

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18791

研究課題名(和文) fMRIを用いた犬と猫におけるオピオイドの鎮痛作用の種差の解明

研究課題名(英文) The effects of opioid on the changes in the brain activity following noxious stimuli in dogs and cats. A functional magnetic resonance imaging study.

研究代表者

鎌田 正利 (Kamata, Masatoshi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教

研究者番号：50646411

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)：犬と猫でオピオイドの鎮痛作用に種差が生じる機構を解明するために、侵害刺激により活性化される脳の領域を調べ、さらにオピオイドの影響を比較した。犬と猫で侵害刺激により体性感覚野、頭頂連合野、帯状皮質、小脳領域が活性化した。さらに犬では扁桃体、視床、中脳、猫では海馬領域が活性化した。オピオイドにより犬と猫で侵害刺激による体性感覚野の活性化が抑制された。さらに犬では扁桃体、猫では帯状皮質、海馬、視床、中脳、小脳の活性化が抑制された。オピオイドは犬と猫で痛みの認識に対する抑制作用は同程度であることが示唆されたが、痛みに対する自律神経反応に対する抑制作用に種差が生じる機構は明らかとならなかった。

研究成果の概要(英文)：To study the mechanism causing the species difference in analgesic effects of opioid in dogs and cats, we investigated the localization of brain function activated by the nociceptive stimuli and the effects of opioid on the brain function using functional magnetic resonance imaging. In dogs and cats, somatosensory cortex, parietal association cortex, cingulate cortex and cerebellum were significantly activated by the nociceptive stimuli. Further, amygdala, thalamus, and midbrain were activated in dogs and hippocampus was activated in cats. Opioid suppressed the activation of somatosensory cortex in dogs and cats. Opioid also suppressed the activation of amygdala in dogs and cingulate cortex, hippocampus, thalamus, midbrain and cerebellum in cats. This study suggests that opioid suppresses the perception of pain in the brain in both dogs and cats. However, the mechanism causing the species difference of opioid in the blocking autonomic responses to pain in dogs and cats is not revealed.

研究分野：小動物麻酔学

キーワード：脳機能局在 オピオイド 鎮痛 種差

1. 研究開始当初の背景

(1) 周術期の適切な疼痛管理は手術侵襲を軽減し、術後の回復促進や予後の良化をもたらす。また、伴侶動物である犬や猫の痛みに対する社会的な関心や要望も高く、獣医療においても、強力な侵害刺激遮断作用(鎮痛作用)を持つモルヒネやフェンタニルなどのオピオイドの使用が広まってきている。

(2) 心拍数や血圧の変化を指標とした際にオピオイドの鎮痛作用に犬と猫に種差があることを研究者らは明らかにした。また、中枢神経系におけるオピオイド受容体の発現量に違いがあることを明らかとしたが、オピオイドの作用に種差が生じる機序は不明な点が多い。

(3) 現在、脳の機能評価を行う方法として機能的磁気共鳴画像法(functional magnetic resonance imaging : fMRI)が広く利用されている。fMRI は非侵襲的に脳の局所の活動を検出する方法であり、人では侵害刺激により脳の特定の部位が活性化すること、鎮痛薬により活性化が変化することが明らかにされている。

2. 研究の目的

犬と猫でオピオイドの鎮痛作用に種差が生じる機序について脳機能面から検討するため、fMRIを用いて犬と猫で侵害刺激により活性化される脳領域の同定を行い、各領域で侵害刺激により生じる活性化に対するオピオイド(レミフェンタニル)の影響を比較する。

3. 研究の方法

(1) 身体検査および血液検査により健康と判断された実験用ビーグル犬 8 頭および実験用猫 6 頭を用いた。

(2) fMRI の撮像はアルファキサロン静脈内持続投与による全身麻酔下で行った。麻酔導入後、生理食塩水、レミフェンタニル 0.25、0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の静脈内持続投与を行なった。

(3) MRI の撮像は 3.0T MRI unit を用いて行った。はじめに解剖画像として T1 強調画像を

fast spoiled gradient echo (SPGR) 法で撮像した。続いて機能画像として T2 強調画像を gradient-recalled echo-planar imaging (GRE-EPI)法で撮像し MR 信号の変化を記録した。機能画像の撮像はレミフェンタニル投与群では持続投与開始から 30 分経過後に開始した。機能画像の撮影中、テイルクランプ法にて機械性の侵害刺激を加えた。刺激は 30 秒ごとのタスク(刺激あり)とレスト(刺激なし)のブロックを繰り返し 5 回行う、計 300 秒のブロックデザインにて行なった。

(4) fMRI データの解析は脳機能画像解析用ソフトウェアである SPM12 を用いて行った。今回用いた犬および猫の中からもっとも偏りの少ない脳を選出して標準脳への変換(標準化)を行い、標準脳の代わりとした平滑化はガウシアンフィルタを用いて行った。30 秒ごとの刺激の有無と一致した変化を示したボクセルの集合(クラスター)を、解剖画像上に重ねて表示することで、賦活化を示した脳領域を特定した。データは個体ごとの画像のコントラストを作成したのち、個々のコントラストを元に集団解析を行い、犬および猫の脳の賦活化領域を特定した。各ボクセルの賦活化の有意水準は犬で $P < 0.005$ 、猫で $P < 0.05$ とした。

侵害刺激に対して活動性の変化が認められた脳領域を対象として、レミフェンタニルが活動性の変化におよぼす影響を測定するため、脳の各領域における ROI 解析を行った。各領域のシグナル変化のパーセンテージ(%シグナルチェンジ)を計測し、レミフェンタニルの投与による変化を比較した。コントロール群とレミフェンタニル投与各群の%シグナルチェンジは Dunnett 法にて比較し、 $P < 0.05$ を有意な変化とした。

4. 研究成果

(1) 犬と猫で共通して機械的侵害刺激に関連した活動の増加が認められた領域は、十字後回、縁回前部、縁外回前部、縁回中部、縁外

回中部、帯状皮質および小脳であった。これに加えて犬では扁桃体、視床および中脳において、猫では海馬において賦活化が認められた（図1,2）

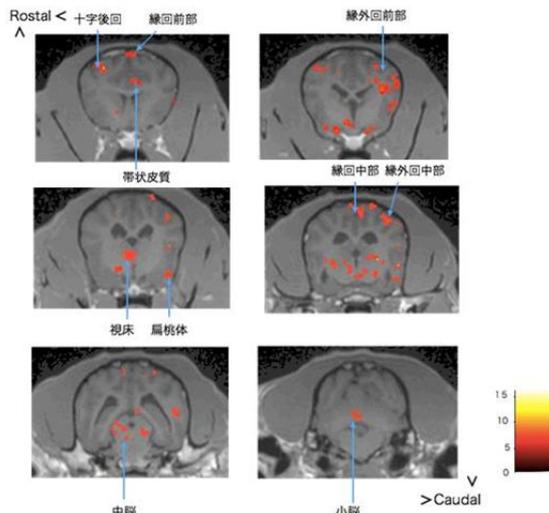


図1. 侵害刺激による犬の activation map 賦活化を生じたボクセルを解剖画像に重ねて表示 (P<0.005)。カラーバーは t 値。

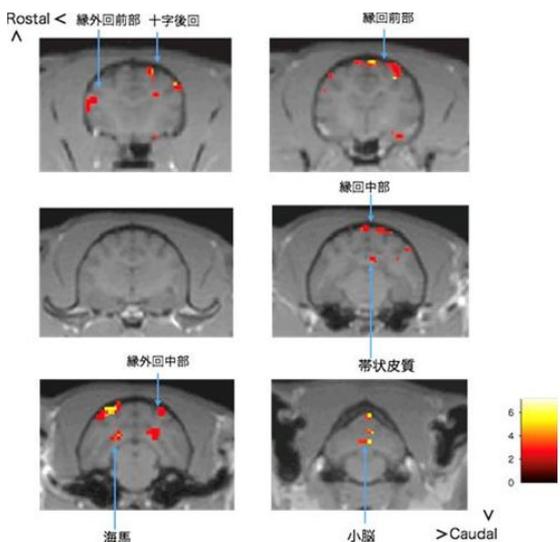


図2. 侵害刺激による猫の activation map 賦活化を生じたボクセルを解剖画像に重ねて表示 (P<0.05)。カラーバーは t 値。

十字後回、縁回前部および縁外回前部の反応は体性感覚野に、縁回中部および縁外回中部の反応は頭頂連合野 (Brodmann area 7) に生じた活動と考えられる。それぞれの領域にお

いて有意な反応を示したボクセル数の合計および Z 値の最大値を表 1 に示す。

表1. 賦活化を生じたボクセル数およびZ値の最大値

解剖部位	犬		猫	
	ボクセル数	Z値ピーク	ボクセル数	Z値ピーク
体性感覚野	401	4.08	92	3.33
頭頂連合野	413	3.96	184	3.02
帯状皮質	114	3.99	10	2.43
海馬	-	-	60	2.72
扁桃体	12	4.27	-	-
視床	225	4.23	-	-
中脳	430	4.93	-	-
小脳	26	3.90	63	2.96

(2) レミフェンタニル投与下で侵害刺激に対する有意なシグナル変化が認められた領域は、犬では体性感覚野および扁桃体であり、猫では体性感覚野、帯状皮質、海馬、視床、中脳、小脳であった。いずれの領域でも、レミフェンタニルにより有意なシグナルチェンジの減少が認められた（図3、図4）。

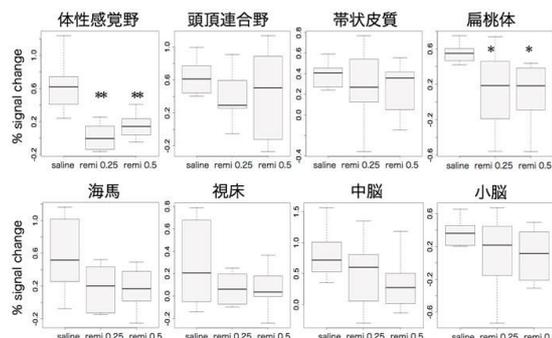


図3. 犬の脳における%シグナルチェンジ変化
ssaline:生理食塩水群, remi 0.25:レミフェンタニル 0.25 μg/kg/min 群, remi 0.5:レミフェンタニル 0.5 μg/kg/mi 群

*:P<0.05、**P<0.01

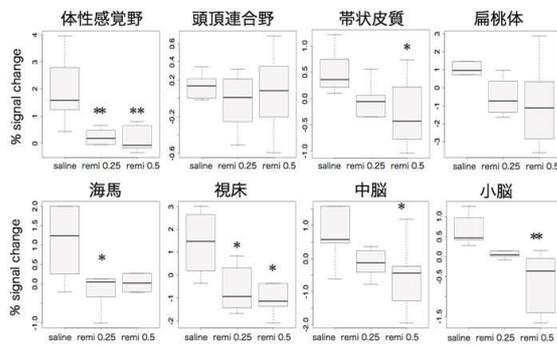


図 4. 猫の脳における%シグナルチェンジ変化
 saline: 生理食塩水群、remi 0.25: レミフェンタニル 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 群、remi 0.5: レミフェンタニル 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{mi}$ 群
 *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$

(3) 今回の検討では、侵害刺激に対する脳の賦活化部位には犬猫で共通する部位と異なる部位があり、犬と猫で侵害刺激の処理に関する脳の機能に種差が生じている可能性が示唆された。侵害刺激によって犬猫ともに体性感覚野、頭頂連合野、帯状皮質、小脳領域において賦活化が認められた。これらの領域は、人で侵害刺激を受容した際に活性化が認められる痛み関連領域と共通する。したがって、犬と猫でも侵害刺激を受容すると、痛みの認知および情動に関して人と同様の処理がなされている可能性が脳機能の面から示唆された。これらの領域に加えて、犬では扁桃体、視床および中脳において、猫では海馬において賦活化が認められており、賦活化の生じた領域に犬と猫で部分的に差異が認められた。人では海馬は痛みに関連した不安や記憶に関する機能を果たすと考えられているが、この部位の賦活化は猫でのみ生じており、不安による痛みの増悪が猫でより顕著に生じている可能性が考えられる。一方、視床および中脳は、内因性に侵害刺激の伝達を抑制する経路である下行性抑制系において重要な役割を果たしているが、この部位の賦活化が犬でのみ生じており、犬では痛みによる下行性抑制系の賦活化が猫に比べ顕著に生じている可能性が考

えられる。一方、侵害刺激に対する心拍数や血圧の上昇などの自律神経系反応の中枢であり、侵害刺激で賦活化が生じると予測された視床下部は今回の撮像方法では同定が困難であり、解剖学的位置をより正確に同定する撮像条件の作成が必要と感じられた。

(4) 侵害刺激による脳賦活化に対してレミフェンタニルを投与することにより、いくつかの賦活化部位においてシグナルチェンジの抑制が認められたが、抑制された部位には犬猫で共通する部位と異なる部位があった。犬と猫で共通してシグナルチェンジの抑制が認められた領域は体性感覚野であった。fMRI を用いてオピオイドの脳への作用を評価する際には、痛みを認識する部位である体性感覚野における BOLD 信号の変化が疼痛および鎮痛のマーカーとされている。本研究においてレミフェンタニルの投与により犬と猫で有意な%シグナルチェンジの抑制を示しているため、犬と猫ともにオピオイドは痛みを認識するレベルにおいて同等の抑制作用を発現していることが示唆される。このため、大脳を介した反応である逃避行動を指標とした場合、猫においても犬と同様、オピオイドは有意な閾値の上昇を示すものと考えられる。一方、心拍数や血圧を指標とした場合は、犬と猫では鎮痛作用に種差が認められるため、心拍数や血圧の反応には、シグナルチェンジの抑制が生じた領域のうち犬と猫で異なる部位が関与している可能性や今回は同定できなかった視床下部に対する作用の違いが関与している可能性が示唆された。

犬や猫でも周術期の疼痛は様々な情動反応や生理反応を引きおこし、過度な疼痛は不利益となるため、適切な疼痛管理が必要と考えられる。痛みの認識に大きく関与すると考えられる体性感覚野に対して犬猫ともにオピオイドが作用することは、鎮痛薬としてのオピオイドの重要性を示している。今後、さらに視床下部など痛みが引きおこす自律神経

反応に關与すると考えられる部位におけるオピオイドの作用および種差を評価することにより、オピオイドの有効性を考慮した周術期の適切な疼痛管理の実現が期待できる。

(4)研究協力者
()

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 0 件)

〔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

6. 研究組織

(1)研究代表者

鎌田正利 (KAMATA, Masatoshi)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任助教
研究者番号：50646411

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：