

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08851

研究課題名（和文）神経新生、血管新生からみた新しい術後痛モデルの開発

研究課題名（英文）A new postoperative pain model based on neurogenesis and angiogenesis.

研究代表者

石田 公美子（松尾公美子）（Ishida, Kumiko）

信州大学・学術研究院医学系（医学部附属病院）・助教

研究者番号：80467191

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）：Brennanらにより報告された足底切開モデルは、基礎研究において広く用いられる術後痛モデルである。我々は、ラットを用いて、炎症モデルと足底切開モデルを組み合わせた新たな術後痛モデルを作成した。行動試験により、疼痛行動の遷延化を確認し、免疫組織染色により末梢組織における神経新生、血管新生を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

手術を必要とする腫瘍性・炎症性の原疾患の病巣では、虚血、炎症、神経原性炎症、免疫応答などに伴い、血管新生と神経新生が生じている。すなわち、Brennanモデルにおける創部（皮膚、皮下、筋肉）への切開は外傷痛モデルに過ぎず、病巣部の新生神経や新生血管の障害による神経障害性疼痛、虚血性疼痛、炎症性疼痛などが複合的に関与した、真の術後痛モデルの確立が求められる。本研究では、これら複合的な疼痛状態である新たな手術後痛モデルを作成し、術後痛における神経障害や新生血管障害による痛みのメカニズムを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The plantar incision model reported by Brennan et al. is a widely used postoperative pain model in basic research. We made a new postoperative pain model in rats by combining an inflammatory pain model and an incisional pain model. Nociceptive pain behaviors were prolonged in our new postoperative pain model. Immunohistochemical study showed neurogenesis and angiogenesis in the peripheral tissues.

研究分野：手術後痛

キーワード：神経新生 血管新生 術後痛 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 手術操作により組織が損傷を受けると、末梢の侵害受容器が刺激され、脊髄後角の神経終末よりアミノ酸、ペプチドなど様々な種類の興奮性伝達物質が放出される。同時に複数の受容体が活性化することで細胞内シグナル伝達を介し、脊髄の過剰興奮を来し疼痛シグナルは高位中枢へ伝達される。一方で軸索反射により逆行性に興奮性神経伝達物質が放出され、末梢において痛覚線維の感受性が亢進する。組織の炎症や神経損傷は疼痛シグナルの活性化を遷延させ、ケミカルメディエーターを放出して血管透過性の亢進、浮腫、炎症細胞の浸潤を引き起こす。

(2) 外傷は短時間の一過性外力による傷害である。一方、手術侵襲は、傷害部位から深部にかけて手術中に何度も外傷が長時間にわたり繰り返される。膝関節炎や癌、神経障害では、末梢組織や脊髄後角において感覚神経の新生や増殖が生じ、疼痛範囲の拡大や痛みの増強に関与している (Mantyh WG et al. 2010, Lai BQ et al. 2015)。手術操作は、このような炎症や虚血、腫瘍により末梢組織から中枢神経系に神経新生や神経のリモデリングが生じている組織に対して、傷害部位から深部にかけて物理的な刺激が長時間にわたり何度も繰り返され、術中に微小神経障害や組織の虚血が大きいと推察される。実際、我々の予備実験では、complete Freund adjuvant (CFA)をラットの足底に注射した慢性炎症性疼痛モデルを作製し、足底の浮腫や痛覚過敏が完全に消失した28日後に足底を切開すると、通常3-4日で消失する痛覚過敏が28日以上、痛みが増強し、かつ長時間持続し、新たな術後痛モデルとして期待できる。

2. 研究の目的

Brennanらにより報告された足底切開モデルは、基礎研究において広く用いられる術後痛モデルである。このモデルを用いた研究から、術後痛が慢性炎症による痛みなどと機序が大きく異なることが示されてきた (Brian DD et al. 2015)。しかし、手術を必要とする腫瘍性・炎症性の原疾患の病巣では、虚血、炎症、神経原性炎症、免疫応答などに伴い、血管新生と神経新生が生じている (Bloom et al. 2011)。すなわち、Brennanモデルにおける創部(皮膚、皮下、筋肉)への切開は外傷痛モデルに過ぎず、病巣部の新生神経や新生血管の障害による神経障害性疼痛、虚血性疼痛、炎症性疼痛などが複合的に関与した、真の術後痛モデルの確立が求められる。本研究は、(1)これら複合的な疼痛状態である新たな手術後痛モデルを確立し、(2)術後痛における神経障害や新生血管障害による痛みのメカニズムを明らかにし、新たな鎮痛法の開発を目指すものである。

3. 研究の方法

ラットにおける行動生理学的検討と生化学的定量を行い、炎症性疼痛モデルと足底切開モデルを組み合わせたあらたな術後痛モデルを作製し、従来の足底切開モデルと比較して神経新生や血管新生への関与を解析する。

(1) 術後痛モデルの作製と疼痛行動や浮腫の評価

ラットの足底に complete Freund adjuvant (CFA)などの炎症惹起物質を投与し、炎症性疼痛モデルを作製した。自発痛、侵害性機械刺激(von Frey フィラメント)に対する疼痛閾値、侵害性熱刺激に対する逃避潜時を経時的に記録した。疼痛閾値が改善した時点で足底の皮膚、筋膜、一部筋肉を切開する足底切開モデルを作製し、同様に疼痛行動を記録した。同時に、疼痛部位(足

底)の浮腫を経時的に記録した。

(2)術後痛モデルの末梢組織における神経新生、血管新生の検討

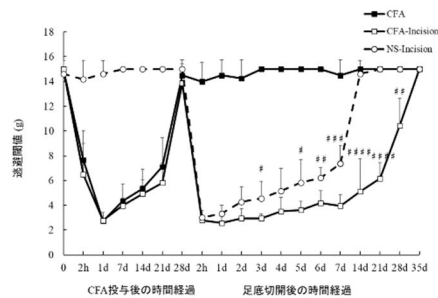
4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し、術後痛モデルラットの皮膚・皮下組織、筋肉を取り出し、各種神経新生、血管新生のマーカーを用いて免疫組織学的検討を行った。

4. 研究成果

(1)術後痛モデルにおける自発痛、機械性痛覚過敏、熱性痛覚過敏の経時変化

自発痛の指標である Guarding Pain Score (GPS)は、従来の足底切開モデル(NS-Incision 群)と比較して、CFA投与後の足底切開モデル(CFA-Incision 群)では、足底切開7日後まで有意に増加した。侵害性機械刺激に対する逃避閾値は、NS-Incision 群と比較してCFA-Incision 群では、足底切開28日後まで有意に低下した(図)。侵害性熱刺激に対する逃避潜時は、NS-Incision 群と比較して、CFA-Incision 群は足底切開後6-7日後に有意に低下した、

以上より、炎症と足底切開を組み合わせた新たな術後痛モデルにおいて、足底切開後に、自発痛、機械性痛覚過敏、熱性痛覚過敏が従来の足底切開モデルと比較して遷延化することが示された。



(2)術後痛モデルにおける後肢腫脹の検討

患側と健側の足底径比は、NS-Incision 群と比較して、CFA-Incision 群の方が、足底切開3-5日後まで有意に増加していた。本結果より、炎症と足底切開を組み合わせた新たな術後痛モデルでは、従来の足底切開モデルと比較して後肢の腫脹が強く、末梢の炎症反応が増強している可能性が示された。

(3)免疫組織染色による末梢組織での神経新生、血管新生の検討

足底の末梢組織における免疫組織染色において、calcitonin gene-related peptide (CGRP)の発現は、足底切開後CFA-Incision 群の方がNS-Incision 群と比較して有意に増加した。一方、neurofilament 200 kDa (NF200)の発現は、NS-Incision 群、CFA-Incision 群間に差はなかった。またplatelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM)の発現は、NS-Incision 群と比較してCFA-Incision 群の方が足底切開後に有意に増加していた。以上より、炎症と足底切開を組み合わせた新たな術後痛モデルは、従来の術後痛モデルと比較して、末梢組織において、神経新生・血管新生が増大していることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 布施谷仁志、石田公美子、石田高志、田中聡、川真田樹人	4. 巻 41
2. 論文標題 急性術後痛が遷延化するメカニズム	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ペインクリニック	6. 最初と最後の頁 1035-44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 川真田 樹人、石田 高志、石田 公美子、田中 聡	4. 巻 43
2. 論文標題 術後痛の発生メカニズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床麻酔	6. 最初と最後の頁 332-338
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 石田 公美子、川真田 樹人	4. 巻 38
2. 論文標題 カルシトニン遺伝子関連ペプチドの作用から考える術後痛モデルのメカニズム - 炎症性疼痛モデルと比較して -	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本臨床麻酔学会誌	6. 最初と最後の頁 397-404
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 石田 高志、石田 公美子、川真田 樹人	4. 巻 25
2. 論文標題 術後痛へのCGRPの関与	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 LiSA別冊	6. 最初と最後の頁 85-90
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	石田 高志 (Ishida Takashi) (60531952)	信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師 (13601)	

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
---------	---------