

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K01539

研究課題名(和文) 習慣的運動による慢性痛予防機序の基礎的解明

研究課題名(英文) Habitual Exercise in the Chronic Pain Prevention: Elucidation of the Mechanism

研究代表者

大道 美香 (OHMACHI, Mika)

金沢医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：30581079

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：運動習慣による慢性痛の予防機序を解明するため、ラットに一定期間の自発運動を行わせた(運動群)後、ギプス固定後慢性痛モデル(CPCP)ラットを作成し、本モデルラットの疼痛シグナル伝達の抑制効果を検証した。運動群では非運動群に比べ、固定側足底の機械痛覚過敏行動が减弱した。ギプス固定2週間目の固定側後肢において酸化損傷を抑制する傾向が認められた。除去後5週目の第4-5腰髄後角において、非運動群で増大した抗c-Fos抗体陽性細胞数が、運動群では有意な減少を認めた。予防的運動による抗酸化能の増大が不活動肢の酸化損傷を予防し、疼痛シグナル伝達を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動習慣による高フィットネス状態がもたらしたCPCPモデルラットに生じた今回の研究成果は、運動習慣が慢性痛発症の予防に繋がる重要性について基礎的根拠となる。さらにこの結果より見出された責任因子は、慢性痛発症予防の理学療法戦略の構築において非常に有益な基盤となりうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the mechanism of prevention of chronic pain using habitual exercise, before creating the chronic post-cast pain (CPCP) model, we stimulated rats to perform voluntary exercise for a certain period of time, and then we evaluated the effect of suppression of pain signal transduction induced by physical disuse. In the exercise group, mechanical hyperalgesic behavior of the hind paw on the immobilized side was attenuated. In addition, a tendency to suppress oxidative damage in the hindlimb of the immobilized side in the second week of cast immobilization was observed. While there was no change in the number of anti-c-Fos antibody-positive cells at the L4-5 dorsal horn neuron in the non-exercise group, in the exercise group, a significant decrease was observed in the fifth week after cast removal. It was suggested that increased antioxidant capacity due to prophylactic exercise may prevent oxidative damage in the disuse hindlimb and inhibit pain signaling.

研究分野：リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：運動習慣 予防 慢性痛 不活動

1. 研究開始当初の背景

身体不活動により病的疼痛を誘発するモデル（ギプス固定後慢性痛：CPCP）ラットに対し、活性酸素除去剤を投与したところ、不活動を強いた後肢の全域（皮膚、筋、筋紡錘、筋膜、骨膜など）で認められた抗 8OHdG 抗体（酸化ストレスマーカー）の免疫応答の増大が抑制される知見を得た¹。さらに除去後に観察される自発痛関連行動や機械痛覚過敏行動の拡大が抑制され、その誘因の一つである腰髄アストロサイトの活性化²も抑制される予備的知見を得た。以上の結果から CPCP モデルラットに生じる機械痛覚過敏行動の発症に固定肢に生じた酸化ストレスが関与することが示唆された。不活動肢に生じる酸化ストレスが身体不活動による慢性痛発症の key 因子となることが予測されたことから、CPCP モデル作成前に運動習慣を構築することで高いフィットネスを獲得することができれば、生体の抗酸化力を高め、CPCP モデルラットの慢性的機械痛覚過敏行動を誘発する可能性が考えられる酸化ストレスに対し抑制的に作用し、その発症予防に働くことが予測された。

2. 研究の目的

本研究は、運動習慣による高いフィットネス状態がもたらす慢性痛予防因子の解明を目的としている。これにあたり以下の3点について検証を行った。

- (1) 予防運動による酸化ストレス抑制効果
- (2) 予防運動による疼痛シグナル伝達抑制効果
- (3) 予防運動による酸化ストレス抑制に関わる分子シグナルの解析

3. 研究の方法

(1) CPCP モデル動物の作成

Wister 系雄ラット (300-400 g) を用い、骨盤から体幹まで片側後肢に 2 週間のギプス固定を行い、ギプス除去することで作成した^{1,3-5}。

(2) 機械痛覚過敏行動の評価

下腿部筋圧痛閾値 (push-pull gauge)、足底部、尾部の皮膚の機械痛覚過敏行動 (von Frey filaments) を経時的に計測した^{1,3-5}。

(3) 自発運動量の測定

ランニングホイール (Activity Wheel with Plastic Home Cage for Rat ENV-FHC046 Med associates 会社) を用いた。運動期間は、2 週間 (run2w) と 4 週間 (run4w) (20:00~8:00) とし、その期間内の運動距離を自発運動量として測定した。

(4) 免疫組織学的解析

動物をペントバルビタール (120mg/kg) で深麻酔し、0.1 M PBS (pH 7.4) を心臓より灌流した。脱血が完了したことを確認した後、ice cold の Zamboni's fixative [0.1 M phosphate buffer saline (PBS) containing 2% paraformaldehyde and 0.2% picric acid] で固定した。脊髄と後肢を採取し、4℃ の Zamboni's fixative に 24 時間浸漬し、後固定した。その後、10、20、30% Sucrose に 4℃ でそれぞれ 1 日ずつの計 3 日間浸漬した後、OCT コンパウンドに凍結包埋し、切片を作成した。ギプス除去後 5 週目において、機械刺激に対する疼痛シグナル抑制効果を抗 c-Fos 抗体 (神経活動マーカー) で、またギプス固定 2 週間目において、固定側後肢を抗 8-OHdG 抗体 (酸化ストレスマーカー) を用いて免疫組織学的に解析をした^{1,2,5}。

4. 研究成果

(1) 予防運動の期間と量の相違による慢性痛予防効果の検証

運動群において、走行距離が多い個体において機械痛覚過敏行動が減弱する傾向が認められた。また 2 週間運動した群よりも 4 週間運動した群が固定側足底の機械痛覚過敏行動が減弱することが明らかとなった (図 1)。以上により、走行期間・距離依存性に慢性痛発症を予防できる可能性が示唆された。

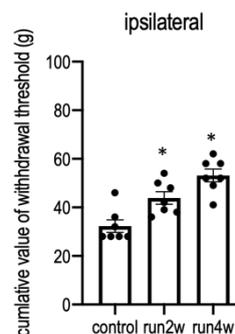


図1：足底の機械痛覚過敏行動閾値の比較
ベースラインからギプス除去後5週目まで

(2) 予防運動による抗酸化効果の検証

ギプス固定 2 週間目の固定側ヒラメ筋を用いて、酸化損傷に対する予防運動の効果を免疫組織学的に解析した。運動量依存性に酸化損傷を抑制する傾向が認められた (図 2)。



図2：固定側ヒラメ筋の80HdG陽性像

(3) 予防運動による疼痛シグナル伝達抑制効果の検証

機械痛覚過敏行動の減弱が確認された (ギプス除去後 5 週目) において、機械刺激に対する疼痛シグナル抑制効果を免疫組織学的に解析した。腓腹筋部への機械刺激入力に対し、運動群では非運動群に比べ、第 4-5 腰髄後角の抗 c-Fos 抗体陽性細胞数が有意に減少することが明らかとなった (図 3)。

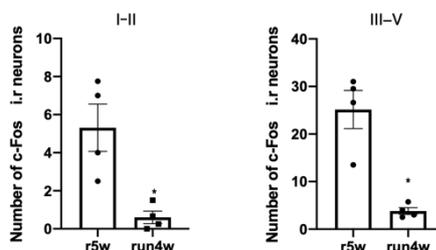


図3：第4-5腰髄後角 抗 c-Fos陽性細胞数

(4) 予防運動による酸化ストレス抑制に関わる分子シグナルの解析

CPCP モデルラットのヒラメ筋においてギプス除去後に増大する NOX1、4 (スーパーオキシド産生酵素) mRNA が予防運動により抑制される傾向を捉えつつある。また活性酸素種の受容体である TRPM2、TRPA1 の変化についても引き続き検証を進める。

Summary

予防運動による抗酸化能の増大が不活動肢の酸化損傷を予防し、疼痛シグナル伝達を抑制する可能性が示唆された。

〈引用文献〉

- 1 Ohmichi, Y., Ohmichi, M. & Naito, M. The superoxide scavenger tempol attenuates DNA oxidative injury and spontaneous pain-like behavior in chronic post-cast pain model rats. *Biochemical and biophysical research communications* **533**, 745-750, doi:10.1016/j.bbrc.2020.09.044 (2020).
- 2 Ohmichi, M. *et al.* Activated spinal astrocytes are involved in the maintenance of chronic widespread mechanical hyperalgesia after cast immobilization. *Mol Pain* **10**, 6, doi:10.1186/1744-8069-10-6 (2014).
- 3 Ohmichi, Y. *et al.* Two-week cast immobilization induced chronic widespread hyperalgesia in rats. *Eur J Pain* **16**, 338-348, doi:10.1002/j.1532-2149.2011.00026.x (2012).
- 4 Ohmichi, Y. *et al.* Therapeutic effects of diclofenac, pregabalin, and duloxetine on disuse-induced chronic musculoskeletal pain in rats. *Sci Rep* **8**, 3311, doi:10.1038/s41598-018-21429-3 (2018).
- 5 Ohmichi, Y. *et al.* Physical disuse contributes to widespread chronic mechanical hyperalgesia, tactile allodynia, and cold allodynia through neurogenic inflammation and spino-parabrachio-amygdaloid pathway activation. *Pain* **161**, 1808-1823, doi:10.1097/j.pain.0000000000001867 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ohmichi Yusuke, Ohmichi Mika, Naito Munekazu	4. 巻 533
2. 論文標題 The superoxide scavenger tempol attenuates DNA oxidative injury and spontaneous pain-like behavior in chronic post-cast pain model rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 745 ~ 750
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.09.044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimoto Takahiko, Sakurai Hiroki, Ohmichi Yusuke, Ohmichi Mika, Morimoto Atsuko, Ushida Takahiro, Sato Jun	4. 巻 16
2. 論文標題 Changes in cardiovascular parameters in rats exposed to chronic widespread mechanical allodynia induced by hind limb cast immobilization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0245544	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohmichi Yusuke, Ohmichi Mika, Tashima Ryoichi, Osuka Koji, Fukushige Kaori, Kanikowska Dominika, Fukazawa Yugo, Yawo Hiromu, Tsuda Makoto, Naito Munekazu, Nakano Takashi	4. 巻 161
2. 論文標題 Physical disuse contributes to widespread chronic mechanical hyperalgesia, tactile allodynia, and cold allodynia through neurogenic inflammation and spino-parabrachio-amygdaloid pathway activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pain	6. 最初と最後の頁 1808 ~ 1823
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/j.pain.0000000000001867	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大道裕介
2. 発表標題 痛みへ治療介入と神経基盤
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大道美香
2. 発表標題 身体不活動による自発痛関連行動と不快情動関連応答 扁桃体基底外側核の活性化と遊離ドパミンの変化
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Ohmichi
2. 発表標題 Therapeutic effects of diclofenac, pregabalin, and duloxetine on disuse-induced chronic, musculoskeletal pain in rats
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Ohmichi
2. 発表標題 Therapeutic effects of diclofenac, pregabalin, and duloxetine on disuse-induced chronic musculoskeletal pain in rats
3. 学会等名 17th World congress on Pain
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大道裕介
2. 発表標題 ラットにおける後肢不動後の自発痛関連行動と脱毛は酸化ストレスに起因する
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	内藤 宗和 (NAITO Munekazu) (10384984)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	
研究分担者	大道 裕介 (OHMICHI Yusuke) (50506673)	金沢医科大学・医学部・准教授 (33303)	
研究分担者	安井 正佐也 (YASUI Masaya) (10723695)	愛知医科大学・医学部・助教 (33920)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
ポーランド	Poznan University of Medical Sciences		