

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792168

研究課題名(和文) 乳酸産生が術後痛に与える影響 - 酸感受性チャネルを介した痛みのメカニズム -

研究課題名(英文) The influence that lactic acid production gives in postoperative pain

研究代表者

安田 真 (YASUDA, MAKOTO)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：70431591

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：手術操作により創出される神経損傷と炎症本能は、結果として痛みの増悪をもたらす。そこで、本研究は、術後痛モデルを用いて、術後痛への肥満細胞の関与を調査した。

方法：実験はマウスを用いて行った。術後痛モデルは下肢に切開を施す事により作製した。肥満細胞膜スタビライザーであるクロモグリケイドを切開前に注入した。術後痛は自発痛、機械刺激および熱刺激を施し評価した。これらの項目について術後1、2、7日目に評価、記録した。

結果：肥満細胞安定化により、自発痛、機械刺激による疼痛は抑制された。熱刺激により生じる疼痛に対しては、クロモグリケイドの抑制効果は顕著ではなかった。

研究成果の概要(英文)：Background: Nerve injury and consequence inflammatory responses produced by surgical incision result in a complicated pain status which still embarrass half of all surgical patients. The aim of this study was to investigate whether stabilization of mast cells causes antinociceptive effects in a mouse postoperative pain model.

Methods: The experiments were conducted using BALB/c mice. The postoperative pain model was achieved by the incision of the hind paw. The mast cell membrane stabilizer cromoglycate (200 µg/20 µl) was injected before the incision in the hind paw and postoperative pain responses were assessed with guarding behaviors, withdrawal threshold to mechanical stimuli and latencies to heat. Pain behaviors were measured 1 day, 2 days, and 7 days after incision.

Results: Cromoglycate decreased guarding pain scores and withdrawal threshold to mechanical stimuli, however, withdrawal latencies to heat were not affected by the treatment of cromoglycate.

研究分野：歯科麻酔

キーワード：術後痛

## 1. 研究開始当初の背景

術後痛の原因は未だ完全には解明されていない。そして、現在よく使われる麻薬、解熱性鎮痛剤などが奏効しないものも多い。このことから術後痛のメカニズムは多彩なものであると推察される。最近、局所の乳酸産生が、術後痛に影響を及ぼすことが報告されている。そして、この乳酸産生についても様々な伝達経路、物質の関与が考えられる。

## 2. 研究の目的

術後痛の多彩なメカニズムを解明するのが最終目的だが、本研究においては、そのいくばくかを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

この実験は東北大学動物実験専門委員会の承認を受け、その指針に従って実験を行った。

### (1) 動物

本研究では20匹のBALB/cマウス(8週齢、オス、体重20~30g)を使用した。切開前後を通して食物、水に自由にアクセスできる状態とし、12時間毎の明、暗サイクルとした。

### (2) マウス術後痛モデル

術後痛モデルは過去に記述のある方法に則り作製した。マウスに3~4%セボフルンにて麻酔を施した。右足を10%ポピドンヨード溶液にて消毒した後、かかと後端から2mmの位置から長さ8mm、筋膜に達する深さの切開を11番メスで足底に加えた。単純縫合2針にて皮膚縫合し、抗生剤入り軟膏を塗布した。手術後麻酔を切り、ゲージにてリカバリさせた。術後2日目に、再び全身麻酔し、抜糸を行った。

### (3) 実験群

#### 切開のみの群

生理食塩水20  $\mu$ lを足底に投与し、その20分後に同部に切開を施した。

#### クロモグリケイド投与群

切開20分前に足底にクロモグリケイド(200  $\mu$ g/20  $\mu$ l)を投与した。これは生理食塩水にて希釈した。

### (4) 測定項目

術後1、2、7日目に次の項目について測定した。

#### 自発痛

マウスをクリアーボックス(9×9×7cm)に入れ、床は4×4mmのワイヤーメッシュとした。切開側と非切開側の足底が均等に接触しているか、否かを1分間観察した。これを5分毎に60分間、計12回測定した。切開側が床に触れていなければ2、切開側が床に接触しているが非切開側に比べ弱ければ1、均等に接触していれば0の自発痛スコア(0~24)を与えた。

#### 機械刺激に対する反応

マウスを自発痛と同様のクリアーボックスに入れ、ワイヤーメッシュ床に位置させた。移動によりマウスは落ち着きなく動き、探索行動をするが、最終的には安定する。この状態にてフォン・フレイフィラメントを細いものから5回、30秒間隔で創部にあてた(0.7mN、2mN、3.1mN、5.9mN、14mN、26.4mN)。刺激により足を上げた回数を測定し、データを%にて示した。

#### 熱刺激に対する反応

熱刺激への反応はマウスをガラス板の上に位置させ実験を行った。熱刺激は50w、口径6mmのプロジェクターランプにて施し、ガラス板(厚さ3mm)の下から切開の中央部へ当てた。カットオフ値は30秒とした。熱刺激の強度は正常なマウスにおいて25~30秒となるものとした。5~10分毎に3回行いその平均を取った。

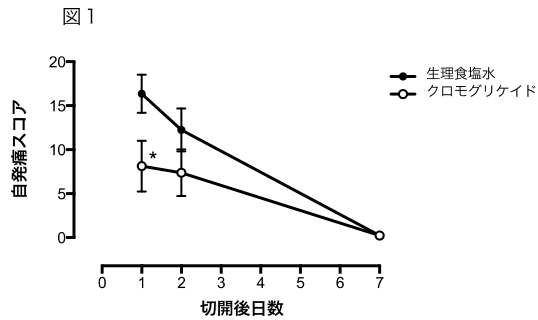
### (5) データの統計的解析

統計には2way ANOVAを使用し、ボンフェローニ・ポスト・テストにて $p < 0.05$ を有意差ありとした。データの分析にはグラ

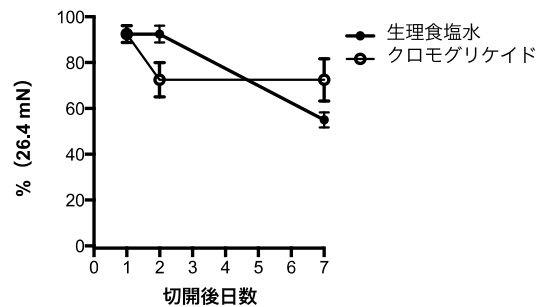
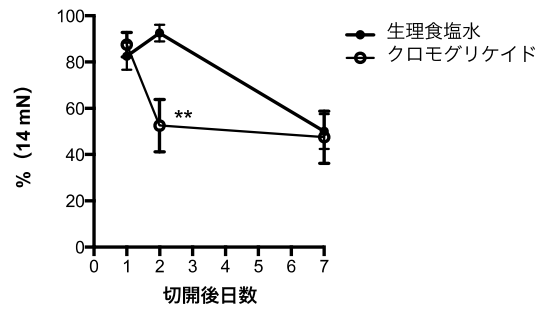
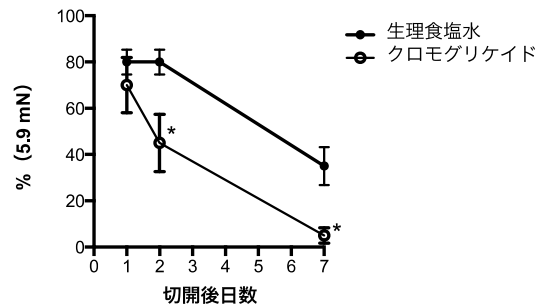
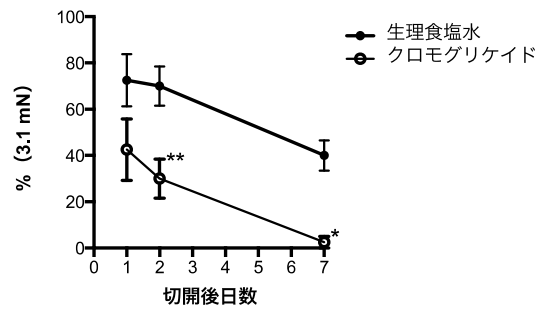
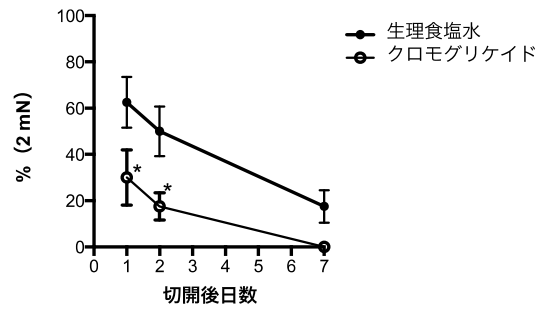
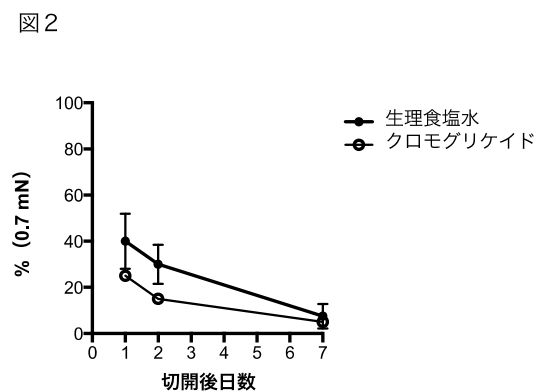
フパッド・プリズム 6 を用いた。

#### 4. 研究成果

自発痛スコアはクロモグリケイド群、切開群ともに正の値が生じた。術後 1 日目において、両群の間に有意差がみられた(図 1)。



フォン・フライフィラメントによる機械刺激において、0.7 mN ではクロモグリケイド投与群と非投与群の間に有意差はみられなかった。2 mN では術後 1 日目、2 日目に有意差がみられた。3.1mN と 5.9mN では術後 2 日目、7 日目に有意差がみられた。14mN では術後 2 日目のみに有意差がみられた。26.4mN では有意差がみられなかった(図 2)。



熱刺激において有意差はみられなかった。

#### 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1件)

安田 真、城戸 幹太、大谷 法理、正木 英二、Mast cell stabilization promotes antinociceptive effects in a mouse model of postoperative pain、journal of pain research、査読有、6巻、2013、161-166  
DOI:10.2147/JPR.S41527

〔学会発表〕(計2件)

安田 真、城戸 幹太、正木 英二、マウス術後痛モデルにおけるクロモグリケイドの疼痛抑制効果、第42回日本歯科麻酔学会、平成26年10月11日、日本歯科大学新潟生命歯学部(新潟県・新潟市)

安田 真、城戸 幹太、正木 英二、肥満細胞活性化と術後痛、第40回日本歯科麻酔学会、平成24年10月6日、アクロス福岡(福岡県・福岡市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

安田 真 (YASUDA, MAKOTO)  
東北大学・大学病院・助教  
研究者番号: 70431591