

令和 5 年 4 月 5 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09206

研究課題名(和文) 中枢性感作機構を標的とした手術後痛遷延化の予測マーカーの探索と予防・治療法の追究

研究課題名(英文) Exploration of predictive markers and establishment of preventative and therapeutic measures for chronic postsurgical pain targeting central sensitization mechanisms

研究代表者

森崎 浩 (Morisaki, Hiroshi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・教授

研究者番号：60182226

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)：本研究での慢性膝関節痛患者を対象とした臨床研究では、多面的疼痛評価が術後6ヶ月時での術後痛遷延化と有意に相関する結果を得た。一方、術前の髄液からはfractalkineが有意に術後痛遷延化と負の相関を示すことが明らかとなった。基礎研究では、マウスモデルでの足掌切開の反復手術による脊髄後角での選択的なミクログリア活性化が術後痛を増強する可能性を見出した。ミクログリアを抗炎症性であるM2タイプに誘導することができれば術後痛増悪を抑制できる可能性が示された。今後は同マウスモデルにおいてfractalkineのミクログリアに対する効果を評価し、新規の術後痛遷延化予防法の確立を模索していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりPain Catastrophizing Scaleをはじめとする多面的な心理社会面を含めた術前評価の、術後痛遷延化の予測における臨床的価値を示すことができた。こうした多面的評価を術前評価に組み込むことで術後痛遷延化のリスクを評価し、予防法を講じることで、術後痛の軽減・社会復帰への促進につながることを期待される。髄液解析で示されたfractalkine濃度と術後痛遷延化の負の相関は、術後痛遷延化におけるfractalkineの保護的作用を示唆するものであり、術後痛遷延化予防の新規治療法への発展につながる知見である。

研究成果の概要(英文)：In the clinical study targeting chronic knee pain patients, we have demonstrated that preoperative multi-dimensional pain evaluation has relevant predictive values for predicting chronic postsurgical pain (CPSP) six months after knee surgery. Moreover, the analyses of cerebrospinal fluids (CSF) collected preoperatively revealed that the preoperative level of fractalkine in the CSF negatively correlated with the severity of CPSP. In the basic research part, we discovered that the spatially selective activation of microglia in the dorsal horn of spinal cord aggravated postoperative pain in a mouse model of postsurgical pain. These findings implicate that pharmacological manipulations that lead microglia toward anti-inflammatory M2 type would suppress the transition to CPSP. Taken together these findings from both clinical and basic studies, we will explore the potential protective effects of central fractalkine on neuroinflammation in the context of CPSP.

研究分野：麻酔学

キーワード：術後痛遷延化 慢性痛 中枢性炎症 fractalkine ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

手術件数が増加の一途を辿る中、痛みをもたらす原疾患の根治術後に痛みが改善しない、あるいはむしろ悪化してしまうなど、手術に関連した痛みの遷延化が多くの術後患者を煩わす重大な問題となっている。中でも、慢性関節痛に対する人工関節置換術は、実に約 20%で術後に痛みの遷延化が見られ、多くの患者が根治術を受けたにもかかわらず QOL の低下や社会復帰の遅れをもたらしている。この術後痛遷延化に対しては、現状では有効な予測法や予防策はなく、然るべきリスク評価とそれに基づくテーラーメイドな周術期管理の確立が急務である。

我々は、痛みの慢性化の機序として、長期的な末梢組織の損傷に続発する maladaptive な脳・脊髄での可塑性変化に着目してきた。頸肩腕症候群患者を対象とした機能的 MRI にて、背外側前頭前野を中心とする異常な脳内結合が痛みの重症化・認知の歪みに関連することを見出した(Ihara, Kosugi, Morisaki, et al. PLOS one 2019;14(8):30221023.)。こうした中枢神経での可塑性変化の機序において、グリア細胞の炎症反応を伴う数的・機能的変化が痛覚神経系の感作をもたらし、いわば痛みを“記憶”として脳・脊髄に留まらせる機構に注目してきた(Kato, et al. Prog Mol Biol Transl Sci 2015;131:251-79.)。

術後痛遷延化においても術前からの痛みがリスク因子になるなど、慢性関節痛患者においても同様の機序が働き、中枢神経系での“痛みの記憶”が、手術により末梢の原因が除去された後も難治性の痛みの遷延化をもたらす要因になっている可能性がある。

そこで本研究では、慢性関節痛患者においては「痛みが脳・脊髄において中枢性感作という形で“記憶”され、それを対処しない限りは根治術後も完全な除痛が得られないのではないか」という学術的「問い」を核心とし、以下の目的のもと研究を計画した。

2. 研究の目的

- 1) 慢性関節痛患者における中枢性感作機構を可視化する。
- 2) 術前の中枢性感作機構を標的として、術後痛遷延化の予測マーカーを探索する。
- 3) 中枢性感作機構に基づいた術後痛遷延化に対する予防・治療法を探索する。

3. 研究の方法

研究 I) 慢性関節痛患者における中枢性感作の可視化

人工膝関節置換術が適応となった重症慢性関節痛患者を対象に、術前に痛みの質・重症度を評価するために各種の質問票での調査を施行した。術直前の脊髄くも膜下麻酔の際に脳脊髄液を採取し、中枢性感作機構への関与が示唆される炎症系メディエーター (IL-1、IL-8、TNF、IL-6 など) を血液サンプルとともに ELISA 法で定量化した。これらの項目を統合し、慢性関節痛患者での中枢性感作機構の可視化を試みた。

研究 II) 中枢性感作機構と術後遷延痛との関連の評価と予測マーカーの探索

術後痛遷延化に関しては、術後 6 ヶ月の時点で、痛みに関する質問票 (簡易疼痛質問票) にて多角的に評価し、術前に行った質問票、脳脊髄液検査の結果との関連性を検討した。特に、血液・脳脊髄液の解析結果と術後痛遷延化を照合し、術後痛遷延化に特異的な予測マーカーの探索を試みた。

研究 III) 術後遷延痛モデルマウスによる機序の解明と候補薬の予防・治療効果の検討

脳脊髄液解析により術後痛が遷延化した患者群で有意に増減が見られたタンパク質をマウスの脊髄くも膜下腔に投与するなど、中枢性炎症を惹起し、その上で手術痛モデルである Brennan モデルを施行し、術後痛の時間経過に与える影響を評価した。これらの因子による痛覚神経系に与える作用を評価するために、同モデルマウスの脳・脊髄を電気生理学的・免疫生化学的に神経・グリア細胞の活性化や細胞内シグナルへの影響を可視化し、術後痛遷延化における中枢性感作機構のより詳細な機序の解明を試みた。

4. 研究成果

研究 I) 慢性関節痛患者における中枢性感作の可視化

研究期間中、42名の人工膝関節手術置換術患者が本研究にリクルートされた。そのうち38名から有効な術前の髄液採取が行われ、35名から術後6ヶ月での術後痛遷延化の質問票への返答を得た(図1)。術前に採取された髄液での炎症性メディエーター(IL-6, IL-8, TNF, fractalkine, CSF-1)の間での相関関係を検討したところ、IL-6とIL-8 (Spearman's rho = 0.561, $P < 0.001$)、fractalkineとCSF-1 (rho = 0.728, $P < 0.001$)、IL-8とfractalkine (rho = 0.346, $P = 0.033$)の間に有意な相関を認めた(図2A)。このことから、対象患者群にさまざまなレベルの中枢性炎症反応が起きていることが示唆された。一方、髄液と血清サンプルの間ではいずれの相関もみられなかった(図2B)。血清は中枢性炎症を正しく反映しない可能性が示された。さらに、術前髄液中の炎症性メディエーターと術前の多面的疼痛評価との関連性を調べたところ、painDETECTとfractalkineの間に有意な負の相関 (rho = -0.419, $P = 0.009$)が検出された(図2C)。

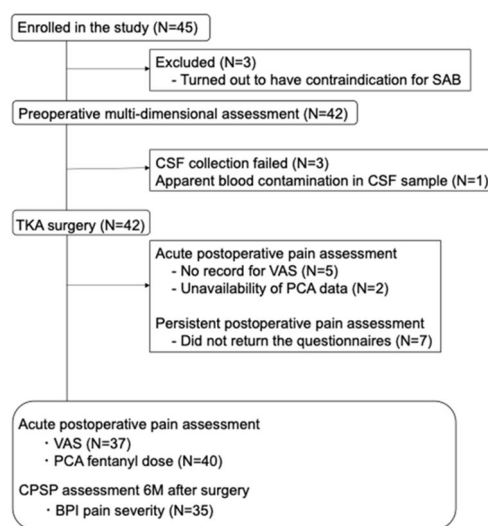


図1 本研究での患者登録状況

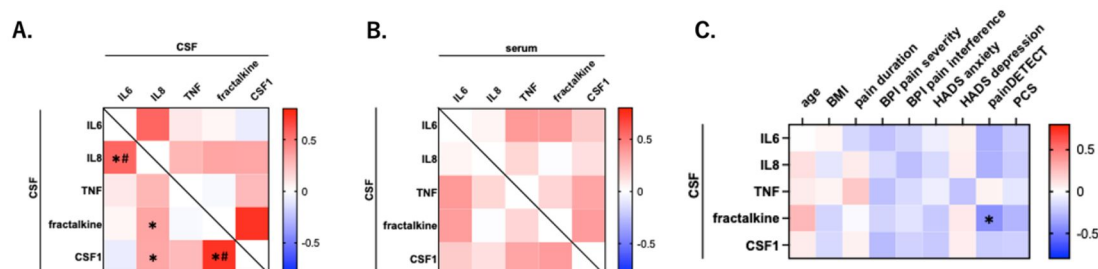


図2 A: 術前採取した髄液での炎症性メディエーター間の相関heat map.
 B: 髄液および血清中の各メディエーター間の相関。
 C: 髄液中メディエーターと術前での各多面的疼痛評価との相関。* $P < 0.05$. #Bonferroni補正後 $P < 0.05$ 。

研究 II) 中枢性感作機構と術後遷延痛との関連の評価と予測マーカーの探索

術前での髄液中の炎症性メディエーターや多面的疼痛評価と、人工膝関節術後6ヶ月での術後痛遷延化との関連を調べたところ、painDETECT、Pain Catastrophizing Scale (PCS)、髄液中fractalkineおよびCSF-1濃度との間に有意な相関を認めた(図3)。多変量解析の結果、術前PCSスコア (β : 0.11; 95% CI: 0.06–0.16; $P < 0.01$)および髄液中fractalkine濃度 (β : -0.62; 95% CI: -1.10 to -0.15; $P = 0.012$)が術後痛遷延化の重症度の有意な予測因子であることが示された。これらの結果より、術前のPCSスコアとともに髄液中のfractalkine測定が術後痛遷延化に対する予測マーカーとしての可能性が示された。

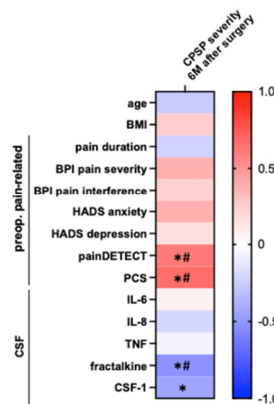


図3 術前各多面的疼痛評価および髄液内炎症性メディエーター濃度と術後6ヶ月時術後痛との相関heat map。* $P < 0.05$. #Bonferroni補正後 $P < 0.05$ 。

研究 III) 術後遷延痛モデルマウスによる機序の解明と候補薬の予防・治療効果の検討

まず中枢性炎症反応の術後疼痛への寄与を調べるため、lipopolysaccharide や IL-8 をマウス髄腔に投与し、中枢性炎症を惹起した上で足掌切開による術後痛モデルを施行した(Brennanモデル)。免疫染色上 lipopolysaccharide や IL-8 の髄注により、脊髄広範囲に渡りミクログリアの活性化を認めた。しかしながら、これらの中枢性炎症はマウスでの術後痛の表現形に有意な影響は与えなかった。これらの非選択的な中枢性炎症の術後痛への寄与は大きくないことが示唆された (図 4 A, B)。

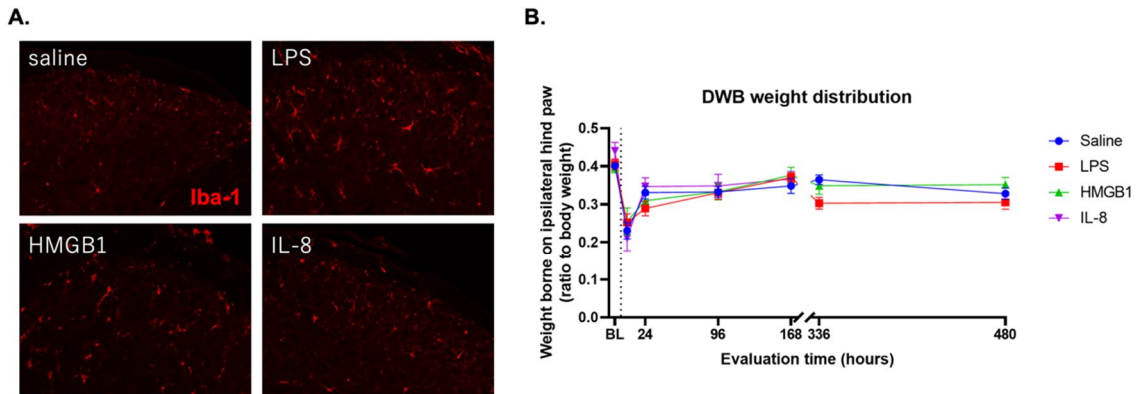


図4 マウス術後痛モデルでの中枢性炎症惹起による疼痛遷延化への影響. A: マウスにLPS, HMGB1, IL-8を髄注した後の脊髄腰膨大部後角でのミクログリア活性化マーカーIba-1に対する免疫組織染色像. B: 各メディエーター髄注のBrennanモデルでの術後痛表現系への影響の評価. DWBは患肢への荷重を元にした自発痛様行動の評価法.

次に、Brennan モデルそのもの起こされる特定の脊髄後角におけるミクログリア活性化に着目した。Brennan モデルを 2 回繰り返すと、2 回目での術後痛の表現系がより顕著化することが確認された (図 5 A)。これに対し、ミクログリア活性化の阻害剤であるミノサイクリンを 2 回目手術の前に投与しておく、術後痛の顕著化が抑制されることが示された (図 5B)。1 回目の Brennan 手術により創部と関連のある脊髄後角のミクログリアが選択的に活性化され、それによる中枢性炎症が 2 回目の手術の術後痛を増悪させたと解釈できる。これにより、反復手術による術後痛増悪・遷延化に対してミクログリアの抑制が予防・治療標的となりうることを示された。

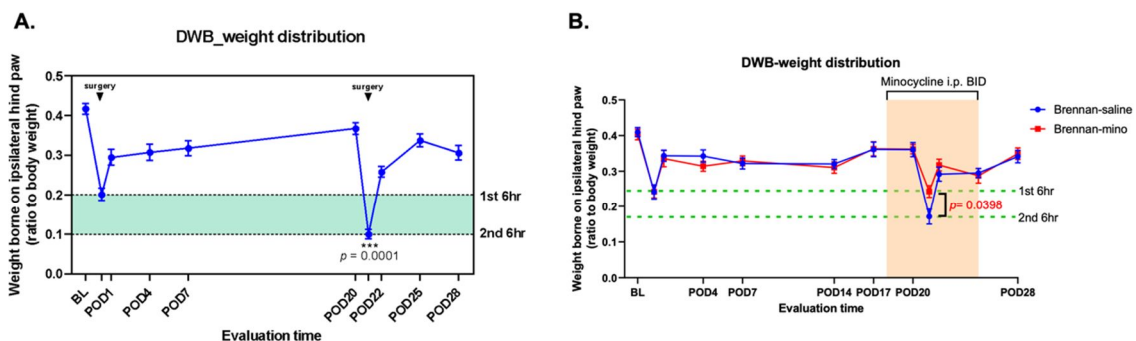


図5 反復手術による術後痛増悪(A)とミノサイクリンによるミクログリア阻害の効果(B).

結論と今後の展望

以上の臨床研究の結果より、術前の PCS を含めた多面的な疼痛評価および髄液中の fractalkine が術後痛遷延化の予測マーカーとしての価値が見出された。マウスモデルによる基礎研究の結果から、脊髄後角での部位特異的なミクログリアの活性化が術後痛遷延化に寄与す

ることが示された。目下、この反復手術により活性化されたミクログリアを詳細に解析しており、ミクログリア活性化におけるより特異的な治療標的の同定を試みている。さらに臨床研究で示された fractalkine や CSF-1 をマウス術後痛モデルに投与するリバーストランスレショナル研究により、これらの因子による術後痛遷延化に対する新規予防法の可能性を追究する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fanglin Lu, Jungo Kato, Tomoko Toramaru, Megumi Sugai, Mengting Zhang, Hiroshi Morisaki	4. 巻 15
2. 論文標題 Objective and Quantitative Evaluation of Spontaneous Pain-Like Behaviors Using Dynamic Weight-Bearing System in Mouse Models of Postsurgical Pain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pain Research	6. 最初と最後の頁 1601-1612
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/JPR.S359220	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村瀬玲子、小杉志都子、加藤純悟、西村大輔、伊原奈帆、星野麗子、本田あやか、森崎浩
2. 発表標題 人工膝関節置換術後の遷延痛および疼痛関連障害度と術前の心理社会的因子および中枢性炎症との関連
3. 学会等名 日本ペインクリニック学会 第54回学術集会
4. 発表年 2020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	小杉 志都子 (Kosugi Shizuko) (00317249)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授 (32612)	
研究分担者	加藤 純悟 (Kato Jungo) (40465018)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師 (32612)	
研究分担者	寅丸 智子 (Toramaru Tomoko) (70594612)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教 (32612)	

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