

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03751

研究課題名（和文）リバーストランスレーショナルアプローチによる動物の脳波による痛み評価法の確立

研究課題名（英文）Establishment of a reverse translational approach to assess pain by EEG in animals.

研究代表者

中江 文（Nakae, Aya）

福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・特命教授

研究者番号：60379170

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：脳波を用いた痛み評価の標準化の前提となる動物モデルの行動評価による痛みのラベリングには、行動変化が大きくばらつきが小さい急性期のマウス足底皮弁モデルが適切であると考えられた。その後継続して評価することにより同一個体で急性期から慢性期への移行についても評価可能である。マウスに脳波電極を装着する際には、痛み関連脳領域の中でも術後痛の遷延化で変化をきたした領域を選択することが適切であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳波を用いた痛み評価の標準化の前提となる動物モデルの行動評価による痛みのラベリングには行動変化が大きくばらつきが小さいマウス足底皮弁モデルが適切であることを見出したことが、学術的意義である。この知見を動物の痛みの評価法に応用して臨床に還元していくことが、社会的意義である。

研究成果の概要（英文）：The mouse plantar flap model in the acute phase, which exhibits large behavioral changes and small variability, was considered appropriate for pain labeling by behavioral evaluation of animal models, which is a premise for standardization of pain evaluation using electroencephalograms. It is possible to evaluate the transition from the acute phase to the chronic phase in the same mouse. When attaching EEG electrodes to mice, it was considered appropriate to select the pain-related brain regions that showed changes due to the prolongation of postoperative pain.

研究分野：疼痛医学

キーワード：痛み 動物モデル 評価法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでの痛みの動物実験では、機械刺激や熱刺激など刺激に対する動物の行動の変化により痛みの評価を行うことが一般的であったが、行動評価の環境や条件の違いがその結果に大きく影響するため、安定した動物の痛み評価が求められる状況であった。その状況を打開するために、動物の痛み評価において行動評価ではなく脳波の変化を用いて評価する手法は一つの候補と考えられる。脳波による痛み評価を標準化することで、鎮痛薬の効果も定量的に評価することが可能となる。痛み評価の標準化にあたり、まず痛みの変化に伴う共通の脳波変化を見出さなければならず、そのために脳波を用いた評価の前提となる動物モデルの行動評価による痛みのラベリングが必須とあるが、その動物モデルは行動評価において変化が大きく明瞭でしかも個体間でばらつきが小さいことが求められる。脳波による痛み評価の標準化に適合する痛みに対する行動変化が安定した動物モデルの検証を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究では動物の痛み評価の標準化を目指し脳波を用いた評価アルゴリズムの開発を目的とするものである。その痛み評価の標準化にあたり、脳波を用いた評価の前提となる動物モデルの行動評価による痛みのラベリングが必須であるため、脳波による痛み評価の標準化に適合する痛みに対する行動変化が安定した動物モデルの検証を行う。また、マウスに脳波電極を装着する際に痛み関連脳領域の中のどの領域を選択すべきかを MRI 拡散テンソルトラクトグラフィを用いて検討した。

3. 研究の方法

(1) マウス足底皮弁モデルは、足底周囲を切開して足底皮膚を全体的に反転させた後に元に戻す手術を行うことで作成した。痛みの評価は、術後 4 週まで足底皮膚への von Frey filament による機械刺激に対する回避行動の観察で行った。手術前、急性期、慢性期で痛みに対する行動の変化を区別できるかを検討した。

(2) マウス足底皮膚切開モデルは、足底皮膚に縦切開を加え、さらに足底の筋肉を縦切開する場合としない場合で検討した。術後 4 週まで足底皮膚への von Frey filament による機械刺激に対する回避行動の観察とともに、足底皮弁モデルと比較した。

(3) マウス坐骨神経絞扼モデルは、坐骨神経を糸で 2 か所絞扼させることで作成した。術後 4 週まで足底皮膚への von Frey filament による機械刺激に対する回避行動の観察とともに、足底皮弁モデルと比較した。

(4) 急性期のマウス足底皮弁モデルで急性期痛の代表的な鎮痛薬であるブプレノルフィン、メロキシカムを投与して、足底皮膚への von Frey filament による機械刺激に対する回避行動の変化を観察した。

(5) MRI 拡散テンソルトラクトグラフィの解析を行うに際して、マウス足底皮弁モデルを作成して、術後 4 週の行動評価で術後遷延痛を認めた足底皮弁作成群と痛みなし無処置群の 2 群のマウスについてホルマリン固定を行った。固定標本に対して MRI 撮像を行った。

(6) MRI 撮像は、11.7 T-MRI スキャナーを使用し、スピンエコーシーケンスを用いて、拡散テンソル画像を Coronal で 6 方向での傾斜磁場について行った。神経線維の定量的評価は MRI 拡散テンソルトラクトグラフィを用いて行った。MRI 拡散テンソルトラクトグラフィは、神経線維での水分子の拡散異方性の性質を利用して神経線維の走行を可視化する画像法である。白質神経線維周囲の水分子では神経線維と並行な方向以外の動きは制限されて、拡散異方性が強くなる一方、例えば脳脊髄液周囲の水分子は動きに制限がなく拡散異方性が弱くなる。この拡散異方性を可視化するものである。

(7) 解析対象の痛み関連脳領域は、一次体性感覚野、二次体性感覚野、一次運動野、二次運動野、視床、視床後腹側核、視床背内側核、前頭前野、前頭眼窩皮質、前帯状回、島皮質、扁桃核、腹側被蓋野、側坐核、中脳水道灰白質、青斑核、縫線核、海馬、線条体、腕傍核、視床下部室傍核の 21 領域とした。

4. 研究成果

(1) マウス足底皮弁モデルは急性期である術後 1 週間までは手術前に比べ痛みに対する行動変化が大きく明瞭でしかも個体間でばらつきが小さかった。慢性期に移行する術後 2 週間で痛みに対する行動変化が小さくなるものの個体間でばらつきが小さかった。手術前、急性期、慢性期で痛みに対する行動の変化の区別は可能であった。脳波を用いた評価の前提となる動物モデル

の行動評価による痛みのラベリングには、行動変化が大きく明瞭でしかも個体間でばらつきが少ない急性期のマウス足底皮弁モデルが適切であると考えられた。その後継続して観察することにより同一個体で急性期から慢性期への移行についても評価可能であると考えられた。

(2) 足底皮膚切開モデルは、足底の筋肉を縦切開した群が縦切開をしなかった群よりも行動変化が大きく個体間でばらつきが小さいものの、急性期である術後3日まで行動変化が小さくなり、急性期のみでの評価となることが分かった。行動変化が小さいことより、急性期において足底皮弁モデルの方が痛みのラベリング動物モデルとして適切であると考えられた。

(3) 坐骨神経絞扼モデルは、術後3日～1週間程度で行動変化が出現して徐々に大きくなり術後4週まで継続した。慢性期においては行動変化が大きく明瞭であるが個体間でばらつきが大きかった。慢性期において、足底皮弁モデルの方が行動変化は小さいものの個体間でばらつきは小さいので、慢性期の痛みのラベリング動物モデルとしては足底皮弁モデルの方が適切であると考えられた。

(4) 急性期のマウス足底皮弁モデルにおいて、メロキシカムよりもブプレノルフィンの方が行動変化は大きく個体間でばらつきも小さかった。痛みのラベリングに関してはブプレノルフィンを使用するのが適切であると考えられた。

(5) 解析した21領域中有意差を認めたのは8領域で、一次体性感覚野、二次体性感覚野、一次運動野、視床、視床後腹側核、視床背内側核、前頭眼窩皮質、島皮質であった。

(6) 解析した21領域中有意差を認めなかったのは13領域で、二次運動野、前頭前野、前帯状回、扁桃体、腹側被蓋野、側坐核、中脳水道灰白質、青斑核、縫線核、海馬、線条体、腕傍核、視床下部室傍核であった。

(7) 痛み評価の標準化を検討するためにマウスに脳波電極を装着する際には、痛み関連脳領域の中でも術後痛の遷延化で変化をきたした領域を選択することが適切であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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	熊谷 雄太郎 (Kumagai Yutaro) (00528408)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員 (82626)	
研究分担者	中井 國博 (Nakai Kunihiro) (80362705)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・准教授 (13401)	

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