

令和元年6月4日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01462

研究課題名(和文) 異常血管に着目した筋筋膜性疼痛の発痛機序解明と治療への応用

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenesis of myofascial pain focusing on abnormal blood vessels and its application to treatment

研究代表者

渡辺 正哉 (WATANABE, Masaya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：90762633

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：虚血時に放出されるVEGFをマウス下腿三頭筋に筋内注射すると急・亜急性期の筋筋膜性痛覚過敏が惹起され、この過敏はVEGFR2抗体ではなくVEGFR1抗体の同所投与により緩和し、VEGFR1と共発現するTRPV1のブロック剤のカプサイゼピンでも症状が改善された。TRPV1ノックアウトマウスではVEGFによる痛覚過敏が見られないことから、VEGFによる痛覚過敏にはVEGFR1とTRPV1チャンネルが関与すると考えられた。生理食塩水にも鎮痛効果があり、この効果にはNaCl濃度が重要であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

筋筋膜性疼痛症候群や筋線維症は、早急な原因の解明、診断や治療法の確立が望まれていることから本研究の意義は深く、疼痛治療に新しい概念が生まれるとともに、癌患者などの疼痛にまで緩和効果が確認できれば、従来の鎮痛剤による副作用やアスリートのドーピング問題とは無縁で安価な治療法となり、膨大な医療費の削減にもつながることが期待される。

研究成果の概要(英文)：To explore the peripheral mechanism of myofascial pain syndrome (MPS), we focused on vascular endothelial growth factor (VEGF), which is released during ischemic state in the affected area of MPS and regulates hypoxia-induced vascular function. Intramuscular administration of VEGF caused acute and subacute mechanical hyperalgesia in mice. This hyperalgesia was improved by intramuscular administration of anti-VEGFR1 antibody or TRPV1 blocker capsazepine. In addition, the VEGF-induced mechanical hyperalgesia was not observed in TRPV1 knockout mice. VEGFR1 co-localized with TRPV1 in mouse dorsal root ganglion neurons. These results suggest that VEGF-induced mechanical hyperalgesia is involved in activation of VEGFR1 and TRPV1 channel. Furthermore, intramuscular saline injection also alleviated the VEGF-induced hyperalgesia. The analgesic effect depended on different concentrations of sodium chloride and 0.15M concentration of saline was the most effective in the present study.

研究分野：筋筋膜性疼痛症候群

キーワード：MPS(筋筋膜疼痛症候群) VEGF カプサイシン受容体(TRPV1) VEGF受容体(VEGFR1) 食塩水注射 hydro release 超音波画像診断 NaCl濃度

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

1. 研究開始当初の背景

筋筋膜性疼痛症候群 (Myofascial pain syndrome: MPS) はその存在自体があまり知られていない筋筋膜の異常によって痛みが持続する病態である。平成 25 年国民生活基礎調査によると、病気や怪我などの自覚症状のあるものは人口千人当たり 312.4 人、65 歳以上では 486.6 人であり、その愁訴の上位には肩こり、腰痛、手足の関節痛との回答であり、MPS と診断されていないものの MPS が疑われる多くの潜在患者の存在が指摘されている。

MPS の発症は筋肉への過負荷による筋筋膜の拘縮 (索状硬結) とその硬化による筋肉への血流障害が主因と考えられている。したがってこれを緩和するために、局所へのコールドスプレーとストレッチの施行 (Travell, Pain, 1983)、麻酔剤、ステロイドあるいはボツリヌス A の局所注射 (Mustafa et al. Pain, 2013)、筋膜間への生理食塩水の注射 (Staud et al. Eur J Pain 2014) などの治療法が臨床的に試みられているが、鎮痛効果については十分とはいえない。近年、筋膜が侵害受容を担うとともに痛覚過敏に寄与すると考えられる非活動性侵害受容器 (silent nociceptor) も存在することが明らかとなった (Taguchi et al., Pain, 2013)。さらに、慢性の肩関節痛では筋膜に異常血管が出現し、その異常血管を経動脈的微小血管塞栓療法 (TAME) により塞栓することで一定の鎮痛効果が得られることが報告された (奥野, Pain Research, 2014)。興味深いことに我々も MPS 患者のエコー検査において筋膜上に高頻度の拍動と低い拍動係数 (PI 値=0.13) で特徴づけられる異常血管と思われる構造が、痛みと一致して出現していることを見いだしている (渡辺, 日本超音波骨軟組織学術研究, 2015)。また、腓腹筋に炎症性物質を投与して痛覚過敏を引き起こす動物を使い、筋膜の異常についての予備実験を行ったところ、生理食塩水では見られない筋膜の異常が炎症性物質投与群で観察されている。

2. 研究の目的

本研究は、MPS の局所に生ずる異常要素を洗い出し、その疼痛発症のメカニズムを探索すること、その治療法を模索することを目的とする。MPS では、筋肉に対する過負荷が筋筋膜の拘縮を引き起こし、結果として筋肉への血流障害による発痛物質の貯留や侵害受容神経線維の感作により持続した痛みが生じると考えられている。我々も少数の例ではあるが MPS 患者において筋膜と思われる領域に異常血管が出現していることを見出した。よって MPS の局所では異常血管が出現し、これによる血流不足で虚血状態となり、虚血に応答する要素が痛み発症の要因となっている可能性がある。

3. 研究の方法

(1) ヒトにおける異常結果の出現を再調査する。具体的には、痛みを感じていない健康長距離ランナーからボランティアを募り、その下腿三頭筋部において MPS の検査を行うとともにパルスドプラエコー検査を実施した。

(2) 虚血応答因子として代表的な血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) に注目して、以下の実験をマウスにて実施した。まず、最初に (1) で観察されたマウスの同等の部位への VEGF の投与にてマウスの痛覚にどのような影響が出るかを von Frey test にて観察した。

(3) この VEGF の効果が VEGFR1 と VEGFR2 のどちらによりもたらされるかを各受容体に対する特異抗体を患部に投与で確認した。また後根神経節における関与する VEGFR の局在を調べ、痛覚受容に中心的役割を担う TRPV1 との共存について検討するとともに、TRPV1 のブロッカーや TRPV1 ノックアウトマウスを使って得られた結果について再確認した。

(4) 最後に MPS の治療についての実験を行なった。臨床ですでに施行されている生食注射を行い、プラセボ効果のないマウスでも生食の効果があるかを見極めた。さらに生食の鎮痛効果のメカニズムを調べるために、TRPV1 チャネルの安定性に関わる塩化ナトリウムの濃度を振って痛覚過敏への影響を観察した。

4. 研究成果

(1) 痛みのない健康長距離ランナーのボランティアにて MPS 診断基準に従い発症頻度の調査を行った。ほぼ全員のボランティアにおいて taut band (筋硬結) および tenderness (圧痛) がみられ、潜在的 MPS 有症者が多いことがわかった (図 1 (A))。さらに調査対象者に対してパルスドプラエコー検査による PI (pulse index) 値を計測したところ、潜在的 MPS 有症群においても活動性 MPS 有症群と同程度の低い PI 値が計測され、無症状群における計測値とは統計学的に有意差が認められた (図 1 (B)(C))。

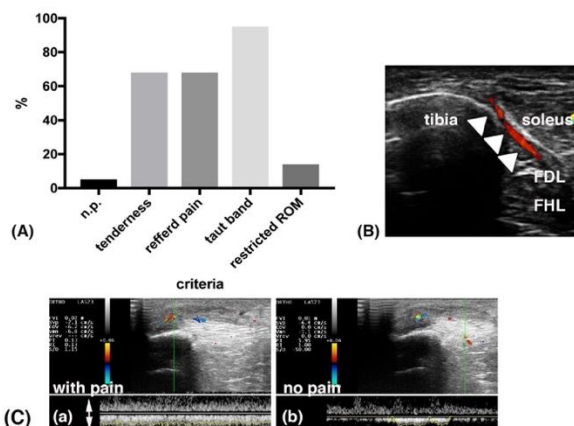


図1 ヒト長距離ランナーにおけるMPS徴候の発生頻度(A)とエコー検査結果(B:カラードプラ, C:パルスドプラ検査)

(2) 次に MPS 発症のメカニズムを探るため、マウスを用いた基礎的な実験に着手した。(1)のヒトの観察より MPS の発症は異常血管とそれによって引き起こされる虚血状態が鍵と考えられた。血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) は虚血の際に放出されることが知られており、本疾患原因分子の最有力候補である。我々はこの VEGF を その下腿三頭筋に投与し MPS の症状が模倣されるかについて調べた。2ng と 10ng 投与の動物では投与 1 日後より機械性疼痛過敏行動を示し (図 2), 投与 2 日後の下腿部には充血がみられた。エコー検査を試みたところ VEGF 投与マウス下腿部には血流増加像が観察された。

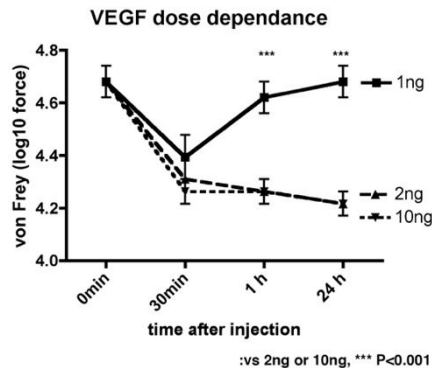


図2 VEGF投与後のマウスにおける痛覚過敏テスト結果

(3) VEGF の筋内投与による機械性痛覚過敏は、VEGFR1 に対する抗体の投与により緩和されたが、VEGFR2 の抗体や VEGFR2 のブロッカー ZM3283131 では効果がなかった。さらにこの VEGF による疼痛過敏は TRPV1 遺伝子欠失マウス (TRPV1-KO) では観察されなかった (図 3)。

以上より、VEGF による疼痛過敏には VEGFR1 および TRPV1 チャネルが関与していると考えられるが、その分布は未知であった。我々はウエスタンブロットによる抗体の評価とともに二重免疫染色を実施し、VEGFR1 と TRPV1 がマウス後根神経節ニューロンで共局在することを確認した (図 4)。

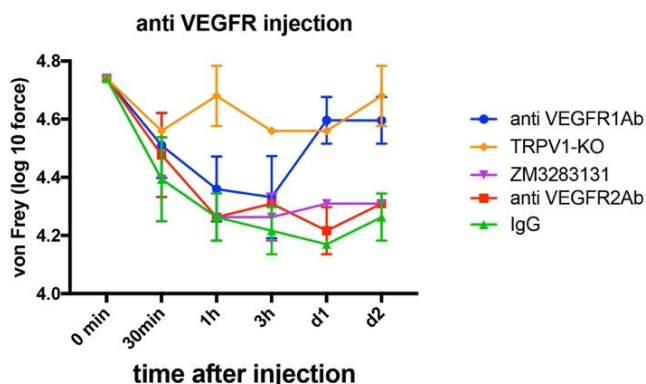


図3 VEGF痛覚過敏動物に対する抗VEGFR1抗体、抗VEGFR2抗体およびVEGFR2ブロッカー投与後の痛覚過敏テスト結果とTRPV1ノックアウト動物へのVEGF投与後の痛覚過敏テスト結果

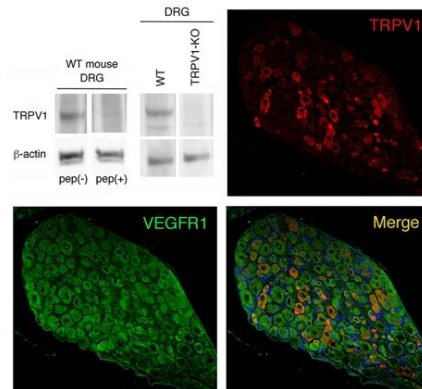


図4 マウス後根神経節ニューロンにおけるウエスタンブロットおよび二重免疫染色結果

(4) MPS の治療について国内ではすでにハイドロリリースと呼ばれる生理食塩水 (生食) を患部に注射する施術が実施され一定の成果を収めている。しかしながらこのメカニズムについての詳細は不明である。さらにこの施術は海外では全く認知されていない。そこで我々はプラセボ効果のない本モデル動物を用いて患部への生食注射の鎮痛効果について客観的に評価することにした。

実験方法の詳細を図 5 (A) に示す。VEGF により疼痛過敏を惹起させた後、その 30 分後に下腿三頭筋内へ生理食塩水注射 (SI) を行なった。2ng VEGF/SI 及び 2ng VEGF/SI (at random) では明らかな疼痛緩和が認められたが、VEGF が高濃度の 5ng VEGF/SI では認められなかった (図 5 (B))。そこで、注射する生食の量を 50 μ l から 100 μ l に増量したところ、一時的ではあるが、機械性痛覚過敏の減弱が観察された (図 5 (C))。以上より、生食の効果は投与する生食の量と関連があることが示唆された。生食の鎮痛効果は、VEGF のような痛みを惹起する因子の希釈によってもたらされているのかもしれない。

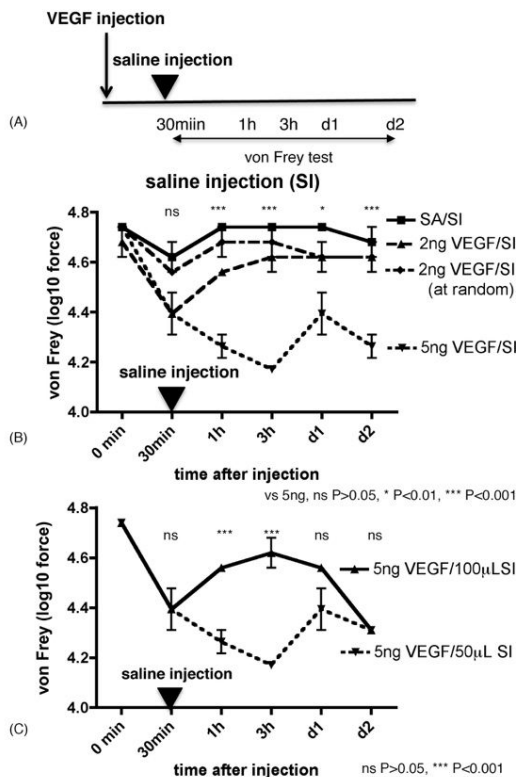


図5 生理食塩水注射による鎮痛効果 (VEGF投与30分後に施術)

(5) 細胞外のナトリウムイオンが TRPV1 を閉じた状態で安定させる (Jara-Oseguera et al, eLIFE, 2016) . そこで我々は生理食塩水に含まれる NaCl の濃度にも注目した . 異なった濃度の食塩水 (NaCl solution) を作製し , モデルマウスの痛覚過敏に対する効果を観察した . 各濃度の食塩水は , 生理食塩水と同じ浸透圧 , pH に調整して使用した . 1.5mM の NaCl 濃度から NaCl 濃度が上がるにつれて痛覚過敏抑制効果が現れ , 生理食塩水の NaCl 濃度の 0.15M で十分な鎮痛効果が確認された . したがって生食の鎮痛効果には NaCl 濃度の濃度が重要であることが明らかとなった (図 6) .

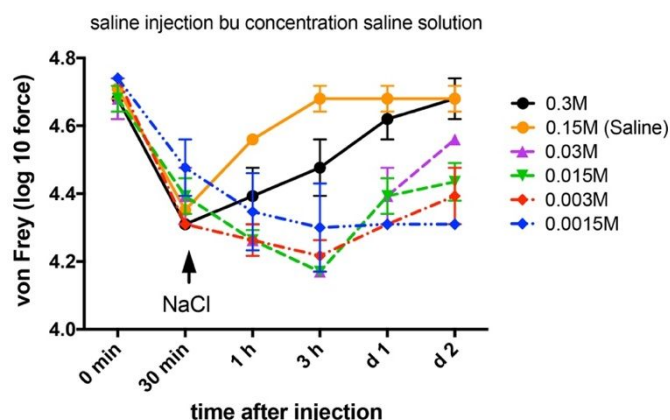


図6 VEGF痛覚過敏動物に対する濃度の異なったNaCl水投与による痛覚過敏抑制効果

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

渡辺正哉, 超音波ガイド下作製 VEGF 痛覚過敏動物モデルに対する食塩水注射 (hydro release) の効果, 理療, 査読有, 185, 2019, 47-56, ISSN:2883627

渡辺正哉, 歩行, ランニングにおける前足接地と踵接地, 理療, 査読有, 185, 2018, 25-45, ISSN:2883627

渡辺正哉, 三輪陽子, 筋膜疼痛症候群 (MPS) (発症メカニズムとエコー検査), 日本超音波骨軟組織学術研究, 査読有, 17 (1), 2017, 29-36, ISSN:13472224

渡辺正哉, 下腿三頭筋断裂既往評価における Elastography 測定の客観性, 日本超音波骨軟組織学術研究, 査読有, 16(1), 2016, 25-26, ISSN:13472224

〔学会発表〕(計4件)

渡辺正哉, 超音波ガイド下作製 VEGF 痛覚過敏動物モデルに対する 食塩水注射 (hydro release) の効果, 日本骨軟組織超音波学会 西日本学術西日本学術集会 (招待講演), 名古屋, 2019

渡辺正哉, 三輪陽子, saline による hydro release の効果, 第 30 回日本整形外科超音波学会, 山形, 2018 年

渡辺正哉, 三輪陽子, 筋膜疼痛 (MPS) の発症メカニズム, 第 29 回日本整形外科超音波学会, 東京, 2017 年

渡辺正哉, 下腿三頭筋断裂既往評価における Elastography 測定の客観性, 日本超音波骨軟組織学会, 大阪, 2016 年

〔図書〕(計1件)

渡辺正哉, 澤田規, 医歯薬出版, 入門 運動器の超音波観察法, 2018, 184

〔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:
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:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：植田 高史

ローマ字氏名：UEDA Takashi

所属研究機関名：名古屋市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：准教授

研究者番号（8桁）：90244540

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。