

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 29 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390365

研究課題名(和文)急性痛は慢性痛化するか：遷延性術後痛のメカニズム

研究課題名(英文) Does acute pain progress to chronic pain: mechanisms of persistent postoperative pain

研究代表者

川真田 樹人(KAWAMATA, Mikito)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：90315523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：遷延性術後痛(Persistent postoperative pain: PPOP)の機序の一つとして、創部治癒後も深部組織の炎症の残存により創部痛が残存するとの仮説を検証し、新たなPPOPの動物モデルの確立を目指した。ラットの足底切開と足底筋を液体窒素で挫傷を加えたモデルを作成し(挫傷群)非挫傷群と比較した。挫傷群では自発痛関連行動と、機械的痛覚過敏が非挫傷群に比べて有意に延長した。挫傷した筋肉には長期間、浸潤細胞が増加し存在し、患側の脊髄後角でのマイクログリアの発現も挫傷群で多く、有意に延長した。手術による深部組織の創傷治癒過程が残存することがPPOPの機序の一つであることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that muscle injury with persistent inflammation would induce persistent postoperative pain (PPOP). We prepared two types of muscle injury, plantar muscle incision and plantar muscle cryoinjury caused by liquid nitrogen of the rat hind paw. Plantar muscle cryoinjury induced greater mechanical hyperalgesia from day 5 to 8 and spontaneous pain from day 3 to 7 compared with plantar muscle incision. In plantar muscle cryoinjury, the number of inflammatory cells in injured muscle and spinal Iba-1 expression were significantly higher compared with those in plantar muscle incision. Taken together, plantar muscle cryoinjury is a more appropriate model of PPOP compared with plantar muscle incision. This model effectively reflected the characteristics of PPOP. In addition, the results of this study suggest that spinal microglial activation is involved in the pathogenic mechanism of PPOP.

研究分野：麻酔蘇生学

キーワード：術後痛 遷延性術後痛 動物モデル 筋肉 慢性炎症 マイクログリア

1. 研究開始当初の背景

(1)すべての手術患者は急性痛としての術後痛を経験する。急性期の術後痛は通常、創治癒により消失するが、創治癒後も痛みが持続する遷延性術後痛 (Persistent Post-operative Pain: PPOP) という病態が存在する。欧米の統計から推定すると、本邦では胃がん患者(10万人/年)や大腸がん患者(8万人/年)に匹敵する8万5千人の PPOP 患者が毎年発生していることになる(川真田, 第31回日本ペインクリニック学会教育講演, 2011)。しかし、PPOP は遷延化のメカニズムは不明であり治療が困難であり、社会的・医療経済的に大きな損失である。

(2)開胸手術、開心術、乳腺手術、ソケイヘルニアなど、PPOP を発症しやすい手術法が知られている。これらの手術では、広範な皮神経の切除(乳腺手術)、直接の肋間神経損傷(開胸・開心術)、異物(メッシュ)の残存(ソケイヘルニア)など、各手術に固有な手技が PPOP の発症に関連していると考えられる。こうした各手術固有の機序を検討するため、例えば、肋間神経損傷による PPOP のラットモデルが報告された (Buvanendran et al., Anesth Analg, 2004)。一方、すべての手術で一定の割合で PPOP が発生することから、手術に共通な PPOP の機序も推定されるが、この点からのアプローチは行われていない。

(3)すべての手術に共通な PPOP の発症メカニズムを検討するためには、新たな PPOP のモデル動物の確立が重要である。手術侵襲に共通な傷害は、皮膚から深部へと傷害が及び、多くの組織が同時に損傷することである。したがって、術後の創傷治癒は、皮膚・皮下組織を主体とする創部の治癒を意味し、筋・骨・関節や筋・腹胸膜・内臓器の完全な創傷治癒を意味していない。

2. 研究の目的

(1)本研究では、手術共通の侵襲である、深部組織の損傷の中でもっとも再現が可能な筋損傷を取り上げ、筋損傷による創部(皮膚)の痛覚過敏と自発痛関連行動を検討し、新たな PPOP の動物モデルの確立を行う。

(2)上記の新たな PPOP 動物モデルの筋での炎症の時間経過や、疼痛持続の脊髄後角におけるメカニズムをマイクログリアの活性化の点から検討し、多くの手術に共通の PPOP のメカニズムの解明を試みる。

3. 研究の方法

(1)倫理委員会で承認を受け、雄性 SD ラット(250-300 g)を用いた。Brennan の報告(Brennan et al., Pain, 1996)に従い、ラット右足底に長さ1 cm の皮膚切開を加え、足底筋を挙上しメスで縦に(筋繊維に平行)5 mm 切開した群(非筋挫傷群)と、同様に筋切開後、-190 の液体窒素に2分間浸しφ2 mm のスチールバーを足底筋の切開部位に3分間 x 2回接触させて挫傷を加えた群(筋挫傷群)に分類した(図1)。皮膚を縫合した後、抗生剤を投与し回復を待って実験に供した。



図1. 液体窒素に浸したバーでの足底筋への挫傷作成

(2)行動学的検討

手術後14日まで、経時的にラットの自発痛関連行動、熱性痛覚過敏、機械的痛覚過敏を計測した。

(3) 足底筋における炎症細胞浸潤の評価

手術後、4 日および 7 日目に、ラットを麻酔下で灌流固定し、足底腱を HE 染色し、浸潤細胞を評価した。また足底筋を摘出し、フローサイトメリーにて CD45 陽性細胞数を、非筋挫傷群と筋挫傷群で計測し比較した。

(4) 脊髄 L4-5 髄節における c-Fos 発現

手術後、経時的に灌流固定し脊髄 L4-5 髄節の c-Fos 発現を免疫染色で検討した。

(5) マイクログリア発現

手術後、経時的に灌流固定し脊髄 L4-5 髄節を Iba-1 で免疫染色し、マイクログリアの活性を検討した。

4. 研究成果

(1) 自発痛関連行動は、術後、非筋挫傷群では 4 日目まで手術前に比べて有意に増加した、筋挫傷群では 8 日目まで有意に増加した。2 群間の比較では、3-8 日は非筋挫傷群に比べ有意に高く、筋挫傷群で有意に延長した (図 2)。

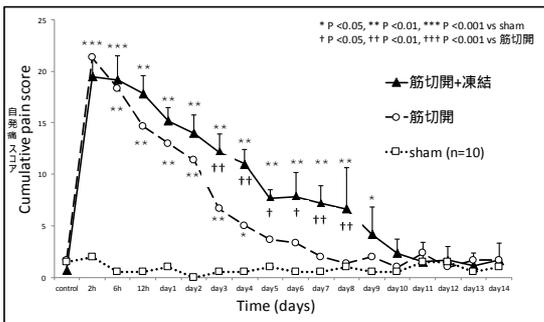


図 2. 自発痛関連行動の経時変化

(2) 機械的痛覚過敏は、術後、非筋挫傷群では 4 日目まで手術前に比べて有意に増加したが、筋挫傷群では 9 日目まで有意に増加した。2 群間の比較では、5-9 日目は非筋挫傷群に比べ有意に高く、筋挫傷群で有意に延長した (図 3)。

(3) 脊髄後角 c-Fos 発現は、術後 2 時間から浅層と深層で筋挫傷群と非筋挫傷群ともに増加し

た。その後、減少したが、12 時間目に筋挫傷群が脊髄後角深層で有意に多くの神経細胞で c-Fos 発現がみられた。

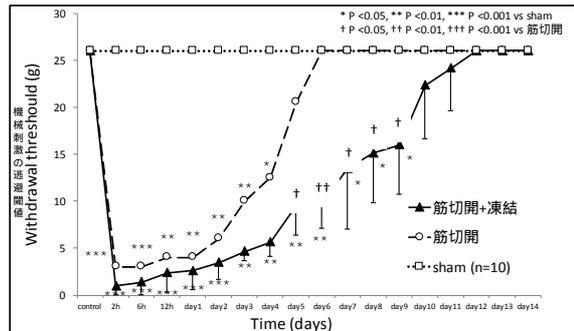


図 3. 機械的痛覚過敏の経時変化

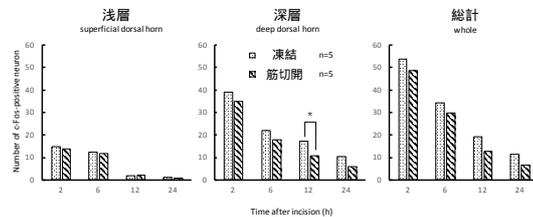


図 4. 脊髄後角 c-Fos 発現

(4) 足底皮膚は 3 日目には癒合し、皮膚創傷は治癒したと判断した。一方、足底筋の炎症細胞浸潤は 4 日目に筋挫傷群で有意に多かった。

(5) フローサイトメリーによる白血球数は、手術後、非筋挫傷群と筋挫傷群ともに増加した。非筋挫傷群では術後 4 日目には急激に減少したものの、筋挫傷群では白血球数が比較的維持され続けた (図 5)。

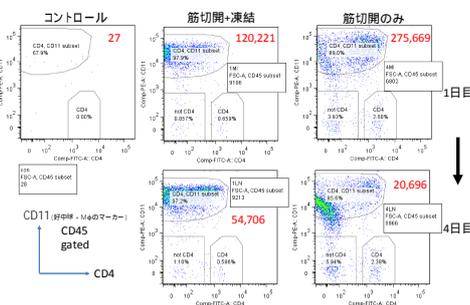


図 5. フローサイトメリーによる細胞数

(6) 脊髄後角におけるマイクログリア発現量は、4、7 日には筋挫傷群で有意に多かった(図6、7)。

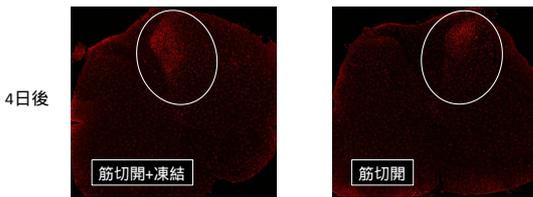


図6. 脊髄後角におけるマイクログリア発現 (Iba-1 染色)

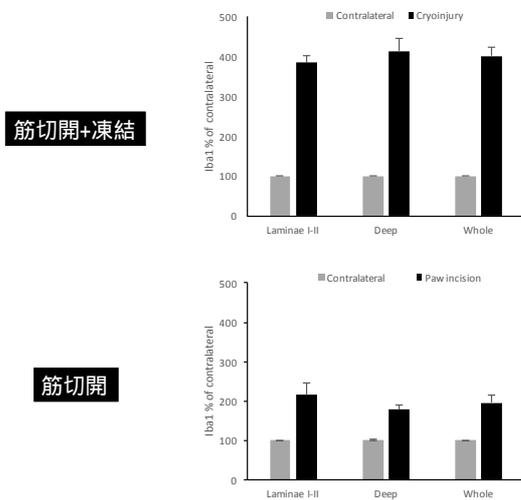


図7. マイクログリア発現細胞の経時変化

(7) 研究結果のまとめ

① 自発痛関連行動と機械的痛覚過敏は、非筋挫傷群に比べて筋挫傷群で有意に長く続いた。

② 足底皮膚は 3 日目には創傷治癒したように見えたが、足底筋の炎症細胞浸潤は少なくとも 7 日目以上継続し浸潤細胞はより長く足底筋に存在した。

③ 脊髄後角の c-Fos およびマイクログリアの発現は非筋挫傷群に比べて筋挫傷群で有意に長く続き、これはマイクログリアでより顕著であった。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文) (計 13 件)

1. Fuseya S, Yamamoto K, Minemura H, Yamaori S, Kawamata T, Kawamata M. Systemic QX-314 Reduces Bone Cancer Pain through Selective Inhibition of Transient Receptor Potential Vanilloid Subfamily 1-expressing Primary Afferents in Mice. *Anesthesiology* 2016; 125:204-18(査読有).
2. Ishida T, Tanaka S, Sekiguchi T, Sugiyama D, Kawamata M. Spinal nociceptive transmission by mechanical stimulation of bone marrow. *Mol Pain* 2016;12. pii: 1744806916628773 (査読有).
3. Ishida T, Kiuchi C, Sekiguchi T, Tsujimoto T, Kawamata M. McGRATH MAC video laryngoscope for insertion of a transoesophageal echocardiography probe: A randomised controlled trial. *Eur J Anaesthesiology* 2016;33:263-8(査読有).
4. Ishida T, Sakamoto A, Tanaka H, Ide S, Ishida K, Tanaka S, Mori T, Kawamata M. Transversus abdominis plane block with 0.25 % levobupivacaine: a prospective, randomized, double-blinded clinical study. *J Anesth* 2015;29:557-61(査読有).
5. Kawai Y, Ajima K, Kaidoh M, Sakaguchi M, Tanaka S, Kawamata M, Kimura H, Ohhashi T. In vivo support for the new concept of pulmonary blood flow-mediated CO2 gas excretion in the lungs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2015;308:L1224-36(査読有).
6. Sugiyama Y, Shimizu F, Shimizu S, Urasawa M, Tanaka S, Kawamata M. Severe Re-expansion Pulmonary Edema Induced by One-Lung Ventilation. *Respir Care* 2015;60:e134-40(査読有).
7. Ishida K, Kawamata T, Tanaka S, Shindo T, Kawamata M. Calcitonin gene-related peptide is involved in inflammatory pain but not in postoperative pain. *Anesthesiology*

- 2014;121:1068-79(査読有).
8. Ide S, Kawamata T, Imai N, Ando A, Kawamata M. Misplacement of a guidewire into the vertebral vein through the internal jugular vein. *J Cardiothorac Vasc Anesth*2012;26:e17-8(査読有).
 9. Kimura-Kuroiwa K, Adachi YU, Obata Y, Kawamata M, Sato S, Matsuda N. Dexmedetomidine and hydroxyzine synergistically potentiate the hypnotic activity of propofol in mice. *J Anesth.* 2012;26:422-8 (査読有).
 10. Kawaguchi M, Kawamata M, Yamada Y. Improvement of motor evoked potentials monitoring is required during thoracic or thoracoabdominal aortic aneurysm surgery under hypothermic cardiopulmonary bypass. *J Anesth* 2012;26:157-9(査読有).
 11. Sugiyama D, Hur SW, Pickering AE, Kase D, Kim SJ, Kawamata M, Imoto K, Furue H. In vivo patch-clamp recording from locus coeruleus neurones in the rat brainstem. *J Physiol* 2012 ;590: 2225-3159(査読有).
 12. Kimura-Kuroiwa K, Adachi YU, Mimuro S, Obata Y, Kawamata M, Sato S, Matsuda N. The effect of aging on dopamine release and metabolism during sevoflurane anesthesia in rat striatum: an in vivo microdialysis study. *Brain Res Bull* 2012;89:223-30(査読有).
 13. Hyuga S, Sekiguchi T, Ishida T, Yamamoto K, Sugiyama Y, Kawamata M. Successful tracheal intubation with the McGrath(®) MAC video laryngoscope after failure with the Pentax-AWS™ in a patient with cervical spine immobilization. *Can J Anaesth* 2012;59:1154-5(査読有).

[学会発表](計 13 件)

1. 吉山勇樹, 杉山由紀, 田中聡, 川真田 樹人. 遷延性術後痛と創部の炎症(シ

ンポジウム). 日本ペインクリニック学会 第 49 回大会(大阪)2015.7.23-25.

2. 川真田 樹人. 遷延性術後痛:機序から診療まで(教育講演). 日本ペインクリニック学会 第 49 回大会(大阪) 2015.7.23-7.25
3. 川真田 樹人. 術後痛: 急性痛から慢性痛へ(セミナー). 第 36 回日本疼痛学会(大阪) 2014.6.20-21.

[図書](計 15 件)

1. 布施谷 仁志, 石田 高志, 川真田 樹人: 覚醒下手術の麻酔管理. 神経麻酔. 克誠堂出版, 2016, pp254-259.
2. 村上 育子, 川真田 樹人: 麻酔に関するインフォームドコンセントではどこまで説明すべきか?. 麻酔科 クリニカルクエスチョン. 診断と治療社, 2016, pp20-22.
3. Sugiyama Y, Kawamata M: Steroids, Diuretics, and Anticonvulsants. *Neuroanesthesia and Cerebrospinal Protection*. Springer, Tokyo, 2015, pp113-118.
4. Ishida T, Kawamata M: Anesthesia in Awake Craniotomy. *Neuroanesthesia and Cerebrospinal Protection*. Springer, Tokyo, 2015, pp371-379.
5. 川真田 樹人: 痛みの生理学. 麻酔科学レビュー2015. 総合医学社, 2015, pp211-214.
6. 川真田 樹人: 神経筋疾患. ペインコントロール. 今日の治療指針. 医学書院, 2015, pp849-850.
7. 川真田 樹人: 急性痛. 痛みの臨床テキスト. 南江堂, 2015, pp2-5.
8. 川真田 樹人: 脊髄くも膜下麻酔・硬膜外麻酔. 麻酔科学文献レビュー2015~2016 総括・文献紹介. 秀潤社, 2015, pp42-62.
9. 川真田 樹人: アセトアミノフェン. 麻酔科医のための周術期の薬物使用法. 中山書店, 2015, pp179-181.
10. 田中 聡, 川真田 樹人: 術後痛 開胸術後

痛. 痛みの Science&Practice8 臨床に役立つ神経障害性痛の理解. 文光堂, 2015, pp151-154.

11. 川真田 樹人, 峰村 仁志: 痛みの伝導機構と区域麻酔. 麻酔科医のための区域麻酔スタンダード. 中山書店, 2015, pp15-21.
12. 石田 高志, 川真田 樹人: 覚醒下開頭手術の麻酔管理. 神経麻酔 Q&A -エビデンスに基づく最新の知識とテクニック-. 総合医学社, 2014, pp173-177.
13. 川真田 樹人: 遷延性術後痛. 痛みの Science & Practice 5. 痛み診療キーポイント. 文光堂, 2014, pp157.
14. 川真田 樹人: 胸部痛. 痛みのマネジメント update -基礎知識から緩和ケアまで. 日本医師会, 2014, pp138-139.
15. 田中 聡, 川真田 樹人: 遅延性術後痛に対するペインクリニック外来の取り組み. 新戦略に基づく麻酔・周術期医学 麻酔科医のための周術期の疼痛管理. 中山書店, 2014, pp291-298.

6. 研究組織

(1)研究代表者

川真田 樹人 (KAWAMATA, Mikito)
信州大学・学術研究院医学系・教授
研究者番号: 90315523

(2)研究分担者

田中 聡 (TANAKA, Satoshi)
信州大学・学術研究院医学系・准教授
研究者番号: 60293510

杉山 由紀 (SUGIYAMA, Yuki)
信州大学・学術研究院医学系・助教
研究者番号: 10468100

石田 高志 (ISHIDA, Takashi)
信州大学・医学部附属病院・助教 (診療)
研究者番号: 60531952

杉山 大介 (SUGIYAMA, Daisuke)
信州大学・医学部・助教 (特定雇用)
研究者番号: 40467189
(平成 25 年度)

川股 知之 (KAWAMATA, Tomoyuki)
信州大学・医学部・准教授
研究者番号: 80336388
(平成 24 年度から平成 25 年度)