

平成 22 年 4 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19603017

研究課題名（和文） 難治性疼痛へのガンマナイフ治療効果の機序を明らかにする

研究課題名（英文） Therapeutic effects of gamma knife on intractable pain

研究代表者

川上 順子（KAWAKAMI YORIKO）

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：40075601

研究成果の概要（和文）：

ガンマナイフは中枢痛や三叉神経痛などの難治性疼痛の治療に臨床応用され、鎮痛効果が証明されている。しかし、その鎮痛機序に関しては報告がない。本申請研究は、慢性疼痛モデルラットを用い、ガンマナイフの鎮痛効果を確認し、作用機序を検討することを目的とした。

実験は以下の2つの部分からなる。(1)末梢神経損傷によるアロディニアモデルへのガンマナイフの鎮痛効果と機序の解明、(2)中枢痛治療としてのガンマナイフ下垂体照射の作用機序の解明。(1)に関しては、ガンマナイフ照射2週間後より鎮痛効果が出現した。さらに、照射部位にマクロファージが集積し、これにより myelin debris の除去が促進されることが判明した。この時期と鎮痛効果が出現する時期が一致する事から、集積したマクロファージにより神経損傷の修復が促進され、アロディニアからの早期の離脱が誘発されたことが示唆された(Pain へ投稿中)。(2)はじめに、痛み刺激による下垂体の組織変化を免疫組織的手法にて解析した。さらに、MRI 解析によりラット下垂体へのガンマナイフ照射方法を確立した。

研究成果の概要（英文）：

Gamma knife surgery (GKS), which is a minimally invasive therapy for brain diseases, is currently used for intractable pain disorders such as trigeminal neuralgia, central pain and cancer pain. However, the mechanism underlying the anti-nociceptive effects of GKS is still unknown. The experiments were performed in two ways. (1) We examined the anti-nociceptive mechanism of GKS in the neuropathic pain model of rats (2) How dose Gamma Knife (GK) irradiation to the pituitary gland affect central pain? [Results] (1) We found that GK irradiation reduced mechanical allodynia in neuropathic pain rats. Immunoblotting and histochemical analysis showed that Iba-1 positive macrophage was significantly increased at the GK treated injured nerve. Moreover, myelin debris was removed more efficiently by GK irradiation. These results suggest that Iba-1 positive macrophage in irradiation areas is related to the anti-nociceptive effect of GKS. (2) We established the technical methods of GK irradiation to the rat pituitary gland. We also examined that acute and chronic pain induced Fos activities in the anterior lobe of the pituitary gland, but not in the posterior lobe.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：疼痛学

キーワード：難治性疼痛、ガンマナイフ、下垂体、三叉神経痛、マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

三叉神経痛や癌性疼痛、中枢痛などの難治性疼痛の治療に、非侵襲的方法であるガンマナイフが使用され、良好な治療効果が得られているが、ガンマナイフの治療機序は明らかにされていない。

近年、ガンマナイフの機能的脳疾患への治療効果がどのような機序で出現するのか、様々な角度から検討が行われてきた。1996年の Regis 等の報告では、線条体へのガンマナイフ照射により脳内カテコールアミン及び神経性アミン含有量の増減が観察され、ガンマナイフの脳機能への影響が示唆された (Regis J., Stereotact Funct Neurosurg. 66:29,1996)。また、Chen 等の研究では、subnecrotic dose を海馬に照射したスライス切片において神経細胞の活動性を検討し、抑制系が増強する可能性が示され、機能面からガンマナイフの影響を報告した (Chen Z.E., J. Neurosurg. 94: 270,2001)。一方、組織学的には Kondziolka 等により、サルの上三叉神経へのガンマナイフ照射 (100Gy) により、脱髄、浮腫、ネクローシスなどの所見が確認された (Kondziolka D. Neurosurg. 46(4): 9, 2000)。しかし、鎮痛へ直接つながる特異的な変化は報告されていない。一方、40Gy 以下の低線量ガンマ線の神経への影響は、グリア細胞の増加を認める程度の変化にとどまることが Kamiryo 等により報告された (Kamiryo T., Neurosurg. 31: 271, 1992)。我々も、線条体ドパミン機能へのガンマナイフの影響を検討し、線条体においては、indirect pathway に属する神経細胞への影響が観察されることを報告した (Kouyama N. 第 28 回日本神経学会大会 2005)。

このように様々な実験が行われてはいたが、難治性疼痛へのガンマナイフ照射の影響を行動及び組織学的解析を用いて同時に検討する基礎医学的な研究は全く行われていないのが現状であった。

我々はラットを使用した基礎研究において、ガンマナイフを的確に目的部位に照射するため、MRI を活用した照射プランニングを確立していた (Tokumaru O., Neurosurg. 102: S42, 2005)。そこで、この手法を用いて、慢性疼痛ラットにガンマナイフ照射し、その後の疼痛行動及び組織学的変化を検討し、ガンマナイフ照射による鎮痛効果発現のメカニズム解明を目指すことにした。

2. 研究の目的

本申請研究は、ガンマナイフによる鎮痛効果の機序を基礎的な研究により解明することを目指す。具体的には(1)三叉神経痛に対す

るガンマナイフ照射による鎮痛効果発現メカニズムの解明のため、ラット慢性疼痛モデルへのガンマナイフ照射による解析を、(2)癌性疼痛へのガンマナイフ照射による鎮痛効果発現メカニズムの解明のため、ラット下垂体へのガンマナイフ照射による解析を行動学的・組織学的・分子生物学的に行う。最終的に三叉神経痛をはじめとする難治性疼痛のより安全で確実なガンマナイフ治療を確立することにより、患者負担を軽減させることが目的である。

3. 研究の方法

(1) アロディニアモデルへのガンマナイフの鎮痛効果の解析

三叉神経痛のモデルとして、慢性疼痛モデルラットの末梢神経にガンマナイフを照射する方法を確立し、疼痛行動に与える影響を検討した。

ガンマナイフ照射後、鎮痛効果が現れた時点における照射部位の組織学的変化をウエスタンブロット法及び免疫染色法により検討した。

(2) ガンマナイフ下垂体照射による鎮痛効果の機序解明

下垂体へのガンマナイフ照射
ラット下垂体へのガンマナイフ照射方法を確立し、下垂体へのガンマナイフ照射の影響を検討した。

痛み刺激による下垂体の組織学的変化
現在までに、疼痛時の下垂体の組織学的解析はあまりなされていない。そこで基礎的研究として、急性痛及び慢性疼痛(炎症性、神経因性)における下垂体の変化を検討した。

4. 研究成果

(1) アロディニアモデルへのガンマナイフの鎮痛効果の解析

アロディニアモデルは Seltzer らのモデル (Neurosci Lett. 115:62-7, 1990) を用いた。このラットにおいて、機械刺激による痛覚反応を Automated Von Frey type system により検討したところ、結紮 2 日後から明らかな逃避反応の閾値の低下(アロディニア)が確認された。また、約 6 週間はアロディニアが継続することを確認した。このラットでは 6 週以降で徐々に閾値の上昇(アロディニアからの回復)がみられ、結紮 9 週後では sham 群と有意な差が見られなくなることが明らかとなった。

次に我々は MRI 画像を元に Leksell

GammaPlan treatment planning system を用いて坐骨神経へのガンマナイフ照射法を確立した(図1)。アロディニアモデル(結紮7日後)にガンマナイフを照射(中心線量90Gy)したところ、2週間後に非照射群と比較して有意な閾値の上昇が認められた。また、アロディニアモデルラットのガンマナイフ照射群は照射3週間後には sham 群と同程度まで逃避反応の閾値が回復することが明らかとなった。この効果は本研究で測定した最長期間(9週間後)までは継続していた。一方、sham 群にガンマナイフを照射しても逃避反応の閾値には変化が見られなかった。

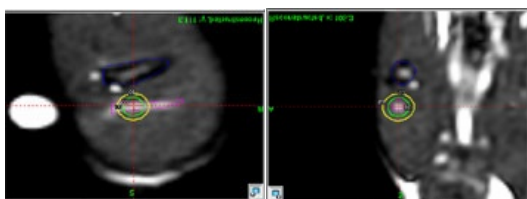


図1 坐骨神経への planning
ピンク;坐骨神経 青;大腿骨 緑;80% isodose area 黄色;50% isodose area

ガンマナイフ照射2週間後の坐骨神経のサンプルをウエスタンブロット法により解析したところ、Iba1の発現量が顕著に増加していることが判明した。また、同時期の凍結切片を作製し、抗 Iba1 抗体で免疫染色したところ、結紮部遠位側(照射部位が含まれる)に Iba1 陽性マクロファージが集積していることが判明した。さらに、ガンマナイフ照射後のマクロファージは貪食後の泡沫化した(貪食していると考えられる)マクロファージが多く存在していることが明らかとなった。そこで、Oil Red O 染色によりミエリンの debris 及びマクロファージが貪食したミエリンを染色したところ、結紮+ガンマナイフ処理群では、結紮+非照射群と比較して結紮部から遠位側の Oil Red O 陽性の濾胞が有意に減少することが明らかとなった。これによりガンマナイフ処理により myelin debris の除去が促進されることが判明した。この時期と鎮痛効果が出現する時期が一致する事、末梢神経損傷時の軸索の再生において、マクロファージの活性化が重要な役割を担っているという報告もあることから、集積したマクロファージにより神経損傷の修復が促進され、アロディニアからの早期の離脱が誘発された可能性が考えられる。今後は、実際にマクロファージの増加が鎮痛効果に直接関与しているのか、阻害剤などを用いて明らかにする予定である。

(2) ガンマナイフ下垂体照射による鎮痛効果の機序解明

下垂体へのガンマナイフ照射
ラット下垂体へのガンマナイフ照射方法を確立し(図2)、高線量(180Gy)の照射により、3カ月で下垂体重量が約半分まで減少することが判明した。また、アザン染色により下垂体重量減少の要因が酸好性細胞(成長ホルモン産生細胞及びプロラクチン産生細胞)の減少によることも判明した。下垂体前葉の細胞種によりガンマ線の放射線感受性が異なるという新たな知見が得られた。今後、実際の治療線量(120Gy)照射における行動・組織学的解析を行い、鎮痛効果発現メカニズムの解明を行なう予定である。

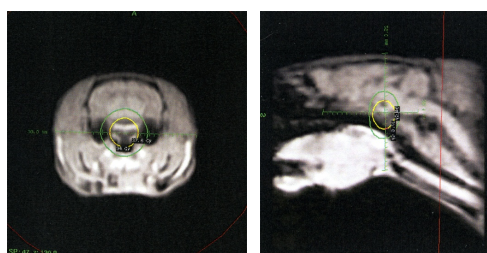


図2 下垂体への planning
黄色;50% isodose area 緑;25% isodose area

痛み刺激による下垂体の組織学的変化
急性痛(内臓痛、体性痛)及び慢性疼痛(炎症性、神経因性)における下垂体の変化を、c-Fos タンパク質の発現に着目し検討した。急性痛及び炎症性慢性疼痛では下垂体前葉細胞(主に ACTH 産生細胞)に c-Fos 陽性細胞の発現上昇が認められたが、神経因性疼痛には認められなかった。炎症性疼痛では炎症性サイトカインの血中濃度の上昇が認められる。サイトカインと下垂体 c-Fos タンパク質発現との関連性について今後解析を行う予定である。

本申請研究において、我々はラットの様々な部位への確実なガンマナイフの照射方法を確立した。さらに、坐骨神経を部分結紮した慢性疼痛モデルへガンマナイフを照射することにより鎮痛効果が認められることを明らかにした。また、このラットにおいてはマクロファージの活性化が鎮痛作用と同時期に増大することから、鎮痛効果とマクロファージの活性化が関与している可能性が示唆された。

今後は末梢神経へのガンマナイフ照射による鎮痛効果のメカニズムと下垂体への照射による鎮痛効果のメカニズムに共通点があるのかという点も含め、さらに解析を進め、ガンマナイフによる鎮痛メカニズムの本質へ迫りたい。

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3件)

(1)Takayuki Hayashi, Mariko Miyata, Tomonari Nagata, Yumi Izawa and Yoriko Kawakami

Intracerebroventricular fluvoxamine administration inhibited pain behavior but increased Fos expression in affective pain pathways

Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 91: 441-446, 2009, 査読有

(2)川上 順子、木内 有希

大脳基底核ドパミンシステムと痛み

Brain medical, 21: 235-240, 2009, 査読無

(3)Osamu Tokumaru, Motohiro Hayashi, Youko Katayama, Miho Tomida, Yoriko Kawakami and Nobuo Kouyama.

Gamma knife radiosurgery targeting protocols for the experiments with small animals.

Stereotactic and Functional Neurosurgery. 85(4):135-143, 2007, 査読有

〔学会発表〕(計4件)

(1)Yuki Yagasaki, Motohiro Hayashi, Noriko Tamura and Yoriko Kawakami

Gamma knife surgery induces a relieving effect on existing tactile allodynia

International Union of Physiological Sciences, 2009.7.31, Kyoto

(2)矢ヶ崎有希, 林 基弘, 臼倉政雄, 田村徳子, 小野由子, 川上順子, ラット慢性疼痛モデルを用いたガンマナイフ照射による鎮痛効果の解析～三叉神経痛治療効果のメカニズム解析のひとつとして～

第13回ガンマナイフ研究会, 2009.2.6, つくば市

(3)矢ヶ崎有希, 林 基弘, 井沢優美, 川上順子, Gamma knife irradiation reduced pain responses in neuropathic pain model,

第31回日本神経科学大会, 2008.7.9, 東京

(4)神山暢夫, 片山洋子, 林 基弘, 川上順子
Cytological changes underlying the behavioral alterations after the Gamma knife irradiation on the rat brain.

第30回日本神経科学大会, 2007.9.10, 横浜

6 . 研究組織

(1)研究代表者

川上 順子 (Kawakami Yoriko)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：40075601