

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：33111

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17734

研究課題名(和文) 不活動性疼痛のメカニズムの解明と予防・治療戦略の開発 - 電気生理学的手法を用いて -

研究課題名(英文) Investigation of the mechanism of immobilization-induced pain and development of the preventive and therapeutic strategies

研究代表者

濱上 陽平 (HAMAUE, Yohei)

新潟医療福祉大学・リハビリテーション学部・助教

研究者番号：20756374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、不活動が原因で生じる「不活動性疼痛」の病態メカニズムを解明することである。近年、四肢の一部、あるいは全身の不活動が運動器慢性疼痛の発生要因であると認識されるようになった。しかし、その病態は不明な点が多く、特に末梢神経機構に関する報告は皆無である。本研究では、ラット足関節を不動化した実験的不活動モデルを用い、固定期間終了後、固定側の足底皮下にCGRP受容体拮抗薬を投与し、機械刺激および熱刺激に対する逃避閾値の測定を行った。その結果、不活動性疼痛モデルの機械・熱痛寛過敏には末梢組織でのCGRPが関与することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ギプス固定などに伴う四肢の一部の不動化は、末梢組織の変調をきたすことにより痛みが生じることが推察される。本研究は、不活動性疼痛の末梢メカニズム解明の一端を担っており、さらに治療開発や新規薬剤開発を進めるうえで十分に意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the induction of hyperalgesia in the joint immobilization-induced pain model in rats. Recently, experimental limb immobilization has been shown to cause mechanical nociceptive hypersensitivities in humans and animals. However, the mechanism underlying immobilization-induced pain remains unclear and there are no reports on peripheral nerve system. In the present study, immobilization-induced mechanical and thermal hypersensitivity was inhibited by administration of the selective CGRP-receptor antagonist. The result suggested that increase of CGRP in peripheral tissues contributed to immobilization-induced hypersensitivity.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：不活動 痛み CGRP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、骨折後のギプス固定などに伴う四肢の一部の不動、あるいは安静臥床に伴う全身の不活動が運動器慢性疼痛を惹起することが明らかになっている。本邦では成人人口の 15.4% が運動器慢性疼痛を有しており、医療経済的に多大な損失を生じている。今後、さらなる高齢化社会に向かう我が国において、運動器慢性疼痛患者の増加は大きな社会問題になることが予想される。よって、不活動性疼痛の病態ならびに発生メカニズムを解明することは、運動器慢性疼痛の予防・治療戦略開発の観点から極めて重要である。そこで、我々はこれまでにラットの足関節をギプス固定した不活動モデルを用い、不活動性疼痛の詳細な発生過程や病態を解明してきた。その結果、不動開始 2 週目から痛みが発生し始め、その後、不動期間の延長とともに疼痛が増悪することがわかった。また、その病態を解明するため組織学的観察を行ったところ、足底の表皮における A 線維や痛覚伝達を担う C 線維の側枝発芽や、神経栄養因子 (NGF)、TRPV1、P2X3 などの痛み関連物質 / イオンチャネルの発現増加が観察された。また、脊髄後角では中枢性感作作用をもち、一次求心性神経の伝達物質であるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の発現増加を明らかにしている (図 1)。CGRP は一次求心性神経の細胞体 (後根神経節) で産生され、そのほとんど (95%) が末梢神経末端から放出されることを考慮すると、脊髄よりも末梢組織での感作作用が大きいと予想できる。これらの結果より、不活動性疼痛モデルでは痛覚関連物質 / イオンチャネルの発現増大により痛覚線維や脊髄後角ニューロンが感作され、痛覚過敏を生じる可能性が示唆される。しかし、これまでに痛覚受容・伝達に関わる末梢侵害受容器や脊髄後角表層細胞に生じる刺激応答変化を電気生理学的に実証した研究はない。よって、これらを明らかにすることは、不活動性疼痛の病態解明に必須であり、その予防・治療法の開発に不可欠である。

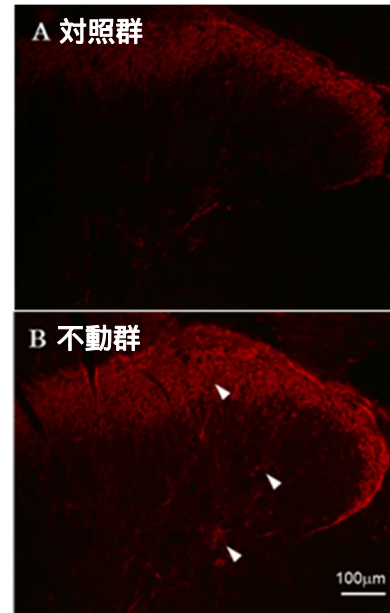


図 1. 脊髄後角における CGRP の発現

### 2. 研究の目的

研究開始当初の目的は、不活動性疼痛の病態機構解明、およびその予防・治療戦略確立のため、不活動性疼痛の実験モデルラットを用い末梢痛覚受容器と脊髄後角ニューロンの動態変化を電気生理学的解析を基軸に解明することであった。しかし本研究では、その前段階として、不活動性疼痛の発症・増悪に関わる主要な責任分子であると考えられる CGRP の、末梢神経における関与を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1) 行動薬理学実験

実験動物に 8 週齢の SD ラット 24 匹を用いた。実験動物を 4 週間の不動期間終了後に CGRP 受容体拮抗薬である CGRP8-37 を  $1.0 \times 10^{-7}$  M の濃度で皮下投与する群 (CGRP8-37 ( $10^{-7}$  M) 群、 $n = 8$ )、不動期間終了後に CGRP8-37 を  $1.0 \times 10^{-5}$  M の濃度で皮下投与する群 (CGRP8-37 ( $10^{-5}$  M) 群、 $n = 8$ )、不動期間終了後に疑似処置として溶媒のみを投与する群 (Vehicle 群、 $n = 8$ ) に振り分けた。

#### 2) 不活動性疼痛モデル

麻酔下で一側足関節を最大底屈位とし、前足部から膝関節上部までギプスで固定し不活動性疼痛の実験モデルを作製した。不動期間は痛覚閾値の低下が確認されている 4 週間とした。

#### 3) 痛みの測定

不動期間中は週に一回の頻度で、また不動期間終了後は、CGRP8-37 投与 0.5、1、3、5、24 時間後に機械刺激に対する逃避閾値の測定 (von Frey test) と熱刺激に対する逃避潜時の計測 (Hargreaves' test) を不動側足底部に対し行った。von Frey test は、 $4g \cdot 15g$  の von Frey filament を用いた逃避反応回数の測定ならびに、von Frey 式電子痛覚測定装置を用いた逃避閾値の測定を行った。Hargreaves' test は、Hargreaves 式熱刺激装置を用い、逃避反応が出現するまでの潜時を測定した。

#### 4) CGRP 受容体拮抗薬

CGRP 受容体拮抗薬として、濃度  $1.0 \times 10^{-7}$  M または  $1.0 \times 10^{-5}$  M の CGRP8-37 (C2806、Sigma-Aldrich) を用いた。拮抗薬の溶媒として、濃度 0.01 M の PBS を用いた。薬剤はラットの左後肢足底中央部に皮下投与し、投与量は  $20 \mu\text{l}$  とした。

#### 4. 研究成果

##### 1) von Frey test

すべての群において、不動開始前と比較して不動 2 週後より逃避反応の出現回数は有意に増加した (図 2A,B)。行動薬理実験の結果、4g の機械刺激に対しては投与 0.5 時間後、15g の機械刺激に対しては CGRP8-37 投与 1 時間後に、CGRP8-37 を投与した 2 群は、Vehicle 群と比較して逃避反応の出現回数が有意に低値を示した (図 2A,B)。また、機械刺激に対する逃避閾値においては、不動開始前と比較して不動 1 週後より逃避閾値は有意に低下した (図 2C)。行動薬理実験の結果、CGRP8-37 ( $10^{-7}$  M) 群は CGRP8-37 投与後 1~3 時間、CGRP8-37 ( $10^{-5}$  M) 群は CGRP8-37 投与後 0.5~1 時間、Vehicle 群と比較して逃避閾値は有意に高値を示した (図 2C)。実験期間を通して CGRP8-37 ( $10^{-7}$  M) 群と CGRP8-37 ( $10^{-5}$  M) 群の間に有意な差はみられなかった (図 2A-C)。

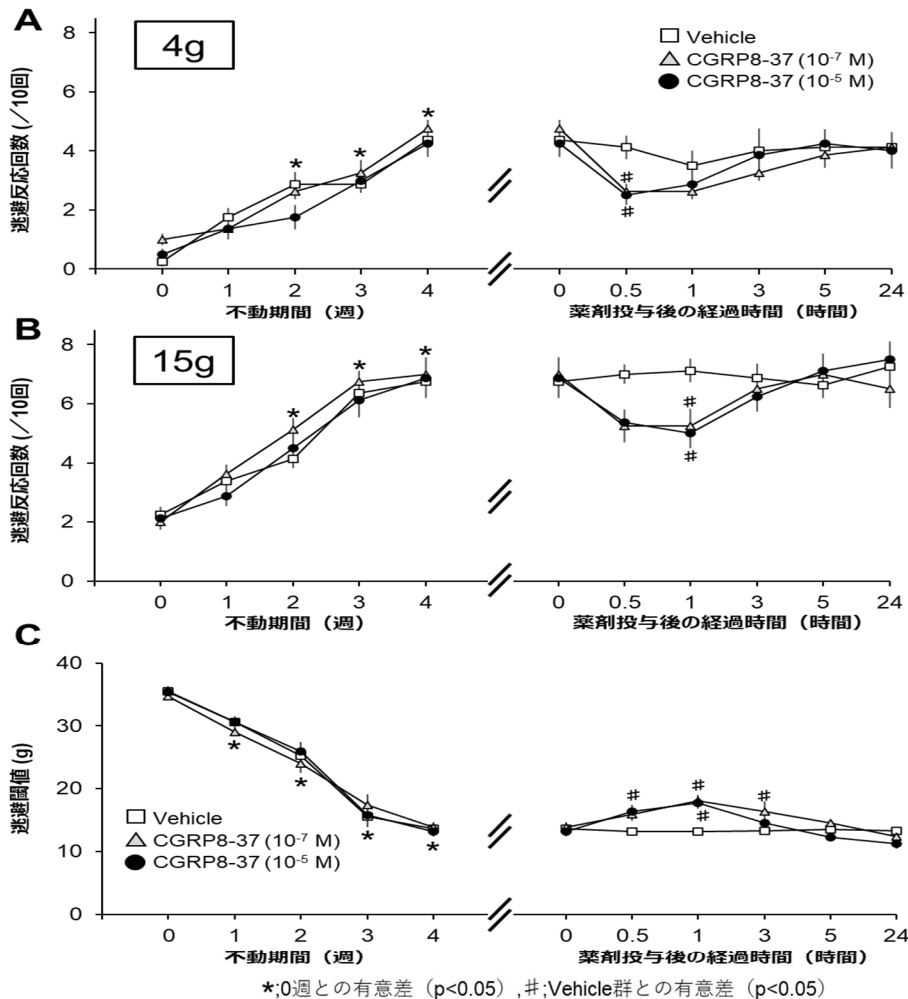


図 2.機械刺激に対する痛覚閾値の推移

##### 2) Hargreaves' test

不動開始前と比較して不動 1 週後より逃避反応が出現するまでの潜時は有意に低下した。行動薬理実験の結果、CGRP8-37 投与 0.5~1 時間後に、CGRP8-37 を投与した 2 群は、Vehicle 群と比較して潜時は有意に高値を示した (図 3)。実験期間を通して CGRP8-37 ( $10^{-7}$  M) 群と CGRP8-37 ( $10^{-5}$  M) 群の間に有意な差はみられなかった (図 3)。

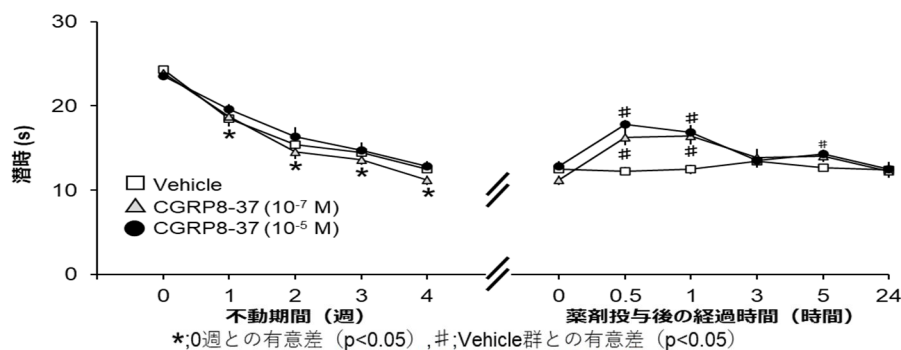


図 3.熱刺激に対する潜時の推移

以上の結果より、不活動性疼痛モデルの機械・熱痛覚過敏には末梢組織での CGRP が関与することが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 濱上陽平, 太田大樹, 田口徹
2. 発表標題 ラット不活動性疼痛モデルにおけるCGRP受容体拮抗薬の鎮痛効果
3. 学会等名 第66回中部日本生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱上陽平
2. 発表標題 振動刺激は不活動性疼痛モデルラットの痛覚閾値の低下を抑制する
3. 学会等名 第19回新潟医療福祉学会学術集会
4. 発表年 2019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