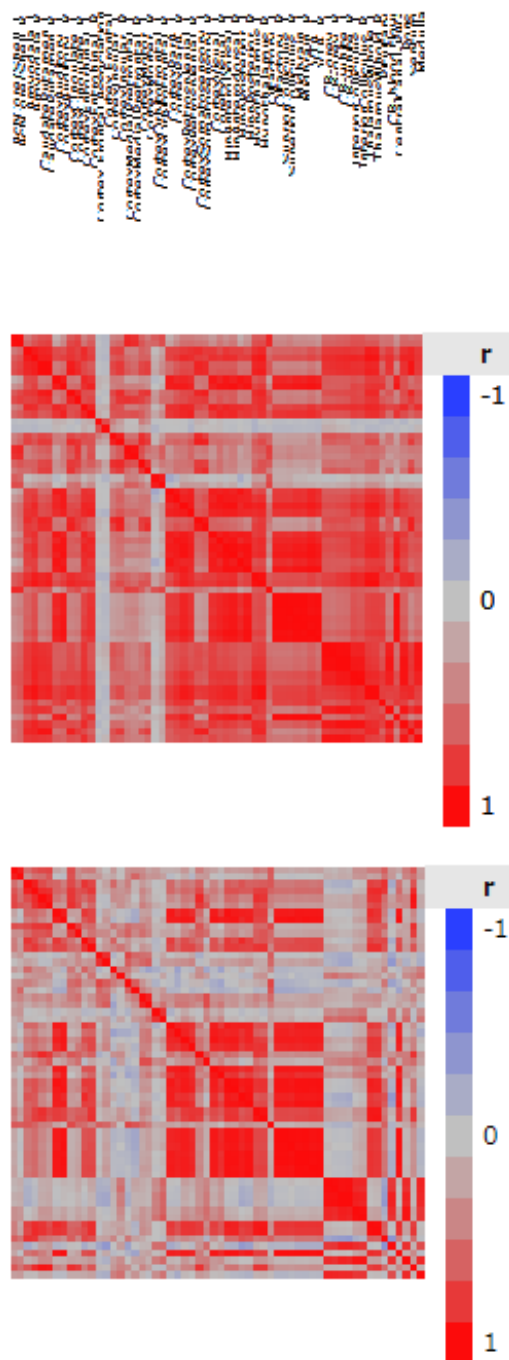


**図3 . 標準化後の扁桃体中心核の造影剤の取り込みの違い**

目視で見られたような違いが認められない。

そこで、次に、各部位の取り込みの違いのパターンの違いを明らかにするために、全ての部位ごとに相関解析を行った。その結果、全般的に取り込みの強いモデル動物の画像と、比較対象となるシャム手術画像の間には異なる傾向を認めたため、マッピングを行った。図4のように相関解析のマッピングを行うと、神経障害を伴うモデル動物と外科的侵襲のみを加えたシャム手術個体の間には明らかなパターンの違いを認めた。

解剖学的標準化を行った後、筋肉の輝度で除したデータセット各部位のデータセットは、将来動物モデルの解析の自動化に有用なデータセットとなる可能性が示唆された。



**図4 . 相関解析結果のマッピング (上モデル下シャム) 明らかに異なるパターンを呈している。**

## 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1件)

Aya Nakae. Back translational research on Pain~towards a new drug discovery~ CiNET conference (2015/12/2-5) Osaka

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

真下 節 (Mashimo Takashi)

大阪大学 その他部局 名誉教授

研究者番号：10110785

(2)研究分担者

中江 文 (Nakae Aya)

大阪大学免疫学フロンティア研究センター

特任准教授

研究者番号：60379170

中井 國博 (Nakai Kunihiro)

福井大学 医学部附属病院 准教授

研究者番号：80362705

(4)研究協力者

吉岡 芳親 (Yoshioka Yoshichika)

森 勇樹 (Mori Yuki)

加藤 弘樹 (Kato Hiroki)