

令和元年6月17日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20034

研究課題名(和文) ofMRIで痛み伝達の脳内ネットワークと先行鎮痛による慢性痛予防の可能性を探る

研究課題名(英文) Exploration into the intracerebral network of pain transmission and the possibility of prevention of chronic pain with pre-emptive analgesia using ofMRI

研究代表者

竹村 佳記 (Takemura, Yoshinori)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・助教

研究者番号：70624922

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：痛み評価におけるより客観的手法の確立を試みた。マウスの測定環境として、明室と暗室を用意した。また、刺激条件に関しては、1)刺激加重、2)測定時間、そして3)最大刺激加重5gに達するまでの加重速度の比較を、生後8週、10週、12週、13週の4点で行った。結果として、刺激加重や測定時間において、暗室で測定した際は有意なばらつきが認められたが、明室では有意差は見られなかった。一方、加重速度に関しては、10秒と20秒において差は見られなかった。以上より、明室の方が刺激加重および測定時間は安定することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでは、マウスの痛みを調べるための行動学的手法の1つとして von Frey フィラメントを用いた測定を行ってきたが、測定者による手技のばらつきが測定結果のズレに繋がるという問題があった。そこで測定者間のばらつきを極力少なくし、より客観的に評価するためにダイナミックプランターを導入し、測定条件の設定を行った。今回の結果により、今後安定した測定結果が得られると期待できる。

研究成果の概要(英文)：We tried to establish a more objective method in pain assessment. A bright room and a dark room were prepared as measurement environments of mice. In addition, as for stimulation conditions, items of stimulation weight, measurement time, and loading speed to reach the maximum stimulation weight of 5 g were compared at each of time points which were 8, 10, 12 and 13 weeks.

As a result, significant differences were observed when the stimulation weight and the measurement time were measured in the dark room, but no significant difference was observed in the light room. On the other hand, no difference was found between 10 and 20 seconds for the loading speed. In short, it was found that the stimulation weight and the measurement time were more stable in the bright room.

研究分野：痛み

キーワード：痛み評価 ダイナミックプランター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

術後痛や一般的な慢性痛の予防方法として、急性痛から慢性痛への移行を防ぐことが非常に重要である。申請者らは、これまで急性痛および慢性痛モデルを用いた中枢神経領域での痛み発現機構を functional magnetic resonance imaging (fMRI) を用いて検討し (Takemura et al. Synapse 2011)、脳内活性部位を確認してきた。しかしながら、その部位間のネットワークは解明できなかった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、fMRIとオプトジェネティクスを融合したoptogenetic fMRI (ofMRI)を用い、中枢神経における慢性痛のネットワーク機構の解明を第1の目的とする。また、薬物を用いた先行鎮痛により慢性痛への移行予防が可能であることを検証し、慢性痛の治療方法の開発(トランスレーショナルリサーチとして)を第2の目的とする。

その研究に入る前に、痛みに対するより客観的な行動学的評価を導入する。これまでは、マウスの痛みを調べるための行動学的手法の1つとして von Frey フィラメントを用いた測定を行ってきたが、測定者による手技のばらつきが測定結果のズレに繋がるといった問題があった。そこで測定者間のばらつきを極力少なくし、より客観的に評価するためにダイナミックプランターを導入し、測定条件の設定を行う。

3. 研究の方法

(1) 痛みのより客観的評価方法を確立する。

【使用動物】C57BL/6J 雌性マウスを用いる。

【評価時期】生後8週、10週、12週、13週の4点で評価する。

【評価項目と方法】マウスの測定環境として、明室と暗室を用意する。また、刺激条件に関しては、刺激加重、測定時間、そして最大刺激加重5gに達するまでの加重速度の比較を行う。

(2) 光感受性イオンチャネルを発現させた遺伝子改変マウス(Tgマウス)のSeltzerモデルの作製ならびにfMRIによる評価を行う。

【使用動物】青色光(460~490nm)に反応する光感受性イオンチャネル(チャンネルロドプシン2; ChR2)を発現したTgマウスを用いる。

【作製モデル】ChR2を発現したTgマウスを使用して、Seltzerモデル(神経障害性痛モデル)を作製する。

【評価時期】これまでの通常マウスSeltzerモデルでは、von Frey フィラメントにて痛み閾値の変化を調べ、「最も閾値が低下する時間」を評価時期としたところ、右側後肢の坐骨神経結紮から7日後が評価時期であった。Tgマウスの場合もこの時期に評価する。

【評価項目と評価方法】痛みに関与する領域pain matrixを中心にfMRIを用いて脳内活性の変化を評価する。ただし、Seltzerモデルの痛みは自発痛ではないので、0.5-1%isoflurane麻酔下で右側後肢足底部にペルチェエレメントを当てて熱刺激を与えることで痛みを誘発し、その時の脳内活性の変化をfMRIで捉える。解析はFEAT software packageを用いて行う。以上、Seltzerモデルの再現性を検証する。

(3) TgマウスSeltzerモデルにおけるofMRIによる検討を行う。

【使用動物】平成27年度に作製したTgマウスSeltzerモデルを用いる。

【評価時期】右側後肢の坐骨神経結紮から7日後に評価する。

【評価項目と評価方法】前帯状回領域 (CG) ならびに第一次体性感覚野領域 (S1) に光ファイバーを植え込んで光刺激を加え、その時の脳内活性の変化をもとにその領域間ネットワークについて検討する。その際、脳領域が応答したか否かの判定は、光照射によって光刺激部位が活性化している時と光照射を行っていない時のfMRI信号 (BOLD信号) の大きさを比較して、統計学的に有意な差が生じたか否かで行う。ただし、既述のようにSeltzerモデルの痛みは自発痛ではないので、ペルチェエレメントによる熱刺激を与えることで痛みを誘発する必要がある。

(4)先行鎮痛による慢性痛への移行予防が可能であることの検証を行う。

【使用動物】平成27年度に作製したTgマウスSeltzerモデルを用いる。

【使用鎮痛薬と投与時期】 オピオイド (フェンタニル)、 アセトアミノフェン、 NSAIDsを用いて検討する。また、Seltzerモデル作製開始前にそれぞれの鎮痛薬投与を行う。

【評価時期】右側後肢の坐骨神経結紮から7日後に評価する。

【評価項目と評価方法】平成28年度同様、CGならびにS1に光ファイバーを植え込んで光刺激を加え、その時の脳内活性の変化が非先行鎮痛群と比較して抑制されるか否かについて検討する。この検討を オピオイド、 アセトアミノフェン、 NSAIDsそれぞれ投与した場合について行う。

4. 研究成果

(1)痛みの客観的評価方法の確立

刺激加重や測定時間において、暗室で測定した際は有意なバラつきが認められたが、明室では有意差は見られなかった (図1、図2)。

図1. 明室 (Clear cube) と暗室 (Dark cylinder) 間での刺激加重の比較

DC群では、刺激加重にバラつきが見られる

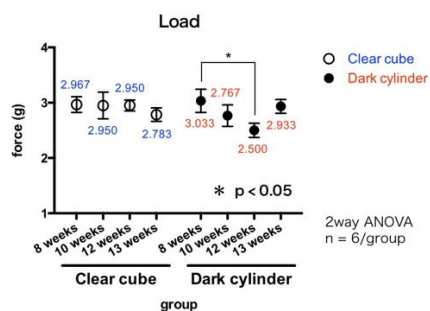
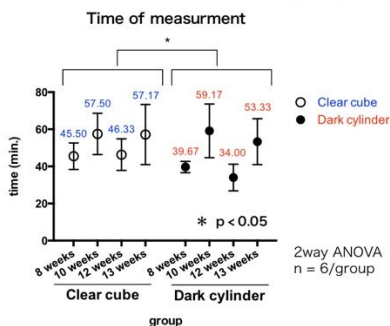


図2. 明室 (Clear cube) と暗室 (Dark cylinder) 間での測定時間の比較

DC群では、測定時間にバラつきが見られる

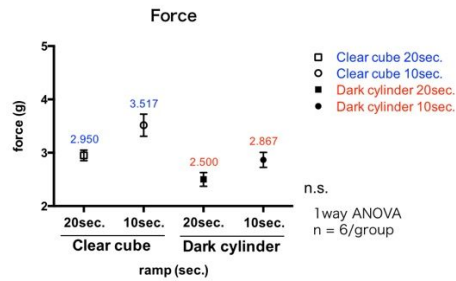


一方、加重速度に関しては、10秒と20秒において差は見られなかった。以上より、明室の

方が刺激加重および測定時間は安定することが分かった。

図3 . 明室 (Clear cube) と暗室 (Dark cylinder) 間での加重速度の比較

**Ramp 10sec.と20sec.では
刺激荷重に差はない**



今後、(2)以降の実験も継続する予定である。

5 . 主な発表論文等

現時点で無し

6 . 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：伊東 久勝

ローマ字氏名：ITO, Hisakatsu

研究協力者氏名：服部 瑞樹

ローマ字氏名：HATTORI, Mizuki

研究協力者氏名：川上 正晃

ローマ字氏名：KAWAKAMI, Masaaki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。