

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 12 日現在

機関番号：33802

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700554

研究課題名（和文） 運動器慢性痛の発症機序の解明
－ 生後発達因子の行動組織学的研究から －研究課題名（英文） Research of the pathogenesis of chronic musculoskeletal pain
－ Behavioral and histological study of postnatal development factor －

研究代表者

櫻井 博紀（SAKURAI HIROKI）

浜松大学・保健医療学部・理学療法学科・講師

研究者番号：60454419

研究成果の概要（和文）：神経損傷以外の慢性痛モデルとして、筋損傷による慢性痛モデルを確立した。このモデルにおいて 3 週齢（若齢期）処置では 9 週齢（成熟期）処置と異なり、慢性痛が発症しなかったことから、3 週齢で完成していない部分が慢性痛発症に関与していることが示唆された。また、筋組織で処置急性期および慢性期において 3 週齢処置、9 週齢処置で大きな差が見られなかったことから、末梢筋組織の損傷回復ではない他の要因の関与が伺えた。

研究成果の概要（英文）：We developed a musculoskeletal chronic pain model (LH model). In this model, the treatment to adult rats produced long-persisting pain behaviors, on the contrary, the treatment to young rats did not develop chronic pain behaviors. Histologically, damaged muscle tissues almost recovered in same time course with adult treated-rats and young treated-rats. These imply the possibility that some factors in pain pathway different from adult except for muscle recovery will be concerned in development of chronic pain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学、リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：リハビリテーション医学

1. 研究開始当初の背景

運動器障害をはじめとした神経損傷以外の原因で発症する慢性痛は、発症起点より空間的・時間的拡大を示す Chronic Widespread Pain (慢性広範囲痛) を呈し、社会的に大きな問題となっている。代表疾患として線維筋痛症、CRPS I (Complex Regional Pain Syndrome type I ; 複雑局所性疼痛症候群 I) など挙げられるが、これまで世界的に研究が進められてきたのは神経損傷に起因するものであり、これら神経以外の何らかの組織障害に起因するモデル動物の研究は少なく、病態解明が世界的にも進んでいない。

また、臨床的に線維筋痛症、CRPS Iなどで小児の発症が少ないという報告があり、このような若齢期での発症率の低さは生後の発達過程における何らかの要因が発症に関与している可能性がある。

2. 研究の目的

運動器慢性痛のメカニズム解明を進めるために、独自に開発した運動器慢性痛モデルを用いて、慢性痛の発症・維持要因を探る。特に、若齢期において慢性痛が発症しにくいことに注目し、若齢処置における慢性痛発症の有無を調べるとともに、生後の発達過程における何らかの要因が発症に関与している可能性が考えられることから、慢性痛発症の要因を行動学的、組織学的に探る。

3. 研究の方法

(1) 運動器慢性痛モデルの作成

SD系雄ラットを用い、片側腓腹筋に lipopolysaccharide (LPS; 2 μ g/kg (dissolved in saline), 0.3 ml/kg, SIGMA, E.Coli, 0111: B4) を投与し、その24時間後に6%高張食塩水 (HS; 0.3 ml/kg) を90分間隔で5回投与して作成する (LH処置)。

成熟処置として9週齢、若齢処置として3週齢での処置を行う。

(2) 行動学的実験

障害部および対側の筋圧痛閾値 (push-pull gauge)、足底部、下腿、尾部の皮膚痛覚閾値 (VFF: von Frey filaments)、下腿周囲径を処置後10週以上にわたって経時的に記録し、解析する。また、成熟・若齢処置それぞれの age-matched control群を作り、処置群と並行して測定する。

さらに、3週齢正常群および9週齢正常群を作り、それぞれの週齢時点での反応性を比較する。

(3) 組織学的実験

本モデルでは急性期の末梢損傷組織が長期痛み行動を引き起こすトリガーとなる可能性が考えられるため、障害筋である下腿三頭筋の凍結切片を作成しH-E染色後に光学顕微鏡で検鏡する。処置後の急性期および慢性期を時間軸として、それぞれの時期における筋組織での好中球、単球、リンパ球、中心核線維など損傷像、再生像を解析する。

4. 研究成果

(1) 運動器慢性痛モデルの作成方法の確立

神経損傷以外の慢性痛モデルとして、筋損傷による慢性痛モデルを確立した。炎症など免疫系がある程度賦活している状態で、さらに痛み刺激を加えることで慢性痛が発症することを確かめた。

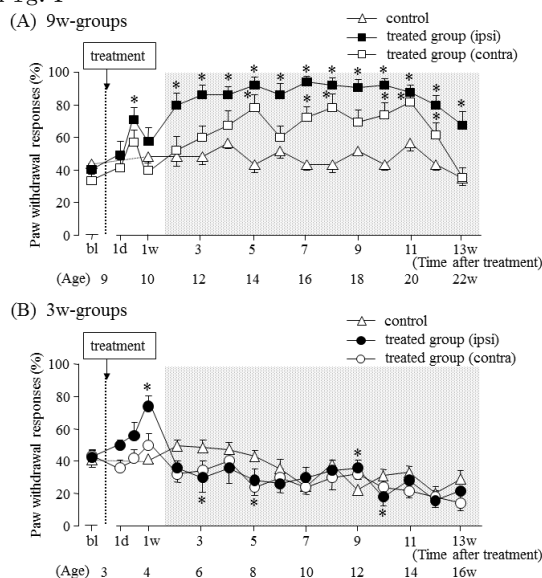
(2) 運動器慢性痛モデルでの若齢処置

9週齢 age-matched control 群では生後22週まで VFF 刺激に対する反応性はほぼ一定であった。9週齢処置群では、傷害部位の圧痛閾値低下および下腿周径増加は処置後1週目までには回復を示した。足底 VFF 刺激に対しては処置後3日目で一時的な反応の亢進がみられ、その亢進は処置後1週目で一旦減弱を示したが、処置後2週目から10週以上にわたり両側性に亢進が長期持続した (Fig. 1 (A))。この長期亢進がみられた処置後2~13週目における平均反応回数は age-matched control 群と比較した場合、すべての強度の VFF 刺激に対して有意に亢進していた。

3週齢 age-matched control 群では VFF 刺激に対する反応性は成長に伴う低下が見られた。3週齢処置群では、傷害部位の圧痛閾値低下および下腿周径増加は9週齢処置群と同様に処置後1週目までに回復を示した。足底 VFF 刺激に対しては一時的な反応の亢進が処置後1週目でみられたが、処置後2週目以降では9週齢処置群とは異なり、反応は急速に減弱し、age-matched control 群と同程度となった。非処置側も反応の亢進はみられなかった (Fig. 1 (B))。処置後2~13週目での平均反応回数は age-matched control 群と比較した場合、すべての強度の VFF 刺激に対して age-matched control 群と同程度であった。

9週齢処置群、3週齢処置群ともに体重は age-matched control 群と有意な差はなく、また、sedation や処置側に荷重をかけない、障害部を舐めるなどの行動は見られなかった。

Fig. 1



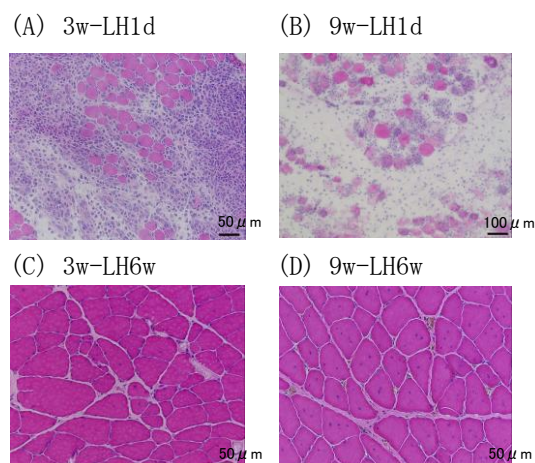
(3) 運動器慢性痛モデルでの筋組織

3週齢と9週齢ラットにLH処置 (LPS投与24時間後にHS (高張食塩水) 5回投与) を行い、急性期であるLPS処置後1日目、LH処置後1日目

(LH1d)、LH処置後1週目、慢性期であるLH処置後6週目 (LH6w) に未固定の下腿三頭筋を取り出して凍結切片を作成し、H-E染色後に光学顕微鏡で検鏡した。正常な筋は規則正しく並んだ筋線維と、筋線維間にある少量の細胞間質とで構成されているが、急性期として、LPS処置1日目では、限局した部位において筋線維の一部が変性、壊死し、壊死した筋線維の周囲には多核好中球が浸潤していた。また、血管周囲で肥満細胞の数が増加し、マクロフ

ージも観察された。LH処置1日目では、HSによる浸透圧ショックによる広範囲な筋細胞の壊死が観察され、壊死した筋細胞への大量のマクロファージの浸潤や小リンパ球の浸潤が観察された (Fig. 2(A, B))。LH処置1週目になると、筋線維・筋束間の間隙は小さくなるが、炎症細胞はまだ残存している。また、筋細胞の中心部に核を持つ再生筋細胞の出現がみられる。慢性期として、LH処置後6週目では、ほぼ正常な筋組織像に近いが、まだ、中心部に核を持つ再生筋細胞が大小不同で多く残っていた (Fig. 2(C, D))。これらの所見は、3週齢処置群、9週齢処置群のどちらでも見られ、週齢による大きな差は見られなかった。

Fig. 2



今回、3週齢処置で9週齢処置と異なり、慢性痛が発症しなかったことは、3週齢で完成していない部分が慢性痛発症に関与していることを示唆しており、また、筋組織において、処置急性期および慢性期において3週齢処置、9週齢処置で大きな差が見られなかったことから、末梢筋組織の損傷回復ではない、他の要因の関与が大きいことが伺えた。

臨床における神経障害でない打撲など軽微な軟部組織損傷による発症機転に類似しているモデルにおいて、小児での発症が少ないことも確認されたことは、運動器慢性痛の解明にこのモデルの有用性が示唆され、今後さらなる発症メカニズムの解明に貢献すると考えられる。そのためには、今後、末梢組織の障害部位から発せられる慢性痛を引き起こすトリガー因子を検索し、そのメッセンジャーとなるべき物質の同定が必要となってくると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

(1) Yoshiko Yamaguchi, Tatsuyuki Hashimoto, Hiroki Sakurai, et al, Low rather than high dose lipopolysaccharide 'priming' of muscle provides an animal model of persistent elevated mechanical sensitivity for the study of chronic pain, *European Journal of Pain*, 査読あり, Volume 15, P724-731, 2011.

DOI:10.1016/j.ejpain.2011.01.001

(2) 櫻井博紀、橋本辰幸、筋侵害性モデルの若齢処置から慢性痛発症要因を探る検討、*浜松大学保健医療学部紀要*、査読あり、第1巻、第1号、p65-69、2010.

[学会発表] (計1件)

Yusuke Ohmichi, Mika Ohmichi, Atsuko Morimoto, Takahiko Yoshimoto, Hiroki Sakurai, et al, Chronic mechanical hyperalgesia and local extravasation

induced by two-week cast immobilization in rats, 13th World Congress on Pain, Aug 30, 2010, Montréal, Canada.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

櫻井 博紀 (SAKURAI HIROKI)
浜松大学・保健医療学部・講師
研究者番号：60454419