

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593047

研究課題名(和文) 酸感受性イオンチャネルを介した術後痛のメカニズム 乳酸は痛みを増強するか

研究課題名(英文) Acid sensitive ion channel in postoperative pain

研究代表者

城戸 幹太 (KIDO, Kanta)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：40343032

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々は手術後の疼痛を効果的に管理できるようにするために、その複雑な発生機序の解明を目的としている。本研究では、手術創におけるpHの低下が、どのように一次知覚神経を感作し、痛みを増強しているのかを動物行動実験および神経筋標本による電気生理学的実験を用いて探求した。この機序には、酸感受性イオンチャネル(ASIC)が関与しており、深部組織の障害がより痛みを増強していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We are focusing on the mechanism underlying postoperative pain status. In this study, we examined whether pH changes in wound effect on the sensitization of primary afferents and increase post operative pain using rat behavioral testing and in vitro muscle-nerve preparation. We demonstrated that acid sensitive ion channel is one of the most important factors of postoperative pain in deep tissue.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：術後痛 酸感受性イオンチャネル

1. 研究開始当初の背景

近年の周術期医療において最も重要な課題の1つが術後疼痛の管理である。これまで様々な動物疼痛モデルを用いて研究が進められてきたが、1996年に Brennan らが開発したラット術後痛モデルは、人の術後経過と非常によく似た経過をとり、その後の術後痛研究に大きな進歩と発展をもたらした。このモデルにより、NMDA、TRP ファミリーやNGFなどの疼痛関連分子と術後痛の関係、手術後の組織酸素濃度や組織 pH、産生される乳酸濃度の変化と神経の sensitization の関係、さらに C5a などの免疫補体系を介する疼痛の発生メカニズムの解明、カプサイシン前処理による術後痛の軽減など、基礎的かつ重要な事象が次々と明らかになった。さらにここ数年では、皮膚切開よりも深部切開(筋肉)がより術後痛発生に重要な影響を与える因子であることが明らかになった。そこで我々のグループは、傷害された筋肉にフォーカスを当て、あらたに開発した足底筋-脛骨神経標本を用いて、切開が筋求心性線維(主に Aδ および C 線維)をどのように感作し、痛覚過敏を生じるのか、その性状と程度を研究してきた。この手技手法はその困難さからも世界的に例が無く、術後痛発生メカニズムを解明する上で非常に有用な実験手技であることから、この実験手技をベースに、さらに術後痛研究を進展させることとした。

2. 研究の目的

近年酸に対する痛覚神経の反応に数種の酸感受性イオンチャンネル Acid-sensing ion channels ASICs が密接な関わりを持つことが分かり、注目を浴びている。もしこの ASICs が術後痛に関与することが明らかとなれば、そのメカニズムを解明することは臨床的にも非常に意義深いと考えた。そこで、ラット術後痛モデルおよび足底筋神経標本を用いて、

(1) pH の変化が疼痛や活動電位を増強させるかどうか

(2) ASIC をブロックすることで、術後痛を軽減できるか

(3) ASIC の上流にあるといわれる

Protease-activated receptor-2 を制御することで、術後痛を抑制することが可能かを検討した。これらを併せて検討することにより術後痛、特に傷害された筋肉における自発痛・体動痛の発生メカニズムの一端を解明できると考える。

3. 研究の方法

(1) 足底切開によるラット術後痛モデルを用いて、von Frey による機械刺激、赤外線熱刺激装置による熱刺激による逃避行動、および自発痛行動(リッキング、フリンチングなど)を、術前日、術後2、4、6、12、24時間、2、3、5、7日のタイムコースで評価し、

切開による術後痛の強さおよび経過について基礎的データを得る。さらに pH の異なる乳酸を足底に投与して反応を観察する。

(2) in vitro muscle - nerve preparation を用いた電気生理学的研究を行う。すなわち、ラット足底から脛骨神経付きの足底筋を取り出し、人工細胞間質液で灌流されているチャンバー内にて維持する。1本の神経線維にまで裂き、それを電極に乗せ活動電位を観察する。侵害受容器はガラス棒にて筋表面を軽く圧した際に活動電位を生じることで発見する。その後、受容野に対して機械刺激、熱刺激および化学的刺激として乳酸を加え、求心線維の活動電位数の変化を解析する。この方法の利点は、in vivo と違い、動物の全身管理の必要が無く、痛みも与えない。この標本を用いて、pH を変化させた乳酸を投与し、活動電位の変化を観察す。

(3) 痛みとして認識される神経活動を抑制する因子を解明する。抑制には ASIC s チャネル拮抗薬を用いる。

(4) ASIC を刺激するといわれる PAR-2 に対しても同様に検討を行った。

4. 研究成果

(1) 術後切開モデルの神経筋標本における pH 変化の影響を乳酸を用いて検討した。コントロール群と切開群の筋肉における弱酸に対する一次求心性線維の反応数は、切開群の方がより反応する線維が多かった。これは、組織に障害が加わることで、酸に対する感受性が高まることを示唆している。特に、pH6.5 と pH7.0 を比較したときは、切開群がより低い pH に反応することが分かった。(図1)

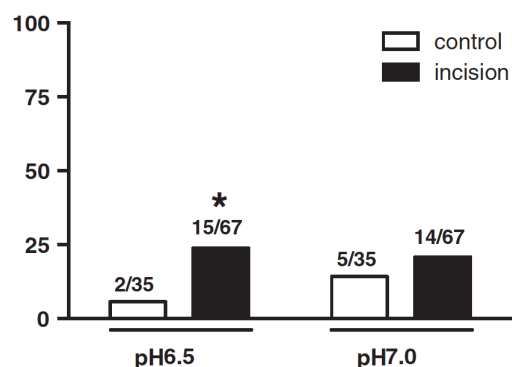


図1. コントロール群と incision (切開) 群の酸感受性の比較

(2) ASIC のブロッカーであるアミロライドを投与して乳酸に対する反応性を見たところ、多くの神経の反応性は減少させることができたが、一部では逆に亢進する結果が見られた。これは、アミロライドの構造自体が神経興奮を誘導する可能性が示唆され、さらなる詳細な検討が必要と思われた。

これらから、傷害された筋肉においては組織 pH に対する反応性は亢進し、そのことが術後痛を増強している可能性が示唆された。

乳酸投与



アミロライドによるブロック



図 2 . 酸の反応性に対する ASIC ブロッカーの影響

(3) さらに、ASIC の上流に位置し、ASIC 活性化の役割を担っていると思われる PAR-2 についても検討を行った。PAR-2 のアンタゴニストである ENMD1068 を前投与した後、切開を加えると、術後痛をよく抑制した。また、PAR-2 のアゴニストである SLIGRL をラット足底部に注射したところ、投与後 15 分までに自発痛を示す行動(足をなめる、振る)が観察された。また機械刺激および熱刺激においてもそれぞれ過敏となったが、その反応は投与後約一日で消失したことから PAR-2 は組織障害後早期の痛みの成立機序に関与していることが示唆された。また、神経皮膚標本においてもアゴニストによって活動電位が多く見られたことから上記が示唆された(図 3)

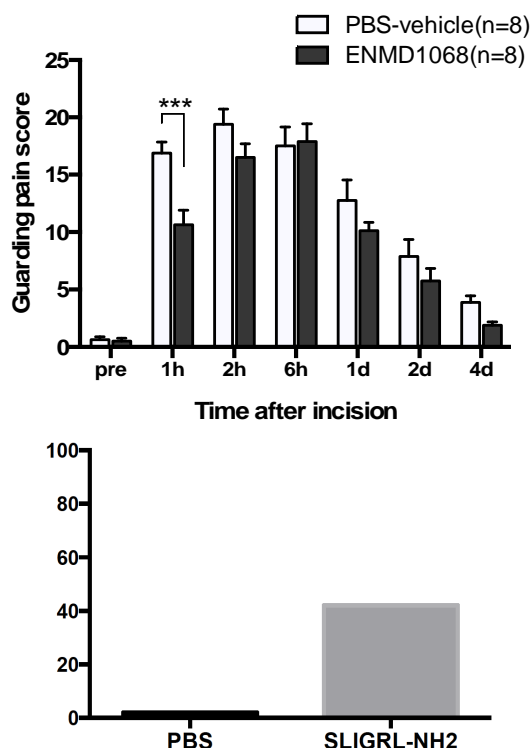


図 3 . PAR-2 アゴニストによる反応

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 5 件)

Kido K, Gautam M, Benson CJ, Gu H, Brennan TJ. Effect of Deep Tissue Incision on pH Responses of Afferent Fibers and Dorsal Root Ganglia Innervating Muscle. *Anesthesiology*. 119(5): 1186-1197. 2013 査読あり doi; 10.1097/ALN.0b013e31829bd791

Yasuda M, Kido K, Ohtani N, Masaki E. Mast cell stabilization promotes antinociceptive effects in a mouse model of postoperative pain. *J Pain Res* 2013;6;161-166 査読あり. doi; <http://dx.doi.org/10.2147/jpr.S41527>

Ono H, Ohtani N, Matoba A, Kido K, Yasui Y, MD, Masaki E. Efficacy of intrathecal esmolol on heat evoked responses in a postoperative pain model. *Am J Ther* Feb 13 2013 査読あり doi; 10.1097/MJT.0b013e318274e0a1.

[学会発表](計 4 件)

Kido K, Masaki M. Nociceptive sensitization by activation of Protease-Activated Receptor 2 (PAR-2) in rats. *Neuroscience* 2014 Nov 15-19, 2014 Washington, DC USA

城戸幹太, 安田真, 正木英二. ラット術後痛モデルにおける Proteinase-activated receptor 2 (PAR-2) 活性化の影響 第 42 回日本歯科麻酔学会総会 . 2014 年 10 月 11 日 . 新潟市 .

Kido K, Masaki E. Nociceptive sensitization by activated Proreinease-activated receptor 2. *Neuroscience* 2013 Nov 9-13, 2013 San Diego, USA

城戸幹太, 安田真, 正木英二. Proteinase activated receptor2 活性化による侵害受容感作 第 41 回日本歯科麻酔学会総会 2013 年 10 月 4 日 . 横浜市 .

6 . 研究組織

(1)研究代表者

城戸 幹太 (KIDO, Kanta)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号 : 40343032

(2)研究分担者

正木 英二 (MASAKI, Eiji)
東北大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号： 40221577

大谷 法理 (OHTANI, Norimasa)
東北大学・大学院歯学研究科・非常勤講
師
研究者番号 60338879