

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11377

研究課題名（和文）身体不活動による病的疼痛の光遺伝学的解析と理学療法効果の科学的検証

研究課題名（英文）Elucidation and application of mechanisms for pain signal induction and modulation caused by physical disuse

研究代表者

大道 裕介（OHMACHI, Yusuke）

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50506673

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）：本研究では、ギプス固定後慢性痛（CPCP）ラットモデルを用いて、身体不活動が引き起こす病的疼痛の発症機序について理解を深め、その中でA線維の役割を探索した。身体不活動は末梢性痛覚信号や中枢性疼痛経路の活性化を引き起こし、これらが病的疼痛に寄与することを明らかにした。不動化した肢の骨格筋で生成されるスーパーオキシドが末梢性疼痛信号の源となり、病的疼痛の原因となる可能性が示唆された。光遺伝学的手法により、CPCPラットモデルの病的疼痛においてA線維に由来する触覚アロディニアが発現していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究は、身体不活動が引き起こす慢性疼痛の機序を明らかにするという重要なステップであり、CPCPラットモデルを使用してその過程を研究した。学術的には、世界的にも新規性のある本研究は、身体不活動が引き起こす痛みの生理学的プロセスを深く理解するための重要な第一段階である。社会的には、慢性疼痛を抱える多くの人々の日常生活の質を改善し、新たな治療法を開発する可能性に繋がる重要な意義を持つ研究と評価している。加えて、新型コロナウイルスの大流行による自宅待機の増加が身体不活動を増加させる可能性があるため、この研究は公衆衛生の観点からも重要性が増している。

研究成果の概要（英文）：This study, utilizing the chronic post-cast pain (CPCP) rat model, aimed to deepen our understanding of the pathogenesis of pain caused by physical disuse, while investigating the role of A fibers. It was revealed that physical disuse triggers the activation of peripheral pain signals and central pain pathways, contributing to pain behaviors. Superoxides produced in the skeletal muscles of immobilized limbs were suggested to serve as a source of peripheral pain signals, potentially causing chronic pain. Using optogenetic techniques, it was clarified that tactile allodynia, originated from A fibers, is manifested in pathological pain in the CPCP rat model.

研究分野：疼痛学

キーワード：慢性痛 身体不活動 光遺伝学 アロディニア 理学療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

身体に痛みが生じると、動かすことで生じる痛みを恐れをなし(運動恐怖症)この痛みを回避しようと身体不活動に陥り、痛みの悪循環を形成する。身体不活動が慢性痛を引き越す機序を解明するために、臨床病態を再現するギプス固定後慢性痛(CPCP)モデルラットを開発した。このモデルでは、固定除去後に自発痛関連行動や機械痛覚過敏があり、固定部だけでなく非固定部にも拡大する。しかし、その発生機序は不明である。特に以下の3つの問いに焦点を当てた。一つ目は、不活動中の病態変化が、不動解除後の機械痛覚過敏に影響するかという点である。二つ目は、ギプス固定後慢性痛モデルの機械痛覚過敏が触覚アロディニアを含むかどうかである。三つ目は、理学療法刺激が、不動中の病態変化や触覚アロディニアを抑制できるかどうかである。これらの問いの解答は、まだ出されていなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、身体不活動が引き起こす痛みの発症について、CPCPモデル処置によって片側後肢不動中に進行する痛覚系の病態変化を推測し、不動中の痛覚系の負の可塑的変容を探索することであった。さらに、こうした変容と触覚アロディニア・痛覚増強といった病的疼痛との関連を検証し、病的疼痛に有効な理学療法を探索し、その科学的根拠を示すことを目指した。具体的には、以下の3点を明らかにすることを目指した。1. 不動中の痛覚伝達系の可塑的変化を探索する。2. 本モデルの病的疼痛におけるA線維の役割と病態変化との関係を明らかにする。3. 種々の理学療法が病的疼痛を改善させる効果について科学的根拠を示す。この研究の学術的独自性と創造性は、身体不活動による病的疼痛における触覚アロディニアの要素を光遺伝学的解析により分解可能とする点である。種々の病的疼痛に対応した発症機序の探索を可能にし、各病的疼痛の機序が明らかになれば、それぞれに有効な理学療法とその科学的根拠を提示できる。これにより、痛みの理学療法分野の発展に貢献することを最終目標とした。

3. 研究の方法

(1) 動物

愛知医科大学と金沢医科大学の動物実験委員会の承認を受け、アメリカ国立衛生研究所の実験動物の飼育および使用ガイドラインに従い行われた。本研究では、日本SLCから提供された雄のスプレーグ・ドリー(SD)ラットと、国立バイオリソースプロジェクト-ラットから供給されたW-Tg(Thy1-COP4/YFP*)4Jfhyラットを使用した。これらのラットは、コントロールされた温湿度の下、12時間の昼夜周期で自由に食事を摂取しながら飼育された。2週間のキャスト固定期間中、ラットはケージ内で前肢と非固定の後肢を使用して自由に動け、日常の活動が可能であった。この間、飲食の摂取量は固定前と同じレベルを保った。我々は、実験動物の数を最小限に抑えるとともに、その苦痛も最小限となるよう配慮した。

(2) 後肢のギプス固定

我々の先行研究に基づき、2週間の後肢ギプス固定によってCPCPラットモデルを作成した。具体的な手順としては、一方の後肢の中央から骨盤までの範囲に、ペントバルビタールナトリウムで麻酔した状態で石膏ギプスにて不動化した。その際、不動化された肢の皮膚が石膏ギプスと直接接触することによる損傷を防ぐため、テーピングを使用した。さらに、不動化された後肢に循環障害(例:充血、虚血、圧迫潰瘍)の兆候を示すラットや、不動化処置中にギプスに重大な損傷が発生したラットは、行動実験から除外した。そして、2週間の不動化処置を終えた動物は、快適な布製の靴下で保護し、その後、ギプスを手で、または必要に応じてハサミを使って取り外した。これらの手順により、CPCPモデル作成処置を適切に遂行することができた。

(3) 自発的な疼痛様行動と不動化した肢の肉眼病理所見

本研究では、ラットが2日間テスト環境(アクリル製チャンパー)に慣れる期間を設けた後、ラットが不動化された肢を舐めるか噛む行動をウェブカメラで記録した。これらの行動は、ギプス除去前後の15分間と45分間のそれぞれで、盲検した観察者により評価された。また、不動化された肢に起こる脱毛や皮膚の色調の変化を観察するために、デジタル一眼レフカメラを用いて撮影した。撮影された画像から、下腿部の皮膚の2x2cmの部分を取り取り、画像解析ソフトウェア(ImageJ)を用いて脱毛の度合いを評価した。

(4) 神経原性漏出

神経原性漏出は、Evan Blue Dye(EBD)を用いて評価され、これによりアルブミンの漏出量を反映する血管透過性を確認した。ラットは深く麻酔され、EBDが静脈投与された後、全身を生理食塩水で灌流した。不動化された側の後肢を採取し、湿重量を計測した。また後肢をホルムアミド溶液に60で36時間インキュベートした後、溶液中のEBD濃度をマイクロプレートリーダーで測定した。

(5) エンザイムリンク免疫吸着試験

ヒラメ筋のSubstance Pレベルを分析実験を行った。最初に、ラットに生理食塩水を灌流し、ヒラメ筋を採取した。その筋組織はRIPAライシスバッファーを用いてホモジナイズし、遠心分離を行った。得られた上清液を採取し、Pierce BCAプロテインアッセイキットを用いてタンパ

ク質の濃度を定量した。その後、Substance P ELISA キットを使用して Substance P のレベルを分析した。これは製造元の指示に従って行われた。

(6) 免疫組織化学

ラットの神経系における免疫反応を調べるために、免疫蛍光染色法を用いた。まず、ラットにペントバルビタールナトリウム (100 mg/kg) を注射して麻酔した。次に、心臓内経路から生理食塩水とザンボニ固定液を順番に灌流して、脊髄・橋・脳を固定した。その後、これらの組織を冷凍保護して凍結切片にした。切片はブロッキング溶液でインキュベートした後、一次抗体と二次抗体で染色した。一次抗体は成果論文に示すもので、二次抗体は Alexa Fluor 488/555/647-共役ロバ抗マウス/ウサギ/ヤギ/モルモット IgG であった。一次抗体なしで染色した切片では陽性反応が認められなかったことから、染色は特異的であったと考えられる。染色された切片は FluorSave Reagent でマウントして、Keyence BZ-X710 顕微鏡でデジタル画像を取得した。画像は Keyence Image Analysis Software で解析した。

(7) 坐骨神経ブロック (Sciatic Nerve Block: SNB)

ラットをイソフルラン麻酔後、坐骨神経近くにリドカイン注射し感覚をブロックした。下腿内側の皮膚 (伏在神経領域) にキシロカインゼリーを塗布し感覚をブロックした。注射 30 分後、同側趾を針で刺激しブロックが成功したことを確認した。SNB 後の病的疼痛行動 (慢性広範囲機械痛覚過敏・触覚アロディニア・冷痛覚過敏) 測定し、固定部の感覚入力の影響を次の 3 群で調べた: 神経ブロック 2 回群 (固定除去直前・除去後 3 日目リドカイン) 神経ブロック 1 回群 (固定除去直前リドカイン・除去後 3 日目生理食塩水) 対照群 (固定除去直前・除去後 3 日目生理食塩水)

(8) リアルタイム定量ポリメラーゼ連鎖反応

ペントバルビタールナトリウム麻酔下のラットからヒラメ筋を摘出し、Trisure と RNeasy mini plus kit で全 RNA 抽出・精製した。NanoDrop 分光光度計で 260 nm 光学密度測定し全 RNA 定量化した。325 ng 全 RNA を PrimeScript 逆転写酵素とランダム 6-mer プライマーで逆転写反応した。StepOnePlus リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応システムと SYBR Green 遺伝子発現アッセイ・SYBR Premix Ex Taq II で定量ポリメラーゼ連鎖反応した。COX2・GAPDH・IL-1b・IL-6・NOX1・NOX2・NOX4・NGF・NF-kB・TNF-a mRNA レベルを測定し StepOne Software 2.2.2 にて標準曲線法で解析した。すべて GAPDH 発現で正規化した。

(9) 疼痛行動評価

機械的疼痛行動: 各ラットを透明なプラスチック箱に入れ、金網の上に 20 分間置いた。後肢の疼痛行動は自作のフォン・フレイフィラメント (VFF) を使用して試験した。筋圧痛閾値は、プッシュプルゲージアルゴメーターを使用して測定した。下腿筋圧痛刺激には、丸みを帯びた先端 (直径 2.4mm) が付いた円錐形プッシャーを使用し、最小圧力で足引き込み反応が誘発されるまで測定した。

光照射試験: W-TChR2V4 ラットは光照射ケースに入れ、30 分~1 時間慣らした。次の 3 つの条件下 (覚醒し、4 本足床面にあり、歩かない) で光刺激した際の引き込み反応を評価した。青色光 (473 nm) を光刺激装置で発生させ、5 Hz (1 秒あたり 20 ms 繰り返し/5 回)、強度 7 mW に設定した。この条件下で光ファイバー使い、アクリル板底面から足底へ照射した。触覚アロディニア様行動は光刺激 10 回施行した際の後肢反応について次の 4 段階スケール評価した。スケール: 0=反応なし、1=移動、2=引き込み、3=ひきつり・舐める、4=鳴き声。

アセトン試験: 測定はフォン・フレイ試験で使用した架台を用いて行った。アセトン 50 μ L をラットの足底と尾に塗布した。ラットをアセトン刺激後 30 秒間観察した。後肢の冷痛覚過敏様行動は、5 回刺激後の反応を以下の 4 段階スケールによって評価した: 0: 反応なし; 1: 移動; 2: 引き込み; 3: ひきつりまたは舐める; 4: 鳴き声をあげる。尾部の冷痛覚過敏様行動は、5 回刺激後の反応を以下の 4 段階スケールによって評価した: 0: 反応なし; 1: ゆっくりと振る; 2: 速く振る; 3: 繰り返し振る; 4: 鳴き声をあげる。ラットはアセトン刺激後 30 秒間観察された。5 回刺激後のラットの反応スコアを冷痛覚過敏のスコアとした。

(10) 統計解析

統計解析は GraphPad Prism version 8.3.0 使い、Brown-Forsythe 検定や Bartlett 検定で分布正規性と分散均一性を評価した。データは対応なし t 検定や一元配置分散分析、反復測定分散分析解析し、Dunnett や Tukey 多重比較検定を行った。データは平均値 \pm 標準誤差表し、 $P < 0.05$ で有意差とした。

4. 研究成果

(1) 固定除去後の自発的な疼痛様行動と脱毛

ギプス固定中は自発的行動なく、ラットは平静なままであった。ギプス除去後、自発的痛み様行動が出現し、固定肢の脱毛が観察された。固定肢の肉眼所見を撮影し、脱毛と皮膚状態の時間変化を画像解析した。脱毛は 2 時間から有意に増加し、1 日でピークに達し、ギプス除去後 1 週間持続した。脱毛と共に皮膚の赤みや光沢を観察した。固定肢への機械的接触を防止するために、ギプス除去直前から 3 日間、ラットの首にプラスチック製エリザベスカラーを付けた。この間、ラットは自由に食べたり飲んだりできた。脱毛は、固定肢への機械的接触の抑制下でも観察されたことから、自発的発生であることが示唆された。

(2) ギブス除去後の血管透過性の増加とサブスタンス P の発現の増強

EBD 漏出量で血管透過性変化を評価した。ギブス固定肢ではギブス除去直後から増加し 1 日持続した。EBD 漏出の局在を確認するため下腿皮膚やヒラメ筋（遅筋）、腓腹筋（速筋）でも評価した。神経原性炎症に関連するサブスタンス P は、下腿皮膚やヒラメ筋で発現増加が観察された。速筋では EBD 漏出量の増加は認められなかった。噛みつき行動による機械的接触の影響を確認するため、エリザベスカラーを付けて行動を抑制した CPCP ラットでも評価した。機械的接触を抑制しても皮膚やヒラメ筋で発現増加が認められた。

(3) ギブス除去後の脊髄-外側腕傍核-扁桃体経路の活性化

CPCP ラットの自発的な痛み様行動に脊髄-外側腕傍核（LBP）-扁桃体中心核外包（CeC）経路の活性化が関与するかを検証した。ギブス除去前後で第 4-5 腰髄後角（L4-5）の c-Fos（神経活性化マーカー）免疫反応細胞数を数えた。c-Fos 陽性細胞数は、ギブス除去後 2 時間で、固定側の lamina I-II と lamina III-VI で顕著に増加した。しかし、ギブス除去後 2 時間での非固定側の lamina I-II または III-VI では、c-Fos 陽性細胞の数は増加しなかった。第 12 胸髄（Th12）から第 1 仙髄（S1）および尾髄（Co）までの断片を用いて c-Fos 陽性細胞を数えることで、脊髄の神経活性化の空間パターンを調査した。最も多くの c-Fos 陽性細胞が見られたのは、不動化した後肢の支配髄節である L3~5 であった。L4-5 の lamina I のニューロンの主要な投射領域である LPB および CeC（痛覚応答が高い扁桃体中心部の核）の c-Fos 陽性細胞の数を調査した。ギブス除去後 2 時間で、LPB と CeC の c-Fos 陽性細胞の数は顕著に増加した。LPB と CeC で c-Fos 陽性細胞の数が増加したため、細胞外シグナル調節キナーゼ（pERK）の免疫蛍光を用いて、主に CeC に投射する L4-5 の浅層の後角細胞の痛覚特異的な活性化を調査した。ギブス除去後 30 分から、lamina I-II での pERK 免疫蛍光が顕著に増加し、NeuN（ニューロンマーカー）と共局在した。ニューロキニン 1 受容体（NK1R）陽性ニューロンは lamina I の投射ニューロンの 80% を占め、lamina III-IV の NK1R 陽性ニューロンも lamina I-II へ樹状突起を伸ばすため、NK1R の活性化についても pERK 免疫蛍光を使用して調査した。ギブス除去後 30 分に脊髄後角浅層の NK1R 陽性ニューロンで pERK 免疫蛍光は顕著に増加した。NK1R は樹状突起だけでなく、Substance P 物質陽性の一次感覚神経終末に密に支配される浅層後角の細胞体にも発現する。したがって、pERK 陽性ニューロンと共局在する NK1R と NeuN の三重染色により共局在する免疫蛍光を分析した。ギブス除去後 30 分で、免疫蛍光は顕著に増加した。不動化された後肢への舐めや噛む行動による機械的接触が中枢神経活動に及ぼす影響を調査するために、エリザベスカラーにより機械的接触が抑制されたグループ（エリザベス+）と機械的接触が許可されたグループ（エリザベス-）で脊髄および CeC の c-Fos の発現レベルを比較した。これら 2 つのグループでの L4-5 の NK1R 陽性の後角浅層細胞における pERK 免疫蛍光を比較した。エリザベス-の lamina I-II および lamina III-IV での c-Fos 陽性細胞の数は、エリザベス+群と比較して有意に増加した。L1 から S1 までの断面を使用してエリザベス+の脊髄でも c-Fos 陽性細胞を数えることで神経活動の空間パターンを調査した。最大数の c-Fos 陽性細胞は、固定化された肢体の中心部である L3~5 であった。一方、CeC ではエリザベス-の c-Fos 陽性細胞の数は、エリザベス+と比較して有意差はなかった。2 つのグループ間で、ギブス除去後 30 分に NK1R 陽性の後角浅層の細胞における pERK 免疫蛍光には有意な差はなかった。すなわち、舐め行動などの機械的接触による刺激による痛覚伝達経路への影響は限定的であった。

(4) 坐骨神経ブロックによる神経原性炎症と自発的な痛み様行動の減弱

血管過透過性、自発的な痛み様行動、および炎症関連 mRNA 発現が、ギブス固定された肢からの感覚入力を遮断することで減弱するか調べるために、ギブス除去直前に、ギブス固定された肢を支配する坐骨神経をリドカインでブロックした。その後、上記の から の変化を調べた。SNB は、EBD の漏出量の増加および自発的な痛み様行動を有意に減弱させた。

さらに、EBD の漏出量の増加が観察されたヒラメ筋で、SNB によって以下の 9 種類の mRNA の発現変化がギブス除去後 2 時間で調べられた。IL-1b、IL-6 mRNA、および NGF mRNA は、未処置値と比較して vehicle グループでは有意に増加したが、SNB グループでは有意に増加しなかった。COX2 mRNA、NOX1 mRNA、および NOX4 mRNA は、未処置値と比較して vehicle グループと SNB グループの両方で有意に増加したが、TNF-a mRNA および NOX2 mRNA は有意に増加しなかった。

(5) 坐骨神経ブロックによる外側腕傍核核投射ニューロンの活性化の減弱

さらに、同側末梢組織からの痛覚入力 NK1R 発現 lamina I ニューロンの活性化に関与しているかどうかを調べるために、SNB が LPB 投射ニューロンの活性化に及ぼす効果を、NeuN（緑）、pERK（赤）、NK1R（青）の 3 重免疫蛍光標識と、c-Fos（赤）とサブスタンス P（緑）の 2 重免疫蛍光標識を用いて同側 L5 後角で調べた。pERK 免疫蛍光は、ギブス除去直前に SNB を行ったことで、ギブス除去後 30 分に NeuN 陽性領域で有意に減少した。pERK 免疫蛍光は、SNB によって NK1R 陽性表層後角ニューロンでギブス除去後 30 分に有意に減少した。pERK 陽性ニューロンと共存する NK1R 免疫蛍光は、SNB によってギブス除去後 30 分に有意に減少した。さらに、後角ニューロンの活性化に SNB が及ぼす効果を調べた。c-Fos 陽性細胞の数は、ギブス除去後 2 時間で lamina I から VI で有意に減少した。

(6) 坐骨神経ブロックによる慢性広範囲機械痛覚過敏、触覚アロディニア、および冷痛覚過敏の減弱

同側末梢組織からの痛覚入力 NK1R 発現 lamina I ニューロンの活性化に関与しているか調べるために、SNB が LPB 投射ニューロンの活性化に及ぼす効果を、NeuN（緑）、pERK（赤）、NK1R

(青)の3重免疫蛍光標識と、c-Fos(赤)とサブスタンスP(緑)の2重免疫蛍光標識を用いて同側L5後角で調べた。pERK免疫蛍光は、ギプス除去直前にSNBを行ったことで、ギプス除去後30分にNeuN陽性領域で減少した。pERK免疫蛍光は、SNBによってNK1R陽性表層後角ニューロンで減少した。pERK陽性ニューロンと共存するNK1R免疫蛍光も減少した。さらに、後角ニューロンの活性化にSNBが及ぼす効果を調べた。c-Fos陽性細胞の数は、ギプス除去後2時間でlamina IからVIで減少した。同側末梢組織からの痛覚入力慢性広範囲機械痛覚過敏、触覚アロディニア、および冷痛覚過敏の発達に関与しているか調べるために、SNB後の下腿の皮膚、下腿の筋、後肢、および尾の引っ込み反応の変化を調べた。SNBは、同側下腿皮膚、同側下腿筋、同側後肢、および尾での機械性過敏をブロック回数に依存して減弱させた。さらに、SNBは同側後肢での触覚アロディニアおよびSNB後の同側下腿皮膚、下腿筋、および後肢での冷痛覚過敏を減弱させた。SNBは対側での機械性過敏を下腿皮膚、下腿筋、および後肢でブロック回数に依存して減弱させた。さらに、SNBは対側後肢での触覚アロディニアおよび対側後肢での冷痛覚過敏を減弱させた。ギプス固定された肢との機械的接触による感覚入力の増加が慢性的な痛み様行動に影響するか調べた。ギプス除去後3日間エリザベスカラーを首につけてギプス固定された肢との機械的接触を抑制したCPCPラットで行動変化を評価した。以下では有意差が認められなかった：エリザベス+とエリザベス-との間で同側での機械性過敏(下腿皮膚、下腿筋、後肢、および尾)；同側での冷痛覚過敏(後肢および尾)；および対側での機械性過敏と冷痛覚過敏。

(7) ギプス除去直前の坐骨神経ブロックによる慢性期の機械刺激後のlamina IからIIでのL5神経活性化の減少

ギプス除去直前のSNBが慢性期(ギプス除去後5週間)における機械性過敏を抑制するかどうかを調べた。サブスタンスP免疫染色で標識されたL5後角lamina IからIIでのc-Fosの免疫蛍光を、各SNBグループとvehicleグループとの間で6-g VFFを用いて機械刺激後90分に比較した。VFF刺激はvehicleグループで後肢撤退行動を誘発したが、SNBグループでは誘発しなかった(データ未示)。c-Fos陽性細胞の数は、ブロックグループではvehicleグループと比較して有意に減少した。

(8) ギプス除去前後の同側のヒラメ筋と腓腹筋の酸化DNA損傷の経時的変化

ギプス固定前後の不活動化した骨格筋におけるDNAの酸化損傷を調べた。8-OHdG免疫反応性バイオマーカーの数の比率は、ヒラメ筋(遅筋繊維の代表)では、ギプス固定後2週間では有意な変化は見られなかったが、ギプス除去後2時間で有意に増加し、ギプス除去後1日でピークに達し、ギプス除去後3日間増加が持続した。8-OHdG免疫反応性バイオマーカーの数の比率は、腓腹筋(速筋繊維の代表)では、ギプス固定後2週間では有意な変化は見られなかったが、ギプス除去後2時間で有意に増加し、ギプス除去後1日でピークに達した。

(9) テンポール投与による同側ヒラメ筋および腓腹筋の酸化DNA損傷の減弱

テンポールというスーパーオキシド消去剤によって酸化DNA損傷が減弱するかどうかを調べた。そのために、我々はギプス除去直前にテンポールを腹腔内投与した。テンポールはギプス除去後1日にヒラメ筋および腓腹筋で増加した8-OHdG免疫反応性バイオマーカーを有意に減弱させた。

(10) テンポール投与による自発的な疼痛様行動の抑制

テンポールが自発的な疼痛様行動に及ぼす効果を調べた。そのために、ギプス除去直前にテンポールを投与した。舐めるおよび/または噛む行動は、ギプス除去後2時間で完全に抑制された。跳ねる行動は、ギプス除去後2時間で完全に抑制された。

(11) テンポール投与によるギプス除去後のL5脊髄後角の神経活性化の減弱

スーパーオキシド関連の痛覚信号が不活動化した肢の近傍の脊髄後角ニューロンの活性化に及ぼす効果を調べるために、テンポール投与後2時間のc-Fosの免疫蛍光の変化を調べた。c-Fos陽性細胞の数は、テンポール群では有意に減少した。

まとめ

本研究では、CPCPモデルラットを用いて身体不活動の慢性疼痛に対する影響を評価した。その結果、身体不活動は末梢性痛覚信号や中枢性疼痛経路の活性化を引き起こし、これが疼痛行動に寄与することが示された。ギプス固定による身体不活動は、不活動化した肢の骨格筋で生成されるスーパーオキシドが信号源となり、これが慢性的な痛みの原因となる可能性があることが示唆された。しかし、想定外の状況が本研究に影響を与えた。新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の大流行は、研究活動全体に制約をもたらした。さらに、研究代表者が大学を異動することが重なり、理学療法の効果検証に進むことができなかった。これらの困難にもかかわらず、得られた知見を元に、今後はスーパーオキシド関連信号源の研究を進め、さらに信号伝達経路の詳細な調査を行う。この研究から得られた知識は、新たな疼痛治療の開発につながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 3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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1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

〔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	大道 美香 (OHMICHI Mika) (30581079)	金沢医科大学・医学部・講師 (33303)	
研究 分担者	内藤 宗和 (NAITO Munekazu) (10384984)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	削除：2021年3月8日

	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 協力者	ドミニカ カニコウスカ (DOMINIKA Kanikowska)	Department of Pathophysiology, Poznan University of Medical Sciences・professor	

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		