

図1 久山町ストレス健診参加者の疼痛群別の割合

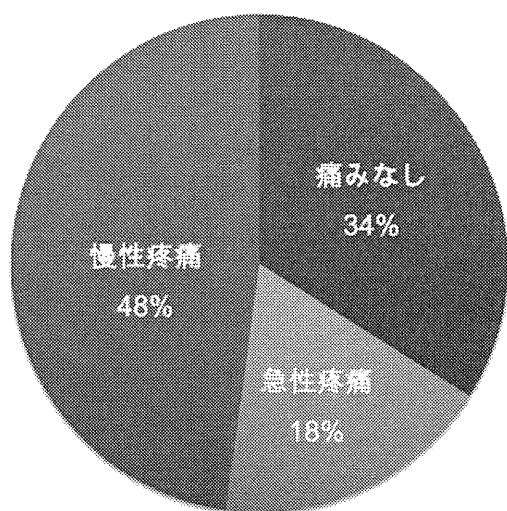


表1 ストレス健診参加者の特性

	痛みなし群 N=310	急性疼痛群 N=166	慢性疼痛群 N=440
年齢	61	60	62
性別（女性）	58.4%	75.3%**	65.9%*
婚姻状況（同棲・既婚）	80.3%	82.5%	82.5%
教育年数（9年以下）	15.2%	16.9%	17.1%
経済状況（やや厳しい～とても厳しい）	17.7%	22.9%	20.5%
失感情症総点（範囲 0-100点）	45.8	49.6**	48.8**
失感情症（有り）	4.5%	9.6%*	12.7%**
抑うつ（範囲 0-4点）	0.54	0.69**	0.85**
不安（範囲 0-4点）	0.30	0.40**	0.50**
痛みの強さ（範囲 0-100）	0	28**	42**
日常生活障害（範囲 0-100）	0	5**	10**

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs. 痛みなし群

年齢、失感情症総点は平均値を、抑うつ、不安、痛みの強さ、生活障害は中央値を表示

図2 性・年齢階級別にみた急性疼痛、慢性疼痛の割合

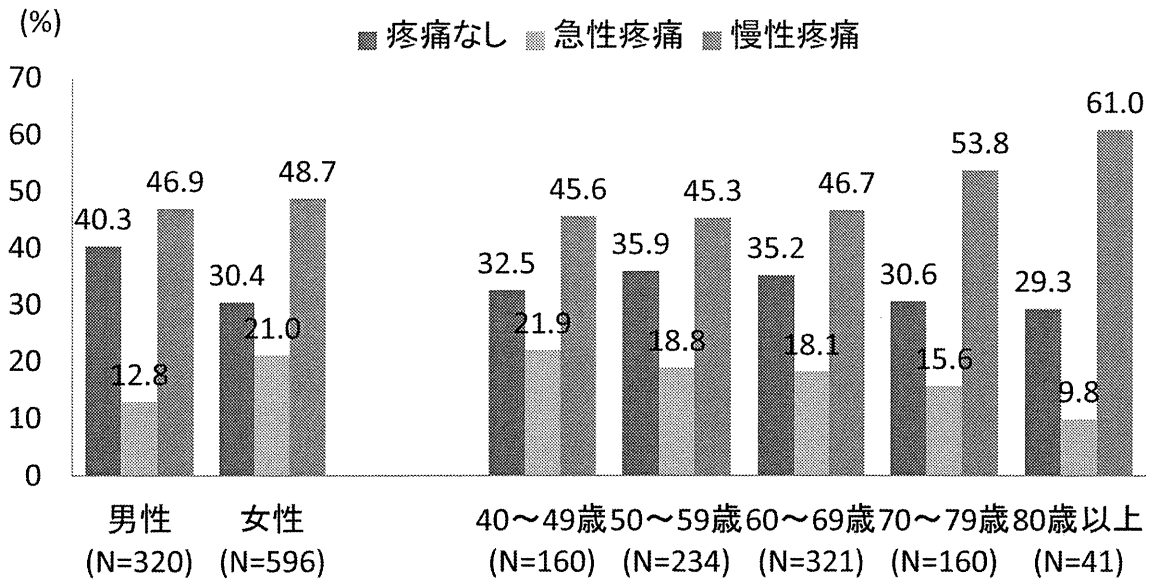


図3 急性疼痛・慢性疼痛の最も痛みの強い部位

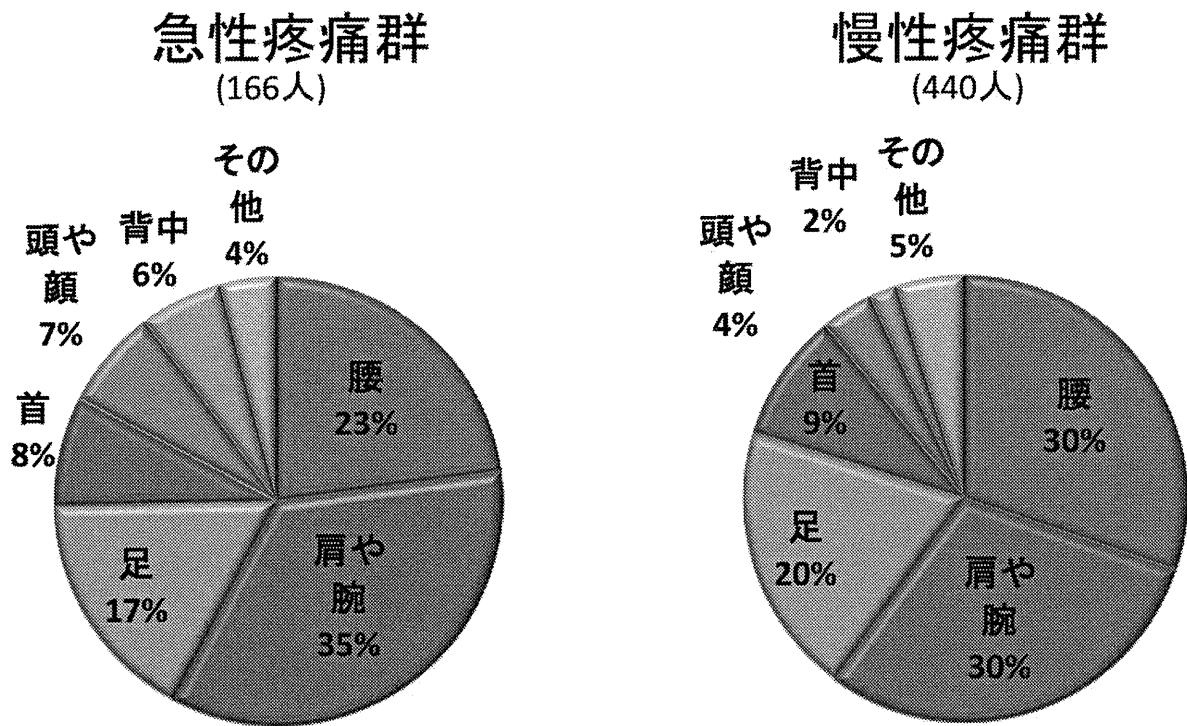


図4 急性疼痛・慢性疼痛あるいは各年齢群別にみた最も痛みの強い部位

	疼痛群		慢性疼痛						
	急性疼痛 (n=166)	慢性疼痛 (n=440)	性		年齢群				
			男性 (n=150)	女性 (n=290)	40-49 (n=73)	50-59 (n=106)	60-69 (n=150)	70-79 (n=86)	80- (n=25)
頭や顔, %	7.2	3.9	3.3	4.1	9.6	5.7	1.3	1.2	4.0
首, %	7.8	9.3	10.0	9.0	12.3	15.1	7.3	4.7	4.0
肩や腕, %	34.9	29.8	33.3	27.9	21.9	41.5	29.3	26.7	16.0
胸部, %	1.8	0.5	0.7	0.3	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0
背部, %	6.0	2.1	2.7	1.7	1.4	0.9	3.3	2.3	0.0
腹部, %	1.2	1.1	0.7	1.4	4.1	0.9	0.0	1.2	0.0
腰部, %	22.9	30.2	32.7	29.0	35.6	19.8	32.7	33.7	32.0
足, %	16.9	19.8	13.3	23.1	12.3	13.2	20.7	25.6	44.0
骨盤や会陰, %	0.6	1.4	2.0	1.0	1.4	0.9	1.3	2.3	0.0
複数の部位で同じ痛み, %	0.6	2.1	1.3	2.4	1.4	1.9	2.7	2.3	0.0

図5 疼痛群別にみた生活満足度の平均値の比較

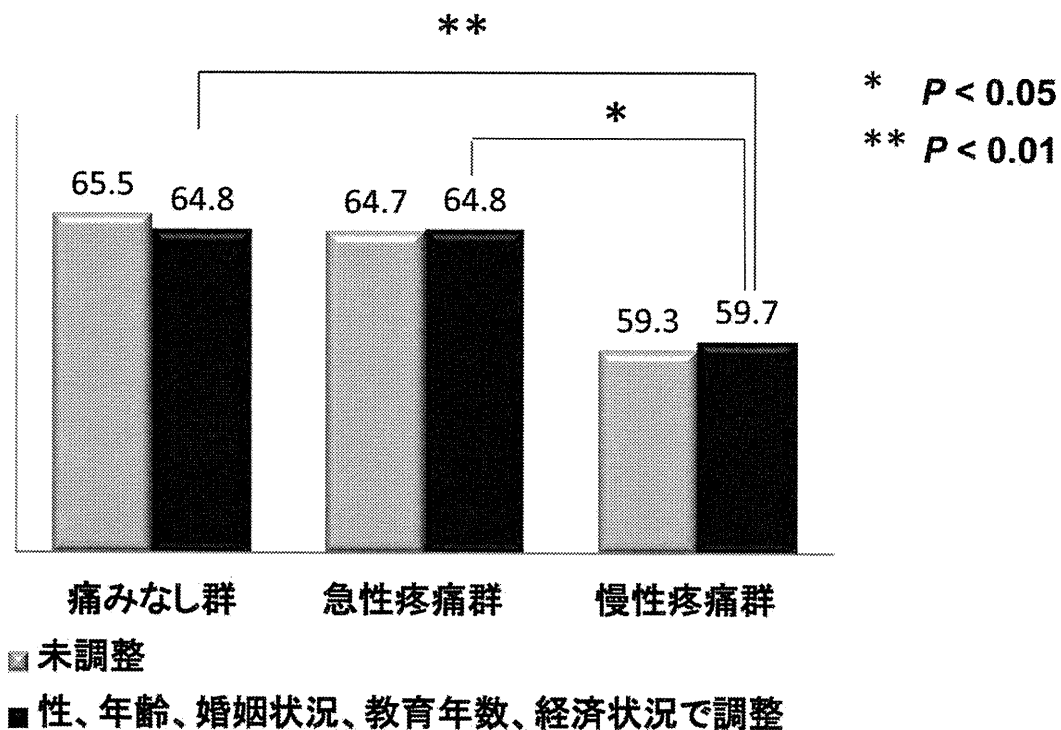


図6 失感情症の有無別に見た疼痛群の割合

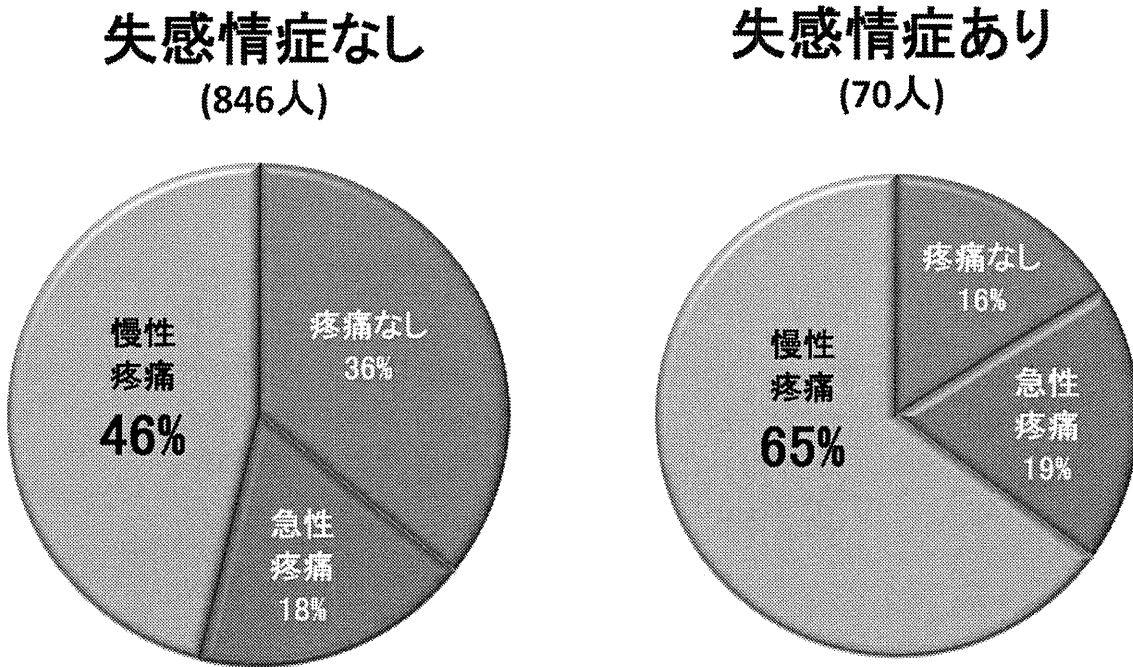


図7 失感情症の程度 (TAS-20 のスコア) 別の慢性疼痛罹患のリスク (オッズ比)

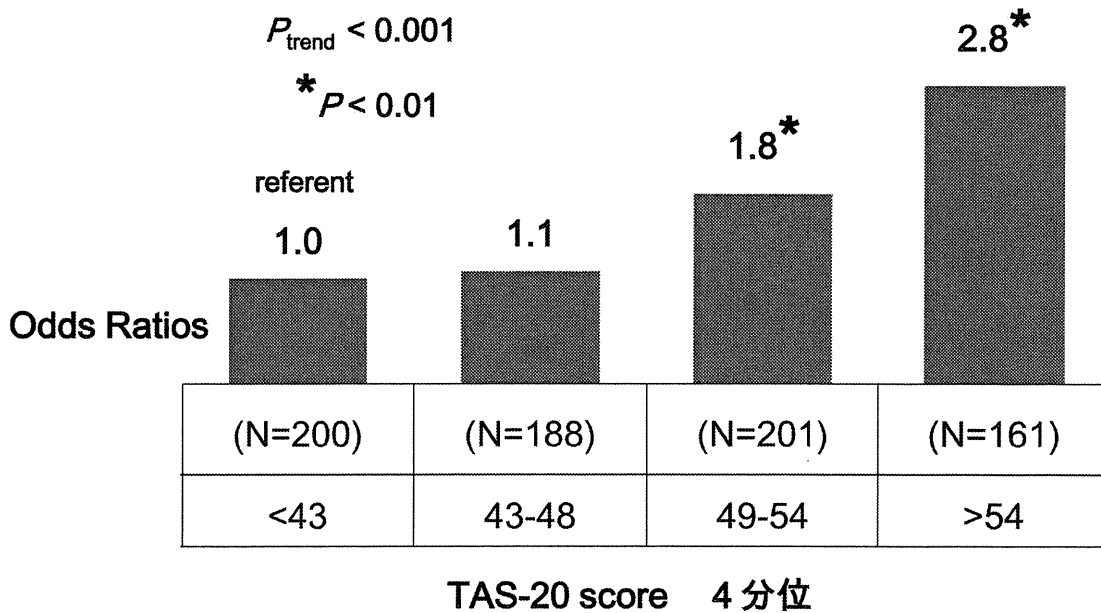


図8 失感情症スコア (TAS-20) の因子別スコア 4分位毎の慢性疼痛罹患のリスク

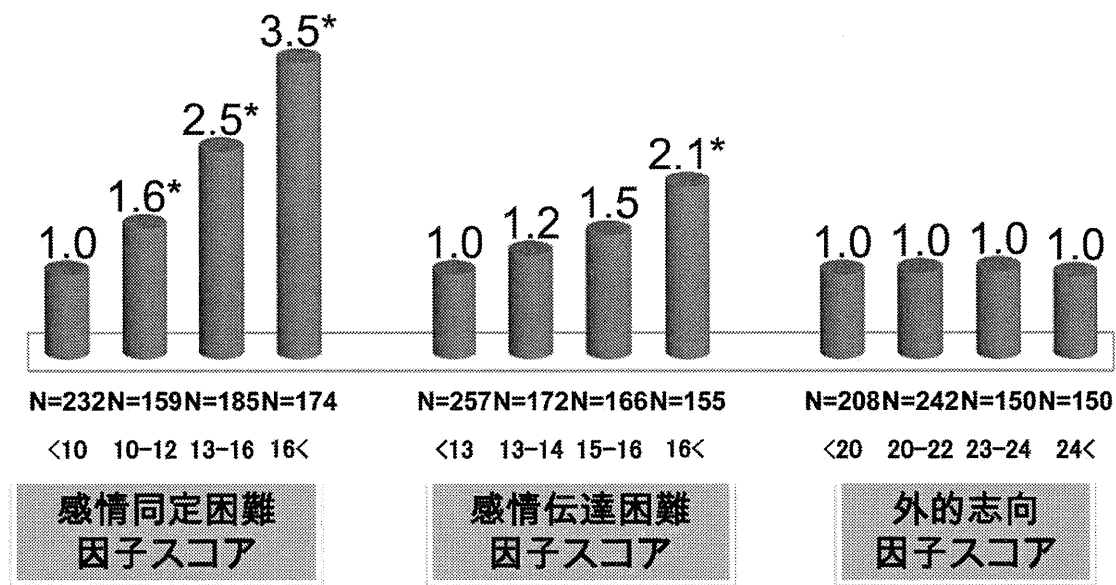
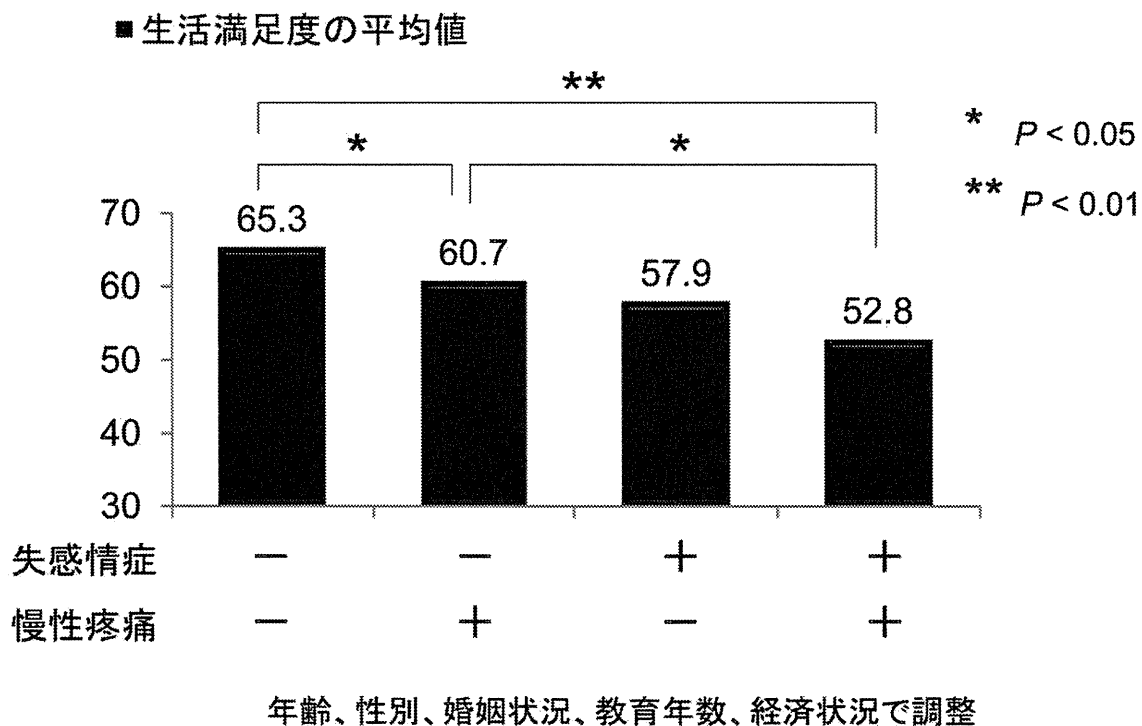


図9 慢性疼痛と失感情症別に見た生活満足度の平均値



難治性疼痛の実態の解明と対応策の開発に関する研究  
進行期パーキンソン病患者の腰痛に関する疫学調査

研究分担者 片山 容一 日本大学医学部脳神経外科 教授

研究要旨

進行期パーキンソン病患者の71.4%に慢性の腰痛を認めた。慢性の腰痛の有無に有意に影響を与える要因として off 時の S&E スコア、off 時の H&Y ステージ、罹病期間および UPDRS は姿勢 (item 28) のスコアが有意な因子であった。痛みの強度に影響を与える要因として罹病期間 ( $p = 0.18$ ) のみが有意に影響を与える因子であった。年齢はいずれの分析においても有意な要因ではなかった。本調査の結果は、罹病期間が長さのみが腰痛の罹患率および強度のいずれにも有意に影響する因子であった。

A. 研究目的

パーキンソン病 (PD) 患者において、腰痛の有病率は高く、QOLを悪化させる合併症の一つであることが報告されているが、同時に、多くの患者においてその治療が不十分であることも指摘されている (Broetz D et al, Mov Disord 2007)。近年、抗PD薬の服用による運動合併症 (wearing-off現象やジスキネシア) に伴い、off時に痛みが出現したり痛みの強度が変動するPD関連痛に対しては、抗PD薬の調節や機能神経外科手術による運動合併症の改善が有効であることが報告されている (Kim HJ et al, J Neurol 2008, Oshima H, Katayama Y et al, J Neurosurg 2012)。しかしながら、その多くが非PD関連痛と推測される腰痛の治療に関しては有効な治療法が示されていないのが現状である。そこで本邦における進行期PD患者の腰痛の有病率、ならびにPD関連痛の頻度と非PD関連痛の割合に関する疫学調査を行った。

B. 研究方法

1. 対象

2009年6月より2011年10月までに、日本大学医学部附属板橋病院脳神経外科を初診したパーキンソン病患者91名を対象とした。全ての患者が脳深部刺激療法を希望して紹介受診した進行期の患者であり、平均 (SD) 罹病期間

は147.9 (67.1) (range: 61-373) か月であった。平均 (SD) 年齢は64.1 (6.8) (range: 48-77) 歳、性別は男性42人、女性49人であった。

2. 調査方法

全ての患者において、DBSの適応の有無を決定するための短期入院をした際に、慢性腰痛 (少なくとも3カ月以上の期間にわたり、継続または反復する腰痛) の有無、腰痛の最大および最小強度、一日の覚醒時間に占める積算疼痛自覚時間の割合を調査した。腰痛の最大および最小強度はvisual analogue scale (VAS, max: 10.0) を用いて評価した。PD関連痛は、① off時に増強、② off時VAS score / on時VAS score  $\geq 2$ 、③ (off時VAS score) - (on時VAS score)  $\geq 3$  の全てを満たすものとした。姿勢変換時のみの痛みは非PD関連痛とした。

腰痛の原因検索のために脊椎単純レントゲン撮影を行うとともに、坐骨神経痛などの脊椎疾患に起因すると考えられる神経症候を伴う患者においては脊椎MRI等を施行した。腰痛の背景調査として、性別、年齢、PDの罹病期間、抗PD薬の服用量の、Unified Parkinson Disease Rating Scale (UPDRS) part II および III、S&E、H&Y、Hamilton Depression Scale、Mini-Mental Status Examination を評価した。

3. 統計処理

腰痛の有無および強度に影響を及ぼす因子をそれぞれ多重ロジスティック回帰分析、重回

帰分析を用いて統計学的な検討を行った ( $P < 0.05$  を有意とした) . スピアマンの順位相関係数を求めて各要因の相関を検討した.

### C. 研究結果

91 例中 65 例 (71.4%) で慢性の腰痛を認めた. 平均 (SD) の腰痛最大強度 (VAS スコア) は 4.6 (3.4) 、一日の覚醒時間に占める積算疼痛自覚時間の割合は 36.6 (41.8) %であった. 慢性腰痛を有する患者 (56 人) の 64%は (36 人) 非 PD 関連痛であった.

慢性の腰痛の有無に有意に影響を与える要因として off 時の S&E スコア (オッズ比: 5.157,  $p = 0.23$ )、off 時の H&Y ステージ (オッズ比: 5.573,  $p = 0.18$ ) 罹病期間 (オッズ比: 4.372,  $p = 0.37$ ) であり、UPDRS は姿勢 (item 28) のスコアのみが有意な因子であった (on 時: オッズ比 5.615,  $p = 0.18$ , off 時: オッズ比 5.268,  $p = 0.22$ ) .

痛みの強度と各要因の相関に関しては、罹病期間、S&E、H&Y、UPDRS part II の on 時のスコアおよび姿勢 (UPDRS item 28) のスコアが弱いながらも有意な相関を認めたが、重回帰分析の結果は罹病期間 ( $p = 0.18$ ) のみが有意に影響を与える因子であった. 年齢はいずれの分析においても有意な要因ではなかった.

### D. 考察

Broetz ら (Mov Disord 2007) は 101 名の PD 患者を調査した結果、74%に腰痛を認め、非 PD 患者 (27%) に比較して有意に高い罹患率であったことを報告している. 本調査における腰痛の罹患率は、彼らの報告と同程度であった. 腰痛に影響すると推測される年齢に関しては、Broetz ら (Mov Disord 2007) も報告しており、60 歳以上と未満で腰痛の罹患率に差が無かったことを報告している. 本調査でも年齢は有意な腰痛発生および増悪因子ではなく、むしろ罹患期間が長さのみが腰痛の罹患率および強度のいずれにも有意に影響する因子であることが新たに示された.

### E. 結論

進行期 PD 患者では 71.4%に慢性の腰痛を認めた. 腰痛の罹患率および強度に有意な影響を与える因子は罹病期間の長さであった.

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Oshima H, Katayama Y, Yamamoto T, et al.: Subthalamic nucleus stimulation for attenuation of pain related to Parkinson disease. J Neurosurg 116 (1): 99-106, 2012
- 2) Morishita T, Katayama Y, Oshima H, et al.: Chronological changes in Astrocytes induced by chronic electrical sensorimotor cortex stimulation in rats. Neurolog Med. Chir (Tokyo) 51(7): 496-502, 2011
- 3) Morishita T, Katayama Y, Yamamoto T et al.: DBS candidates that fall short on a levodopa challenge test: alternative and important indications.. Neurologist 17 (5) 263-268, 2011
- 4) 大島秀規、山本隆充、片山容一: 難治性疼痛に対する neuromodulation: 神経障害性疼痛に対する治療を中心に、脳神経外科速報 21(12): 1376-1383, 2011
- 5) Yamamoto T, Katayama Y: Changes in motor function induced by chronic motor cortex stimulation in post-stroke pain patients. Stereotact Funct Neurosurg 89(6): 381-389, 2011
- 6) 深谷 親、山本隆充、片山容一: Stereotactic and Functional Neurosurgery: Frame-based and Frameless. 脳神経外科39(11): 1033-1044, 2011.
- 7) 松村祐平、山本隆充、片山容一: Post-stroke pain に対する大脳皮質運動野の反復経頭蓋磁気刺激による効果—ドラッグチャレンジテストの結果との比較から—、ペインクリニック、32(12):1857-1868, 2011
- 8) Fukaya C, Yamamoto T, Katayama Y: Corticospinal descending direct wave elicited by subcortical stimulation. J Clin Neurophysiol 28(3): 297-301, 2011
- 9) Kutsuna N, Oshima H, Katayama Y et al.:

Decrease in doublecortin expression without neuronal cell death in rat retrosplenial cortex after stress exposure. Neuroreport (in press) Epub 2011 Dec 22

- 10) 小林一太、大島秀規、片山容一、視床知覚中継核の脳深部刺激療法が幻肢痛と幻肢覚に及ぼす影響、機能神経外科 50(2): 192-195, 2011
- 11) 深谷 親、山本隆充、片山容一: 脳深部刺激療法、クリニカルニューロサイエンス29(4): 415-421, 2011
- 12) 山本隆充、片山容一: 新たな脊髄刺激装置を用いた疼痛治療、ペインクリニック32(6): 911-919, 2011
- 13) 山本隆充、片山容一: 機能神経外科の現在と未来、神経内科 74(6): 563-571, 2011
- 14) 山本隆充、片山容一: 慢性疼痛と刺激療法、Practice of Pain Management 2(3): 170-174, 2011
- 15) 山本隆充、片山容一: ケタミン(臨床医のための正しいオピオイドの知識)、モダンフィジシャン 32: 76-78, 2011

## 2. 学会発表

- 1) 大島秀規、片山容一: 視床下核刺激療法前後のパーキンソン病患者の腰背部痛に対する効果。第51回日本定位・機能神経外科学会、2012
- 2) Yamamoto T: Cerebrospinal stimulation and low-dose ketamine drip infusion. 8<sup>th</sup> AASSFN, Jeju (Korea), 2011
- 3) 山本隆充: 難治性疼痛に対する脊髄刺激療法の新たな展開、日本臨床神経生理学会、2011
- 4) 山本隆充: Motor cortex stimulation for the treatment of motor weakness. 5th Korean Neuromodulation Society (Seoul) 2012
- 5) 山本隆充、片山容一: 中枢性疼痛に対する脳脊髄刺激療法を用いた治療戦略、第50回日本定位・機能神経外科学会、2011
- 6) 山本隆充、片山容一: Post-stroke pain に対する脳脊髄刺激療法、第40回日本慢性疼痛学会、2011
- 7) Yamamoto T, Katayama Y: Dual-lead spinal

cord stimulation for the treatment of post-stroke pain. 8<sup>th</sup> AASSFN, Jeju (Korea), 2011

- 8) Yamamoto T: Mapping of primary motor and premotor cortex. 3rs International Society of Intraoperative Neurophysiology (Barcelona), 2011
- 9) 山本隆充、片山容一: 神経障害性疼痛に対する脊髄刺激と低用量ケタミンの併用療法、第25回日本ニューロモデュレーション学会、2011

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし。
2. 実用新案登録 なし。
3. その他 なし。



難治性疼痛の実態の解明と対応策の開発に関する研究

研究分担者 柿木 隆介 自然科学研究機構生理学研究所・教授

研究要旨

ヒトに痛み刺激を与え、それに対する脳内の反応を、脳波、脳磁図、機能的MRIを用いて研究した。本年度は筋肉痛に対する脳内反応を機能的MRIを用いて解析し、皮膚刺激による痛みとは異なることを明らかにした。

A. 研究目的

基礎医学的トランスレーショナル研究を目的とし、慢性疼痛患者の脳皮質レベルでの可塑的变化の異常を調べるために疼痛誘発性脳活動を調査し、それに対する汎用性のある評価システムの構築を図る事を目的とする。我々のグループはヒトに痛み刺激を与え、それに対する脳内の反応を、脳波、脳磁図、機能的MRIを用いて研究する。

本年度は、電気刺激によって筋肉に痛み刺激を与え、機能的MRIを用いて解析した。

B. 研究方法

13名の健常被験者を対象とした。左前脛骨筋とその真上の皮膚に、被験者が痛みを感じる強度（0から10までに分けたVASの5から7程度）の電気刺激を与えて両者を比較した。各刺激は30回繰り返し与え、ブロックデザインとし、3TのMRI測定機器を用いて計測した。

（倫理面への配慮）

患者さんは対象としない。検査は生理学研究所の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

筋肉および皮膚への痛み刺激によって、共通して活動した部位は、視床、刺激対側の第1次および第2次体性感覚野、小脳、前帯状回、島であった。筋肉痛に特異的に活動した部位は、右扁桃核、

右尾状核、右眼窩前頭野、右海馬旁回、左上側頭極、中脳。逆に、皮膚痛に特異的に活動した部位は、右淡蒼球、右中側頭回、右海馬、左海馬旁回であった。

D. 考察

皮膚の痛みと筋肉の痛み刺激に対して、共通して活動する部位は多かったが、各刺激に特異的に活動する部位もあった。

E. 結論

各部位の活動の厳密な意義付けは困難だが、筋肉痛に特異的に活動した部位は、主として情動に関係した部位であり、筋肉痛独特の鈍い痛みに関係していると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表（一覧表を参照）

英文原著論文 2編

日本語論文 2編

2. 学会発表

国際学会 2回

国内学会 8回

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

特になし

平成23年度厚生労働科学研究費補助金（慢性の痛み対策研究事業）  
分担研究報告書  
難治性疼痛の実態の解明と対応策の開発に関する研究

研究分担者 中塚 映政 関西医療大学教授

研究要旨

活性酸素種（ROS）は、細胞内でその強力な酸化作用により生体防御に利用されている。一方、脊髄損傷や一過性脊髄虚血後の再灌流障害などによりフリーラジカルが細胞内から放出されると二次損傷を引き起こすことや、筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患においても細胞内での ROS の増加が関与していることが報告されており、本来の生体防御から逸脱した作用を発現していることが分かっている。神経障害性疼痛や炎症性疼痛を含む慢性疼痛においても脊髄レベルでの ROS の関与が注目されている。脊髄後角における単一細胞レベルでの ROS の作用機序は不明であることから、今回、成熟ラットの脊髄膠様質細胞にパッチクランプ法を適用し、ROS ドナーである **tert-butylhydroperoxide (t-BOOH)** が脊髄後角感覚細胞の興奮性シナプス伝達にどのような作用を及ぼすかを検討した。本研究結果から、活性酸素は脊髄膠様質細胞に入力する1次感覚神経中枢端に作用し、グルタミン酸の過剰放出を惹起することによって痛み情報伝達を増強することが明らかとなった。

A. 研究目的

活性酸素とは生体内のエネルギー代謝や感染防御過程において発生する、酸素分子 ( $O_2$ ) に由来し反応性に富む一群の分子種を指し、その代表的なものとしてスーパーオキシド ( $O_2^-$ )、過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) などが挙げられる。活性酸素は、癌、動脈硬化、リウマチ、老化および神経疾患といったさまざまな疾病との関連が報告されている。ROS は種々の **free radical** と  $H_2O_2$  などの分子種からなり、正常では細胞内でその強力な酸化作用により生体防御に利用されている。しかし、脊髄損傷や一過性脊髄虚血後の再灌流障害などによりフリーラジカルが細胞内から放出されると二次損傷を引き起こすことや、筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患においても細胞内での ROS の増加が関与していることが報告されており、本来の生体防御から逸脱した作用を発現していることが分かっている。また、神経障害性疼痛や炎症性疼痛を含む慢性疼痛においても脊髄レベルでの ROS の関与が近年報告されている。例えば、神経因性疼痛モデルなどにおいて ROS Scavenger(消去剤)の髄腔内投与、腹腔内投与、静注投与などの研究において動物行動学的に鎮痛作用があることや炎症モデルにおける二次性疼痛や長期増強に ROS が関与していることが報告されており、ROS そのものが

脊髄レベルでの疼痛情報伝達の修飾やシナプス伝達の可塑性に関与していることが示唆されている。脊髄後角の膠様質 (**Rexed** の分類：脊髄第II層)は、皮膚末梢からの痛み情報が入力するところで、痛み情報の伝達や修飾が行われる重要な部位であると考えられている。今回、脊髄後角の膠様質における単一細胞レベルでの活性酸素の作用の有無、ならびにその作用機序はいまだ不明であることから、成熟ラットから作製した脊髄横断スライス標本の膠様質細胞にパッチクランプ法を適用し、活性酸素種ドナーである **tert-butylhydroperoxide (t-BOOH)** が脊髄後角感覚細胞の興奮性シナプス伝達にどのような作用を及ぼすかを検討した。

B. 研究方法

1) 脊髄横断スライス標本の作製

脊髄横断スライス標本の作製は、Nakatsuka らの方法に従って行った。5~6週齢の Sprague - Dawley 系成熟雄性ラットにウレタン (腹腔内投与: 1.2~1.5g/kg) で深麻酔後、背側の胸腰椎部に皮切を行った。エピネフリン添加 0.5%キシロカイン液を棘突起の両側に局注後、傍脊柱筋群を切離し脊椎を露出した。中位胸椎から下位腰椎まで椎弓切除を行った。神経根を切離しながら脊髄を摘出し、酸素負

荷した 2~4℃の人工脳脊髄液に浸した。摘出した脊髄を実体顕微鏡下に硬膜、前根、後根、クモ膜及び軟膜を除去し、溝を設けた寒天ブロックに設置した。マイクロスライサー（堂阪イーエム社 DTK-1000）を用いて厚さ約 650  $\mu$ m の脊髄横断スライス標本を作製した。腰膨大部の脊髄スライスを記録用チャンバーに移し、グリッドにて上方から軽く固定した後、酸素負荷した人工脳脊髄液で還流した。人工脳脊髄液の組成は、NaCl 117 mM, KCl 3.6 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.5 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.2 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 mM, glucose 11 mM, NaHCO<sub>3</sub> 25 mM であった。

## 2) 脊髄膠様質細胞からのパッチクランプ記録

マイクロマニピュレーターで電極を脊髄内に刺入し、5mV ステップに対する応答電流の変化を指標にギガシールを形成するいわゆるブラインドパッチクランプ法によって記録を行う。記録用電極には potassium gluconate 135mM, KCl 5 mM, CaCl<sub>2</sub> 0.5 mM, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, EGTA 5 mM, ATP-Mg 5 mM and Hepes-KOH 5 mM を充填した先端電極抵抗 8~12M $\Omega$  の微小電極を用いた。薬液の灌流は人工脳脊髄液と同ラインを用いて行う。ドパミンおよびその関連物質を灌流投与し、それらが脊髄後角感覚ニューロンの興奮性シナプス伝達に及ぼす作用を検討する。また、記録ニューロンの皮膚受容野を同定した上で同部位に疼痛刺激と触刺激を加え、コントロール時とドパミン存在下において興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic currents; EPSC) および興奮性シナプス後電位 (excitatory postsynaptic potentials; EPSP)、活動電位 (action potential; AP) の大きさを比較した。疼痛刺激には有鉤鉗子、触刺激には定圧の空気を噴霧することにより、末梢刺激を定量的に行った。得られた記録電流・電位はパッチクランプ用アンプ (Molecular Devices 社 Axopatch200B)、A/D 変換器 (Molecular Devices 社 Digidata 1440A)、データ記録・解析用ソフト (Molecular Devices 社 pClamp10、Synaptosoft 社 Mini Analysis 6.0) を用いて記録および解析を行った。データは mean  $\pm$  S.E.M. で表示した。検定には paired *t*-test, *t*-test を用いた。危険率 5% ( $P < 0.05$ ) をもつ

て有意と判断した。

## (倫理面への配慮)

ウレタンを腹腔内に投与し、全身麻酔下の実験を行うため、動物への苦痛は殆ど無い。実験終了後直ちに、心臓・大動脈を切断処置し、動物を安楽死させた。

## C. 研究結果

膜電位固定下(-70 mV)では、記録した全ての細胞において自発性の興奮性シナプス後電流 (spontaneous excitatory postsynaptic current: sEPSC)が観察された。この sEPSC はグルタミン酸受容体の拮抗薬である 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX, 20  $\mu$ M)存在下で完全に消失することから、神経終末内のシナプス小胞から放出された興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸に起因するものであった。活性酸素種ドナーである t-BOOH を 5 分間灌流投与すると、記録した全ての膠様質細胞で、sEPSC の発生頻度ならびに振幅は増加した(n=9)。t-BOOH による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の平均増加率はそれぞれであった。また、t-BOOH によって sEPSC の発生頻度ならびに振幅が増加した細胞に、t-BOOH を 20 分後反復投与したところ、初回投与と同程度に sEPSC の発生頻度と振幅は増加した(n=4)。さらに、電位依存性ナトリウムチャンネル阻害薬である tetrodotoxin (TTX, 1  $\mu$ M)存在下においても t-BOOH を 5 分間灌流投与すると sEPSC の発生頻度ならびに振幅が増加した (n=5)。その発生頻度ならびに振幅の平均増加率はそれぞれで、TTX の非存在下と比較して有意差は無かった。一方、CNQX (20  $\mu$ M)存在下では、t-BOOH による sEPSC の発生頻度ならびに振幅に対する増強作用は観察されなかった。(n=4) 次に、t-BOOH による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の増加が抗酸化剤である N-tert-Butyl- $\alpha$ -phenylnitron (PBN, 10 mM)によりどのような影響を受けるか調べた。PBN 存在下では、t-BOOH 投与による sEPSC の発生頻度ならびに振幅の平均増加率はそれぞれで、PBN によって t-BOOH による sEPSC の増強作用は抑制された。

## D. 考察

本研究では、脊髄膠様質細胞にパッチクランプ法を適用して、脊髄後角の膠様質におけ

る単一細胞レベルでの t-BOOH の作用について検討を行った。活性酸素種ドナーである t-BOOH を灌流投与すると脊髄膠様質細胞における sEPSC の振幅や発生頻度は有意に増加した。一方、抗酸化剤である PBN 存在下で t-BOOH の作用について検討したところ、PBN 存在下では t-BOOH による sEPSC の増強作用は抑制された。また、t-BOOH の作用は CNQX 存在下では完全に抑制されたが、TTX により殆ど影響を受けなかった。以上の結果から、活性酸素は脊髄膠様質細胞のシナプス前終末に作用してグルタミン酸の過剰放出を惹起することが明らかとなった。

活性酸素は TRP チャンネルを活性化し、細胞内に  $Ca^{2+}$  の流入を惹起し、細胞内シグナル伝達を修飾することが報告されている。TRP チャンネルは痛みを伝える一次感覚神経の末端に発現し皮膚末梢で痛み情報を受容し中枢神経系に伝えることが知られているが、我々は、TRP チャンネルが痛みを伝える一次感覚神経の中枢端にも存在し、痛み情報伝達の増強に関与していることを明らかにしてきた。以上から、活性酸素は脊髄膠様質細胞に入力している一次感覚神経の中枢端に発現する TRP チャンネルを活性化し、グルタミン酸の過剰放出を惹起し痛覚過敏をひきおこす可能性が示唆された。

脊髄損傷は後遺症として損傷レベル以下の運動神経麻痺と感覚障害により ADL を著しく制限する。一方、脊髄損傷後疼痛は一般的にあまり注目されていないが、運動神経麻痺や感覚障害といった後遺症に匹敵するあるいはそれ以上の ADL 制限をもたらす。海外においては全脊損患者の約 65~80% に疼痛の程度の差はあるものの脊髄損傷後疼痛が発生しているとの報告があり、我が国においても統計学的調査がないものの脊髄損傷後疼痛に困窮している患者は多数存在する。脊髄損傷後疼痛は神経障害性難治性疼痛であり、程度の強いものはアロディニア様の異常知覚を生じる。一般的な NSAIDs やオピオイドといった鎮痛薬は効果が薄く、新たな作用機序の治療薬や治療法の開発が待たれている。しかしながら、脊髄損傷後疼痛が発生するメカニズムはいまだ不明な点が多く、その解明が待ち望まれている。近年、神経障害性疼痛に ROS が関与しているとの報告が散見されるようになり、脊髄損傷後疼痛の発生機序に ROS が関与し、神経系の可塑的变化を惹起している可能性がある。今後、脊髄損

傷後疼痛の発症メカニズムに ROS が関与することが証明できれば、脊髄損傷後疼痛の予防や治療に光を当てることが可能になるかもしれない。すなわち、ROS Scavenger や ROS の興奮性シグナル伝達に関与する TRP チャンネル拮抗薬の髄腔内投与や静脈内注射などによって脊髄損傷後疼痛が克服できる可能性が高まる。したがって、これらの薬剤を用いることによって、脊髄損傷後疼痛を未然に予防することが可能になるだけでなく、すでに慢性疼痛化した患者にも治療薬となり得る可能性を秘めており、脊髄損傷後疼痛の有効な薬剤が存在しない現状を劇的に変える可能性がある。

## E. 結論

活性酸素は脊髄膠様質細胞に入力する 1 次感覚神経中枢端に作用し、グルタミン酸の過剰放出を惹起することによって痛み情報伝達を増強することが明らかとなった。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Taniguchi W, Nakatsuka T, Miyazaki N, Yamada H, Takeda D, Fujita T, Kumamoto E, Yoshida M: In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive actions on substantia gelatinosa neurons in the spinal cord. *Pain* 152, 95-105 (2011).

Katano T, Nakazawa, Nakatsuka T, Ito S: Involvement of spinal phosphorylation cascade of Tyr1472-NR2B, Thr286-CaMKII, and Ser831-GluR1 in neuropathic Pain. *Neuropharmacology* 60, 609-616 (2011)

Kawasaki Y, Nakatsuka T, Sakaki M, Amaya F, Kohno T: Role of D-serine in superficial dorsal horn neuron. *Pain Research* 26, 19-28 (2011)

Taniguchi T, Nakatsuka T, Miyazaki N, Takiguchi N, Yoshida M: In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic antinociceptive actions on dorsal horn neurons in the spinal cord. *Pain Research* 26, 137-144 (2011)

Taniguchi T, Nakatsuka T, Miyazaki N, Abe T, Mine N, Takiguchi N, Yamada H, Yoshida M: In vivo patch-clamp analysis of dopaminergic descending inhibitory

pathway in the spinal dorsal horn.  
ScienceMED 2, 137-142 (2011)

中塚映政：痛みの受容機構と鎮痛機構。  
脊椎脊髄ジャーナル 24, 333-339,  
2011

谷口亙，吉田宗人，中塚映政：鎮痛薬  
の作用機序ーオピオイドー。整形・災  
害外科 54, 1477-1483, 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

難治性疼痛の実態の解明と対応策の開発に関する研究  
抗うつ薬の鎮痛作用 -脊髄後角ニューロンのNMDA受容体に対する検討-

研究分担者 河野 達郎 新潟大学大学院 医歯学総合研究科 麻酔科学分野 准教授

研究要旨

抗うつ薬はノルアドレナリンやセロトニンの再取り込みを阻害することが主な鎮痛作用機序とされているが、それ以外の機序としてNMDA受容体の拮抗作用もあると言われている。これらの抗うつ薬の脊髄後角ニューロンでのNMDA受容体に対する作用を検討した。ミルナシプランは容量依存性にNMDA誘起電流の振幅を抑制した。しかし、デシプラミン、シタロプラムではこの抑制作用は認められなかった。NMDA投与による熱性痛覚過敏に対しても、ミルナシプランは容量依存性に拮抗作用を示したが、他の2剤では効果はなかった。これまで抗うつ薬のNMDA受容体に対する拮抗作用が言われてきたが、今回の結果より、脊髄後角でその拮抗作用が認められたのはミルナシプランだけであった。ミルナシプランの鎮痛作用機序にはノルアドレナリンやセロトニンの再取り込み阻害だけでなく、NMDA受容体に対する拮抗作用も重要であると考えられる。

A. 研究目的

高齢者の増加に伴い、運動器疾患の慢性疼痛だけでなく、帯状疱疹などの神経障害性疼痛の患者も増加すると予想される。これらの慢性疼痛に対する初期診療として薬物治療が行われている。代表的な治療薬は三環系抗うつ薬（TCA）、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）などの抗うつ薬が挙げられる。抗うつ薬の主たる機序は脳の神経シナプス終末に作用し、セロトニン、ノルアドレナリンの再取り込みを阻害する。このため、シナプス間隙でこれらのモノアミン濃度を上昇させ、抗うつ作用を発揮すると考えられている。脊髄でも同様にモノアミン濃度が上昇し、これが主たる鎮痛機序と考えられている。しかし、それ以外の機序としてグルタミン酸NMDA受容体拮抗作用も重要な機序であると言われている。そこで、これらの抗うつ薬の脊髄後角ニューロンでのNMDA受容体に対する作用を検討した。

B. 研究方法

Wistar系成熟雄ラットから、ウレタン麻酔下（腹腔内投与）に腰仙部脊髄を摘出し、マイクロスライサーを用い、厚さ500 $\mu$ mの脊髄スライス

標本を作成した。そのスライスを酸素化した人工脳脊髄液（NaCl 117, KCl 3.6, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25, D-glucose 11（mM））を36℃に加温し灌流した。脊髄後角II層ニューロンより、ガラス電極を用い、ホールセル・パッチクランプ記録を行った。電極内液の組成（mM）は、Cs-sulfate 110, CaCl<sub>2</sub> 0.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2, EGTA 5, HEPES 5, TEA 5, ATP 5とした。膜電位を-40 mVに固定し、グルタミン酸NMDA受容体アゴニストの灌流投与で誘起される電流に対する抗うつ薬の作用を検討した。得られた電流は、パッチクランプ用増幅器により増幅し、データ解析用ソフトウェアを用いて解析した。また、髄腔内NMDA投与による熱性痛覚過敏に対する抗うつ薬の効果を行動実験で検討した。さらに、NMDA投与によるリン酸化ERK（extracellular signal-regulated kinase）発現に対する抗うつ薬の効果を免疫組織化学法で行った。データは平均±標準誤差で表し、統計処理はANOVA検定を用いた。P値が0.05未満を有意とした。

C. 研究結果

抗うつ薬としてTCA（デシプラミン）、SNRI（ミルナシプラン）、SSRI（シタロプラム）を用いた。ラット髄腔内にカテーテルを挿入し、NMDAを投与

すると熱性痛覚過敏を引き起こす。NMDA 投与前にそれぞれの抗うつ薬を髄腔内投与し、熱性痛覚過敏に対する拮抗作用を行動実験で検討した。NMDA 髄腔内投与による熱性痛覚過敏に対して、ミルナシプランは拮抗作用を示したが、シタロプラム、デシプラミンでは効果はなかった。

次に、脊髄スライス標本を用いて、後角 II 層ニューロンからホールセル・パッチクランプ法により電気生理学的解析を行った。NMDA を灌流投与すると内向き電流が誘起された (図 1A)。この NMDA 電流に対し、ミルナシプランは濃度依存性に NMDA 電流の振幅を抑制した (図 1B)。しかし、デシプラミン、シタロプラムではこの抑制作用は認められなかった (図 1C、D)。ミルナシプランは脊髄後根刺激による NMDA 受容体を介する興奮性シナプス後電流に対しても抑制作用を示した。

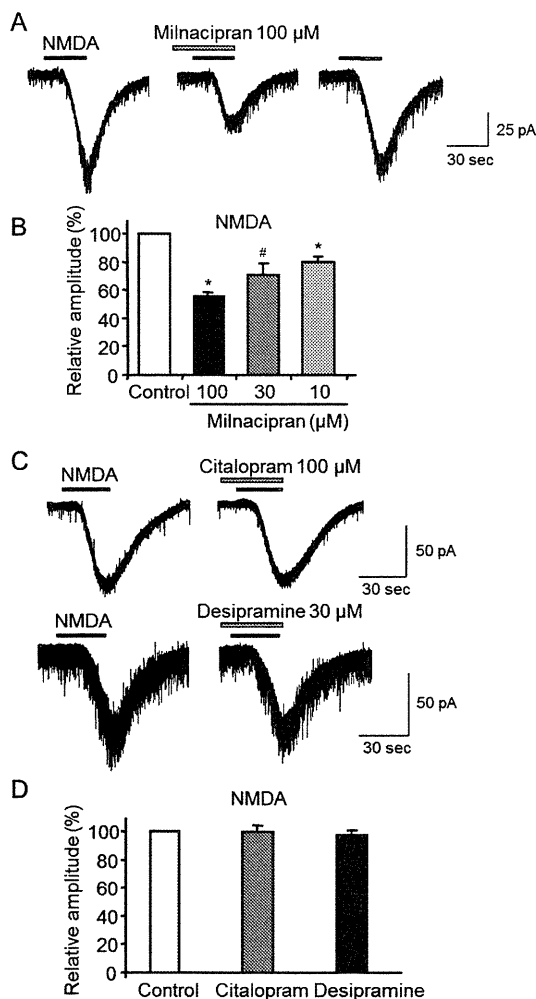


図 1 : NMDA 誘起電流に対する抗うつ薬 (ミルナシプラム、シタロプラム、デシプラミン) の効果

最後に、NMDA 投与によるリン酸化 ERK 発現に

対する抗うつ薬の効果を免疫組織化学法で行った。脊髄スライス標本に NMDA を灌流投与すると脊髄後角にリン酸化 ERK が発現した。NMDA 投与前にそれぞれの抗うつ薬を投与しておくと、ミルナシプランはこのリン酸化 ERK 発現を抑制したが、シタロプラム、デシプラミンは抑制しなかった。

#### D. 考察

NMDA 受容体はグルタミン酸受容体の一つで、中枢神経系における興奮性神経伝達に関わり、また慢性痛における中枢性感作の成立に重要な役割を担っている。これまでにも TCA と NMDA 受容体拮抗作用に関する報告がある。炎症モデルを用いて、脊髄くも膜下腔に投与したアミトリプチリンは NMDA 受容体拮抗作用により熱性痛覚過敏を減少させた報告や、炎症モデルを用いて、脊髄くも膜下投与のデシプラミンはノルアドレナリンの再取り込み阻害でない機序により鎮痛作用を示したという報告である。これらの報告は TCA が脊髄の NMDA 受容体に直接作用し、鎮痛作用を発揮していることを示唆している。しかし、その結合部位に関しては議論の余地がある。TCA は NMDA 受容体の  $Zn^{2+}$  認識部位に作用するという報告や TCA は NMDA 受容体の PCP 部位に親和性が高いという報告がある。さらに、デシプラミンは海馬ニューロンにおいて NMDA 誘起電流を抑制するが、リガンドの結合を受けて開いたイオンチャンネル部にのみ阻害をかけるという報告もある。しかし、われわれの後角ニューロンでの結果では、デシプラミンは NMDA 受容体に対する拮抗作用はなかったことから、これらの結合部位には作用しないと思われる。

ミルナシプラムが NMDA 受容体を拮抗した機序はどのようなものであろうか。ミルナシプラムを含む SNRI や SSRI は NMDA 受容体には作用しないと言われている。よって、NMDA 受容体の  $Zn^{2+}$  認識部位や PCP 部位に対する直接的作用ではなく、NMDA 受容体に対する間接的な作用によるものであると考えられる。さらに、この作用がミルナシプラムに特異的な作用であるのか、他の SNRI でも認められるのかなどは今後の課題である。

## E. 結論

これまで、抗うつ薬は慢性疼痛の治療薬として使用されてきた。今回の研究で、脊髄後角で NMDA 受容体の拮抗作用が認められたのは SNRI のミルナシプランだけであった。ミルナシプランの鎮痛作用機序にはノルアドレナリンやセロトニンの再取り込み阻害だけでなく、NMDA 受容体に対する拮抗作用も重要であると考えられる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Honda H, Baba H and Kohno T:  
Electrophysiological analysis of  
vulnerability to experimental ischemia in  
neonatal rat spinal ventral horn neurons.  
Neuroscience Letters 494: 161-164, 2011

Kohno T: Zaltoprofen inhibits  
bradykinin-mediated enhancement of  
glutamate receptor activity in substantia  
gelatinosa neurons. Anesthesia and  
Analgesia 113: 412-416, 2011

Saito T, Tsuchida M, Umehara S, et al:  
Reduction of spinal cord  
ischemia/reperfusion injury with  
simvastatin in rats. Anesthesia and  
Analgesia 113: 565-571, 2011

### 2. 学会発表

Kohno T: Role of bradykinin in the central  
sensitization. International Symposium for  
Academic Exchange between Anesthesiologists  
and Basic Scientists, Japan, 2011

Yamamoto T, Honda H, Baba H, Kohno T: Effect  
of xenon on excitatory and inhibitory  
transmission in rat spinal ventral horn  
neurons. 41th Annual Meeting Society for  
Neuroscience, Chicago, USA, 2011

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む） 該当なし



難治性疼痛の実態の解明と対応策の開発に関する研究  
慢性の痛み（特に末梢神経障害性の痛み）における自律神経の関与に関する研究

研究分担者 佐藤 純

名古屋大学環境医学研究所 近未来環境シミュレーションセンター 准教授

研究要旨

慢性痛患者は健康人に比べ寒冷環境に対して敏感で、寒い日や寒冷地で症状が悪化することが多い。これは慢性痛患者の低温に対するストレス応答性（自律神経反応性）が健康人と異なっている可能性を示唆しているが詳細は不明である。そこで我々は、坐骨神経損傷により作製した慢性痛モデルラットを人工寒冷環境に暴露し、ストレス応答性を解析した。ストレス反応の指標として自由行動下ラットの頸静脈から繰り返し採血を行い、血中ノルアドレナリン濃度をHPLCで定量し、安静時と寒冷曝露中のノルアドレナリン血中濃度の経時変化を健常対照群ラットと比較検討した。

A. 研究目的

我々は、気象変化で慢性痛が悪化する現象（天気痛）の科学的実証とメカニズムを明らかにするため、慢性痛モデル動物の疼痛行動と自律神経活動に及ぼす人工気象要素変化（低気圧、低温）の影響を調べてきた。これまでに、気象変化時に相当する低気圧あるいは低温暴露により慢性痛モデルラットの疼痛行動が増強することを示した。また、低気圧による疼痛増強のメカニズムには内耳に存在する気圧感受センサーと交感神経の興奮が重要な役割を担っており、低温による疼痛増強のメカニズムには、病態によって生じた皮膚の冷感覚線維の感受性変化が関与することを明らかにしてきた。

慢性痛患者は健康人に比べて寒冷環境に対して敏感な場合が多く、寒い日や患部・全身の冷却によって疼痛症状が悪化する例が少ない。これら現象のメカニズムのひとつとして、疼痛部位の血行障害が低温環境下で増強することによって末梢の痛覚線維の興奮性が高まり、疼痛が増強することが考えられる。また、慢性痛患者の温度低下に対するストレス応答性（自律神経反応性）が健康人と異なっている可能性も示唆されるが、この点に注目した研究はこれまで行われていない。

そこで本研究では、慢性痛モデルラットと慢性痛に深く関連する気分障害（抑うつ）のモデルラットを人工寒冷環境に暴露し、交感神

経活動の指標であるノルアドレナリン血中濃度の経時変化を健常ラットと比較検討した。

B. 研究方法

実験には Bennett 法（1988）によって坐骨神経に慢性絞扼損傷を与えて後肢に痛覚過敏を引き起こした慢性痛モデルラットと、1日1回3分間の強制水泳を6日間繰り返すことによって抑うつ様症状を呈した抑うつモデルラットを用いた。また、対照群として通常飼育したラット群を設定した（図1）。

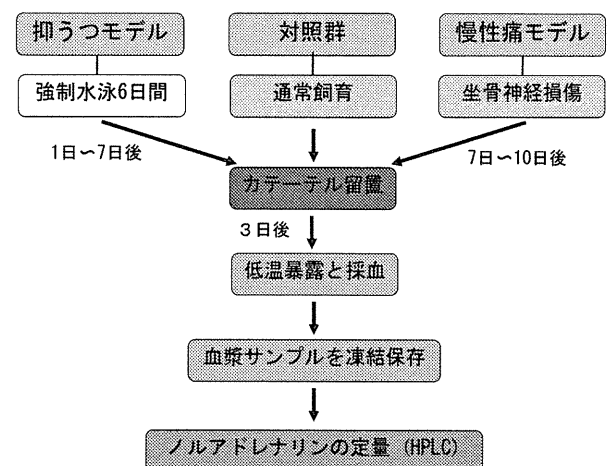


図1 実験プロトコル

以上の処置後、頸静脈に採血用のカテーテルを留置し、尖端を皮下に通して頸背部に固定した。動物にストレスを与えないように自由行動下で採血を行う必要があるため、エイコム社製 DR-II 自動血液サンプリング装置にラットを固定した (図2)。

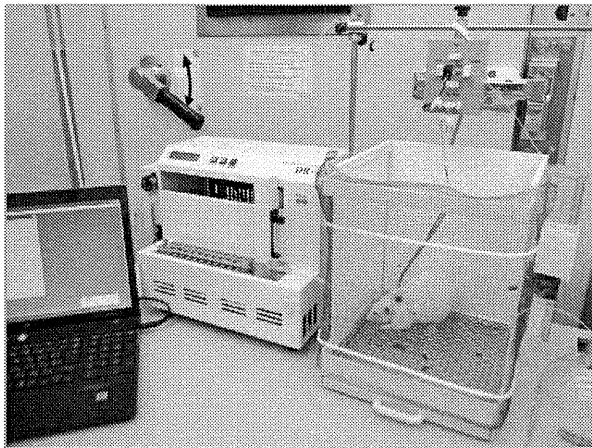


図2 自由行動下のラットから採血

術後3日後に名古屋大学環境医学研究所が所有するエスベック社製環境ストレスシミュレータを用いて低温暴露を行った。図3に低温暴露のプロトコルと採血のタイミングを示す。

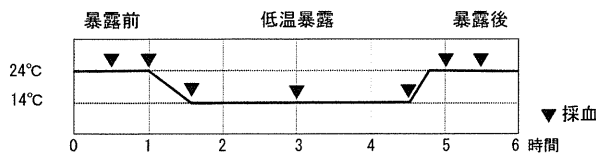


図3 低温暴露と採血プロトコル

室温 24°C、湿度 50±10%の環境にてラットを1時間安静にし、30分間隔で2回の採血(一回あたり 50μl)を行った。その後30分間で14°Cまで室温を下げ、3時間低温環境に保持し、その間に採血を90分間隔で3回行った。その後、15分間で室温を24°Cに戻し2回の採血を行った。血液サンプルから遠心分離して取り出した血漿成分を凍結保存し、後日アルミナ吸着法でノルアドレナリンを抽出し、高速液体クロマトグラフィ (HPLC-DLC) を用いて定量した。

### C. 研究結果

図4に暴露前安静時の血中ノルアドレナリン値を示す。この図で明らかなように、対照群に比べ慢性痛群のノルアドレナリン値は明らかに高い値を示した。一方、抑うつ群のノルアドレナリン値は若干高知ではあるが、対照群と大きな違いは見られなかった。

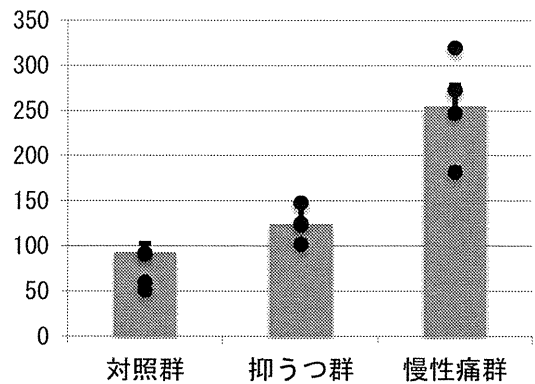


図4 安静時の血中ノルアドレナリン量 (pg/ml)

図5に低温暴露中の血中ノルアドレナリン値の経時変化を示す。この図で明らかなように、対照群に比べ、抑うつ群では低温暴露中のノルアドレナリン値上昇の程度があがった。一方、慢性痛群では低温暴露中のノルアドレナリン値上昇の程度が対照群と変わらないか、かえって低下していた。

### D. 考察

慢性痛患者の温度低下に対するストレス応答性(自律神経反応性)が健康人と異なっている可能性が示唆されることから、本研究では、慢性痛モデルラットと抑うつモデルラットを人工寒冷環境に暴露し、交感神経の活動指標であるノルアドレナリン血中濃度の経時変化を健常ラットと比較した。

安静時のノルアドレナリン値は対照群と比較して、慢性痛群のラットで明らかに高く、抑うつラットでは対照群と変わらなかった。これらの結果から、坐骨神経損傷ラットでは神経障害により後肢の慢性疼痛が誘発されて

対照群

抑うつ群

慢性痛群

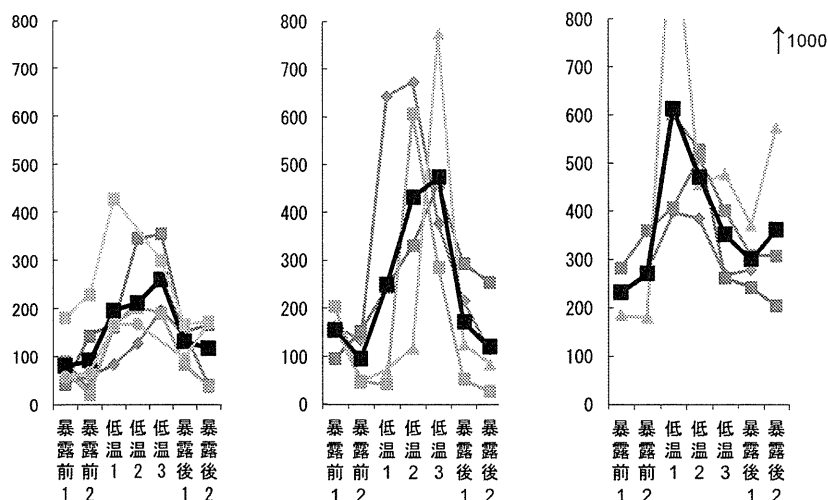


図5 寒冷暴露による血中ノルアドレナリンの変化

図は一例毎の変化と平均値(太線)を示す。採血のタイミングは図3を参照。対照群に比べ、抑うつ群は低温暴露中のノルアドレナリン値が明らかに高くなっている。一方、慢性痛群は暴露前に高値を示すが、暴露中の上昇度は対照群と同じか低下している。

交感神経が持続的に興奮状態にあるものと考えられる。一方、抑うつモデルではノルアドレナリン値が対照群と変わらなかったことから、この病態は交感神経興奮状態を引き起こしていないことが示唆される。

10℃への低温暴露によって、対照群、抑うつ群、慢性痛群いずれにおいてもノルアドレナリン値が増加した。しかしながらその変化の程度は病態によって異なっていた。すなわち、抑うつ群では対照群の約2倍の増加率であったが、慢性痛群では上昇の程度は対照群と同じか、かえって低い傾向があった。このことから、抑うつ群では交感神経系の応答性が健常よりも亢進していることが示唆された。一方、慢性痛病態では寒冷に対する交感神経系の応答性が低下していることが示唆された。慢性の疼痛によって、自律神経系の機能破綻がひき起こされている可能性がある。

#### F. 研究発表

「慢性の痛み（特に末梢神経障害性の痛みにおける自律神経の関与に関する研究）に関連する研究発表をすべて記載する。

#### 1. 論文発表

- 1) Funakubo M, Sato J, Honda T, Mizumura K: The inner ear is involved in the aggravation of nociceptive behavior induced by lowering barometric pressure of nerve injured rats. **European Journal of Pain** 14(1): 32-39, 2010.
- 2) Mizoguchi H, Fukaya K, Mori R, Itoh M, Funakubo M, Sato J: Lowering barometric pressure aggravates depression-like behavior in rats. **Behavioural Brain Research** 218(1): 190-193, 2011.
- 3) Ohmichi Y, Sato J, Ohmichi M, Sakurai H, Yoshimoto T, Morimoto A, Hashimoto T, Eguchi K, Nishihara M, Arai YC P, Ohishi H, Asamoto K, Ushida T, Nakano T, Kumazawa T: Two-week cast immobilization induced chronic widespread hyperalgesia in rats. **European Journal of Pain** (2011) DOI: 10.1016/j.ejpain.2011.09.009.
- 4) Mizoguchi H, Fukaya K, Mori R, Itoh M, Funakubo M, Sato J: Lowering barometric pressure aggravates depression-like behavior in rats. **Behavioural Brain Research** 218(1):

190-193, 2011.

- 5) Sakurai H, Sato J, Yoshimoto T, Ohmichi Y, Morimoto A, Arai K, Ushida T: Examination of subjective sensations and vasomotor reaction to environmental temperature changes in chronic pain patients with impaired cold sensation. **Pain Research** 26: 11-18, 2011.
- 6) Funakubo M, Sato J, Obata K, Mizumura K: The rate and magnitude of atmospheric pressure change that aggravate pain-related behavior of nerve injured rats. **International Journal of Biometeorology** 55(3): 319-326, 2011.
- 7) Sato J, Itano Y, Funakubo M, Mizoguchi H, Itoh M, Mori R: Low barometric pressure aggravates neuropathic pain in guinea pigs. **Neuroscience Letters** (2011) DOI: 10.1016/j.neulet.2011.08.030.
- 8) 佐藤 純： 天気変化と痛み. **Anesthesia Network** 15(1): 32-34, 2011.
- 9) 佐藤 純, 溝口博之, 深谷佳乃子： 天候変化と気分障害. 日本生気象学会雑誌 48(1), 2011.

## 2. 招待講演等

- 1) 佐藤純: 痛みと天気と自律神経. 第2回兵庫県痛みを考える会 (招待講演) 2011.4.
- 2) 佐藤純: 基礎研究と臨床の相互理解によるトランスレーショナル・ペインリサーチ. 日本ペインクリニック学会第45回大会, シンポジウム “これからのわが国の痛みの治療を考える” (シンポジスト) 2011.7.
- 3) 佐藤純: ストレスと痛み, 天候と痛み. 日本ペインクリニック学会第45回大会 (教育講演) 2011.7.
- 4) 佐藤純: 慢性痛のトランスレーショナル・リサーチ -天気痛のメカニズムを動物実験で探る-ヒューマンサイエンス振興財団将来動向調査勉強会 (招待講演) 2011.9.
- 5) 佐藤純: 自律神経と疼痛. 平成23年度前

期 神戸大学大学院医学研究科がんプロフェッショナル養成プラン講義 (特別講義) 2011.9.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許出願

「人体の雰囲気気圧を昇圧する方法及びその装置」佐藤純, 櫻井博紀, 齋藤愛子 特願 2010-148903 2010.