

electrical stimulation. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 2012, 83(5): 551-556.

2) Omori S, Iosea S, Otsuru N, Nishihara M, Kuwabara S, Inui K, Kakigi R: Somatotopic representation of pain in the primary somatosensory cortex (S1) in humans. Clinical Neurophysiology, 2013, in press

2. 学会発表

1) Kakigi R: The painful brain. The 2nd Joint Symposium of NIPS / Tübingen University, Tübingen, Germany, 2012. 11. 29

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

H24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
携帯端末を用いた総合運動支援システムの開発に関する研究

研究分担者 西尾 芳文 徳島大学ソシオテクノサイエンス研究部 教授
研究分担者 上田 哲史 徳島大学情報化推進センター 教授
研究協力者 青野 修一 愛知医科大学学際的痛みセンター

研究要旨

運動療法を習慣化させることを目的とした、携帯端末を用いた運動総合支援アラートシステムの開発を行う。その際に、慢性の痛みを持つ患者の行動・身体活動を客観的に評価できるシステムの構築を目指す。本報告では、携帯端末に内蔵されている加速度センサ・GPS機能を用いて、日常行動の客観的評価のための基礎システムを構築する。また、健常者ボランティアを対象にシステムの有効性について検証する。

A. 研究目的

慢性痛の予防・治療には継続した運動療法が有効であることが知られている。本研究では、運動療法を習慣化させることを目的とした、携帯端末を用いた運動総合支援アラートシステムの開発を行う。慢性の痛みに対する情報、ストレッチ、体操などを配信し、認知行動学的な教育と運動療法を合わせて行う治療システム作りを目指す。その際に携帯端末に内蔵されている3次元加速度センサやGPSを用いて定量的に評価できるシステムの構築を行う。本報告では、治療効果の客観的評価法の開発に向けた基礎研究として、日常生活時のデータ収集アプリケーションの開発及び測定データの解析アルゴリズムの開発を行う。

B. 研究方法

日常活動の評価および治療システムの評価法確立のための基礎研究として、携帯端末に

内蔵されている3次元加速度センサやGPSを用いて、日常生活動作のデータを取得するアプリケーションの開発を行う。また、リハビリ体操の配信などが行えるようなシステム開発を行う。

取得データから日常生活動作の内容（立位・座位・臥位・歩行などの時間および回数）を分類するアルゴリズムの開発を行う。徳島大学工学部の学生ボランティア10名、愛知医科大学運動療育センターの職員ボランティア10名の計20名の健常者を対象とする。開発したアプリケーションを用いて、歩く・立つ・座る等の動作時のデータと、自由行動時のデータを取得する。データ解析には、機械学習アルゴリズムの1つである改良型k-最近傍法を用いる。各動作時のデータを教師信号としてアルゴリズムに学習させて、自由行動時のデータを各動作に分類し評価する。また、開発システムの有効性について検証を行う。

(倫理面への配慮)

本研究は、愛知医科大学倫理委員会の承認を受け実施している。

C. 研究結果

開発したデータ取得アプリケーションの測定時と設定画面を図1に示す。設定画面では周波数と測定時間の設定が可能である。取得データは構築したサーバに自動的に送信し、CSVファイルで保存される。自由行動における取得データの加速度例を図2に示す。



a 測定中画面

b 設定画面

図1 データ取得アプリケーション

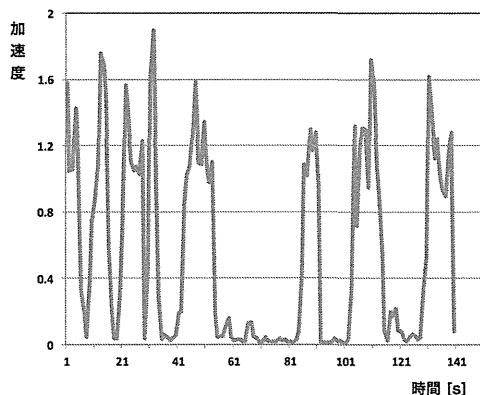


図2 自由行動時の加速度

健康者ボランティアの自由行動データを改良型 k-最近傍法を用いて解析したところ、歩

行時間・静止時間・立ち座りの回数がそれぞれ、85%、90%、58%の正答率で分類できることを確認した。

D. 考察

解析結果より、歩行時間、静止時間の正答率は高いが、立ち座り回数については誤差が大きい結果となっている。この理由として、検証データ数が少ないこと、データの特徴抽出が不十分である点などが考えられる。従って、行動分類アルゴリズムのさらなる改良・検証が必要であると考えられる。

E. 結論

本研究では、客観的な運動療法評価のための基礎研究として、携帯端末を用いた行動データ取得、日常生活動作分類システムを開発した。今後は、様々な体操を配信するシステム作りを行い、慢性痛患者での検証及び地域介入試験を実施し、さらなるシステムのブラッシュアップを行う。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO
"Synchronization in Several Types of Coupled Polygonal Oscillatory Networks" □ IEEE Transactions on Circuits and Systems I, vol. 59, no. 5, pp. 1042-1050, May 2012.
- 2) Sho SHIMOMURA, Harun MATSUSHITA, Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO "Ant Colony Optimization Including Dull Ants Caused by Genetic Algorithm" □ RISP Journal of Signal Processing, vol. 16, no. 4, pp. 303-306, Jul. 2012.
- 3) 松浦 健二, 上田 哲史, 佐野 雅彦 :
複数認証基盤に対応する複合SSO環境での

- ユーザエクスペリエンス, 学術情報処理研究, Vol. 16, 138-145頁, 2012年
- 4) Tetsushi Ueta and Akihisa Tamura :
Bifurcation Analysis of a Simple 3D Oscillator and Chaos Synchronization of its Coupled Systems, Chaos, Solitons & Fractals, Vol. 45, No.12, pp.1460-1468, 2012.
2. 学会発表
- 1) Chihiro IKUTA, Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO "Investigation of Multi-Layer Perceptron with Propagation of Glial Pulse to Two Directions" Proceedings of IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS'12), pp. 2099-2102, May 2012.
- 2) 上田 哲史 : ポストカオス制御に向けた取り組み, 回路とシステムワークショップ 論文集, 9-14項, 2012年
- 3) 加藤 雄大, 上手 洋子, 西尾 芳文 "社会性を考慮した結合を持つセルラニューラルネットワーク" Proceedings of IEEE Workshop on Nonlinear Signal Processing (NSP'12), p. 1, Sep. 2012.
- 4) Yudai SHIRASAKI, Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO "Artificial Bee Colony Algorithm with Two Kinds of Colonies" 平成24年度 電気関係学会 四国支部連合大会 講演論文集, no. 1-15, p. 15, Sep. 2012.
- 5) Naohiro SHIBUYA, Yuta YOKOYAMA, Tomoya SHIMA, Chihiro IKUTA, Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO "Copy Weight Parameters for Back Propagation" 平成24年度 電気関係学会 四国支部連合大会 講演論文集, no. 1-17, p. 17, Sep. 2012.
- 6) 北野圭則, 上田哲史, 西尾芳文, 楊国安, 楊暘, "二値画像に対するフラクタル符号化における輝度値変換パラメータの性質" 平成24年度 電気関係学会 四国支部連合大会 講演論文集, no. 1-39, p. 39, Sep. 2012.
- 7) Muhammad IZZAT bin Mohd Idrus, Yoshihiro KATO, Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO "Research on a New Structure of Three-Layer Cellular Neural Networks" Proceedings of IEEE Workshop on Nonlinear Circuit Networks (NCN'12), pp. 109-110, Dec. 2012.
- 8) Kazushige NATSUNO, Yoshihiro KATO, Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO "Investigation of Two-Layer Cellular Neural Networks with Switching Only Coupling Templates for Motion Picture Processing" Proceedings of IEEE Workshop on Nonlinear Circuit Networks (NCN'12), pp. 111-114, Dec. 2012.
- 9) Yuta YOKOYAMA, Chihiro IKUTA, Yoko UWATE and Yoshifumi NISHIO "Research of Pattern Recognition by Multi-Layer Perceptron with Neurogenesis" Proceedings of IEEE Workshop on Nonlinear Circuit Networks (NCN'12), pp. 115-116, Dec. 2012.
- 10) Tomoya SHIMA, Yoko UWATE, Thomas OTT and Yoshifumi NISHIO "Investigation of Synchronization for Social Network with Local Bridge via Coupled Rulkov Maps" Proceedings of IEEE Asia Pacific Conference on Circuits and Systems (APCCAS'12), pp. 499-502, Dec. 2012.
- G. 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 中塚 映政 関西医療大学 客員教授

研究要旨

神経根の炎症や変性により誘発される神経根性疼痛を訴える患者は多く、後根神経節（Dorsal Root Ganglion;DRG）や後根が傷害されると、その支配領域に一致した放散痛やしびれ感といった異常感覚が生じる。臨床経験上、末梢神経がDRGより末梢で傷害されると比較的強い根性疼痛が生じるのではないかと推察されるが、傷害部位が異なる根性疼痛の発現程度について比較、検討した報告は存在せず、詳細は不明である。本研究では傷害部位の異なる根性疼痛モデルを作成し、行動学、組織学、電気生理学的観点から、根性疼痛の発現程度について評価をした。von Frey test、脊髄後角におけるミクログリアの増加数、脊髄後角第II層における自発性興奮性シナプス後電流のいずれに関しても、DRG >DRGより末梢 >DRGより中枢の順に増加を認めた。本結果から、根性疼痛の発現強度は末梢神経傷害部位により異なることが証明された。このことは根性疼痛のメカニズム解明の一助になると期待できる。

A. 研究目的

神経根の炎症や変性により誘発される神経根性疼痛を訴える患者は多く、後根神経節（Dorsal Root Ganglion;DRG）や後根が傷害されると、その支配領域に一致した放散痛やしびれ感といった異常感覚が生じる。特に脊椎疾患由来の根性疼痛では、解剖学的特徴から傷害部位は脊柱管内、椎間孔内、椎間孔外と多岐にわたる。一般的にDRGが傷害されると強い疼痛やしびれといった異常感覚が生じるとされているが、画像上DRGが傷害されていない場合でも強い疼痛を訴える症例に遭遇する。その際DRGの傷害が強い疼痛、異常感覚を呈するという概念で診療にあたると診断に難渋する。脊椎由来の神経根性疼痛では、椎間孔内から椎間孔外に至る病変が約5-10%存在するとの報告もあり、DRGより末梢が傷害される病態は決してまれではない。末梢神経がDRGより末梢で傷害されると比較的強い

根性疼痛が生じるのではないかと推察されるが、傷害部位が異なる根性疼痛の発現程度について比較、検討した報告は存在せず、詳細は不明である。今回我々は傷害部位の異なる根性疼痛モデルを作成し、行動学、組織学、電気生理学的観点から、根性疼痛の発現程度について評価をした。

B. 研究方法

1. 動物モデル作成

5週齢Sprague-Dawleyラットを使用した。ペントバルビタール（50mg/kg）腹腔内投与により麻酔を行い、腹臥位で背側中央を約3cm皮切し、エピネフリン添加0.5%リドカインを棘突起の両側に局注し、傍脊柱筋群を腰椎から剥離した。椎間孔を開窓することで右L5神経根を露出した。DRGより中枢側2mmを結紮した群をC群、DRGを結紮した群をD群、DRGより末梢側2mmを結紮し

た群をE群とした。また非手術群をA群、右L5神経根を露出のみ施行した群をB群とした。結紮は6-0絹糸を使用した。処置後7日で、以下の3項目についてそれぞれ評価を行った。

2. 評価方法

①von Frey Hairを用いた疼痛誘発試験

10g von Frey Hair を押しつけ、逃避反応を観察した。この操作を10回繰り返す、その逃避反応回数をカウントした。

②L5 髄節の脊髄後角における活性化ミクログリアの発現数

モデルラットをイソフルラン麻酔下で胸骨縦切開し、右心室より1%リン酸緩衝生理食塩水を用いて脱血し、その後4%パラホルムアルデヒドで60分間組織を固定した。次に脊髄を取り出し、20%スクロース液と置換した後、クリオスタットを用いてL5髄節を厚さ15 μ mの薄片で作成して免疫染色を行った。免疫染色は蛍光抗体法を適応した。抗Iba1抗体を一次抗体として使用して、4 $^{\circ}$ Cの環境下で14~17時間培養した。二次抗体はAlexa Fluor 594 goat anti-rabbit を使用して90分間培養を行った。十分洗浄後、カバーガラスで覆い、蛍光顕微鏡を用いてL5髄節の脊髄後角における活性化ミクログリアを観察し、その発現数をカウントした。

③in vivo - patch clamp 法による脊髄後角細胞における興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic currents ; EPSC) の記録

モデルラットをウレタン (1.2g/kg) 腹腔内投与麻酔下、背側切開により展開し、傍脊柱筋群を脊椎より切離したのち、専用固定器に固定した。辺縁皮膚を錘で引き上げることでプールを作成し、脊髄表面を約36 $^{\circ}$ Cの酸素負荷した人工脳脊髄液で灌流し

た。次に顕微鏡下に硬膜を縦切開して切除し、後根を露出、腰傍大部で後根を内外側に分け、電極刺入スペースを作成した。最後にクモ膜と軟膜を剥離することで電極刺入用の開窓が完了した。マイクロマニピュレーターで記録用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で記録を行った。以上の方法から、右L5髄節の脊髄膠様質細胞において、電圧固定法により記録膜電位を-70mVに固定したEPSCの頻度と振幅を記録した。データはmean \pm S.E.M.で表示した。(倫理面への配慮)

本実験計画は関西医療大学動物実験委員会及び和歌山県立医科大学動物実験委員会での審査を受けて承認された。モデル動物に関しては、自傷行為を行なうなどの耐え難い疼痛行動が見られた場合は安楽死処分とした。実験終了後直ちに、頸髄・大動脈を切断処置し、動物を安楽死させた。

C. 研究結果

von Frey hair (各n=10)を用いた逃避反応回数は、A群0.3 \pm 0.2回、B群1.1 \pm 0.5回、C群3.9 \pm 0.5回、D群7.9 \pm 0.5回、E群6.2 \pm 0.3回であった。A-B群間で有意差はなく(Student's t test、P>0.05)、B群と結紮群間(C、D、E群)で有意差を認めた(Student's t test、P<0.001)。結紮群間に有意差を認め、その程度はD群、E群、C群の順であった(ANOVA、Tukey-Kramer法、P<0.001)。

脊髄後角における活性化ミクログリア数(各群n=5)は、A群77.2 \pm 2.5、B群80.0 \pm 2.1、C群202 \pm 8.0、D群354 \pm 8.1、E群292 \pm 6.6であった。特にB群に比べD群では4倍を超える活性化ミクログリアが散見され

た。特に結紮群では肥大化し、アメーバ様突起が出現した活性化ミクログリアが散見された。A-B 群間で有意差はなく (Student' s t test、 $P>0.05$)、B 群と結紮群間 (C、D、E 群) で有意差を認めた (Student' s t test、 $P<0.001$)。結紮群間に有意差を認め、D、E、C 群の順に増加していた (ANOVA、Tukey-Kramer 法、 $P<0.001$)。

脊髄後角における EPSC (各 $n=10$) の頻度は A 群 $9.0\pm 1.4\text{Hz}$ 、B 群 $9.4\pm 1.3\text{Hz}$ 、C 群 $14.6\pm 1.7\text{Hz}$ 、D 群 $19.2\pm 2.0\text{Hz}$ 、E 群 $17.3\pm 2.1\text{Hz}$ であった。A-B 群間で有意差はなく (Student' s t test、 $P>0.05$)、B 群と結紮群間 (C、D、E 群) で有意差を認めた (Student' s t test、 $P<0.001$)。結紮群間に有意差を認め (ANOVA、Tukey-Kramer 法、C-E 群間 $P<0.05$ 、C-D 群間および D-E 群間 $P<0.001$)。また振幅は A 群 $12.3\pm 0.6\text{pA}$ 、B 群 $14.4\pm 1.0\text{pA}$ 、C 群 $19.8\pm 1.6\text{pA}$ 、D 群 $37.7\pm 2.2\text{pA}$ 、E 群 $28.3\pm 2.4\text{pA}$ であった。A-B 群間に有意差はなく (Student' s t test、 $P>0.05$)、B 群と結紮群間 (C、D、E 群) で有意差を認めた (Student' s t test、B-C 群間 $P<0.05$ 、B-D 群間および B-E 群間 $P<0.001$)。結紮群間に有意差を認め、D 群、E 群、C 群の順に増加していた (ANOVA、Tukey-Kramer 法、 $P<0.001$)。

各項目で A-B 群間で有意差はなく、B 群と結紮群間 (C、D、E 群) で有意差を認めた。さらに興味深いことに本研究における各項目で結紮群間に有意差を認め、その程度は D 群、E 群、C 群の順であった。

D. 考察

本研究では成熟ラットを用いて傷害部位の異なる根性疼痛モデルを作成し、行動学、組織学、電気生理学的観点から、根性疼痛について多角的に解析した。

脊髄後角のミクログリアは、末梢神経の損傷に応答して細胞肥大等の形態学的変化や細胞増殖をおこし活性化ミクログリアになる。特に根性疼痛モデルラットでの脊髄後角ミクログリアではアロディニア強度の経時変化によく相関して活性化し、その数は正常時に比べ 2~4 倍の細胞増殖をきたすとされている。本研究結果でも、非結紮群に対して DRG 結紮モデルである D 群では 4 倍を超えるミクログリアが発現した。

また末梢神経からの痛みの情報は $A\delta$ 、C 線維から脊髄後角へ投射され、グルタミン酸を介し伝達される。末梢神経損傷時には、末梢の C 線維を低頻度で刺激を行うと、脊髄後角に存在する投射ニューロンの興奮性が一過性に増大し、刺激を止めた後にも発火を繰り返す wind-up 現象や、神経細胞を同時刺激することで 2 つの神経細胞間の信号伝達が持続的に向上する LTP (long term potentiation) といった可塑的变化が脊髄後角で生じ、疼痛発現との関連が報告されている。その様子は脊髄後角における patch clamp 法で EPSC を記録、解析することで観察が可能である。本研究においても末梢神経結紮モデルの C、D、E 各群において、EPSC の頻度と振幅ともに非結紮群と比べ増加していることが観察された。

von Frey Hair を用いた機械刺激による疼痛誘発試験、脊髄後角における活性化ミクログリア発現数、及び EPSC の頻度、振幅ともに、傷害部位が DRG、DRG より末梢、DRG より中枢の順でそれぞれ一致して有意に増加していた。つまり本研究により、末梢神経傷害部位の違いによって誘発される脊髄内変化に差が生じたことが明らかとなり、根性疼痛の発現程度が異なることが示唆された。DRG が直接傷害されると DRG は易興奮性となり強い根性疼痛が生じるとされている。根性疼痛には、DRG に発現する電位依存性 Na チャネル、とりわけテトロド

トキシン抵抗性 (Tetrodotoxin - resistant : TTX-r) Na チャネルの発現が関与しており、特に末梢神経損傷時には、TTX-r Na チャネルのひとつである Nav1.8 が選択的に異常発現することが報告されている。つまり DRG より末梢の末梢神経が損傷された場合にも、DRG は異所性に興奮し、強い根性疼痛の発現に関与していることが考えられた。

また末梢神経傷害部位の違いにより各評価項目で差が生じた可能性として、血流と栄養分布の違いが考えられる。DRG より中枢の腰神経は DRG より末梢の腰神経に比べ血流が多く、かつ DRG より中枢の腰神経の栄養分布は脳脊髄液から 58%、血管から 38%であるのに対し、DRG より末梢の腰神経は血管栄養が 95%である。つまり末梢神経結紮により血流が低下しても、DRG より中枢では脳脊髄液からも栄養されるため、結紮による神経損傷程度に差が生じたのではないかと推測された。さらに DRG より中枢での末梢神経が傷害された場合と DRG より末梢での末梢神経が傷害された場合では、DRG 内でのアポトーシス数が DRG より末梢で傷害された場合に有意に増加していたとの報告もあり、本研究と矛盾しない結果であると考えられた。

E. 結論

根性疼痛の発現程度は末梢神経傷害部位により異なることが証明された。本研究結果は根性疼痛の新たな知見であり、根性疼痛のメカニズム解明の一助になると期待できる。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Maenaka Y, Nishio N, Sugimura Y, Taniguchi W, Takiguchi N, Kiyoyuki Y, Matsukawa S, Miyazaki N, Nakatsuka T, Yoshida M: Patch-clamp analysis of reactive oxygen species actions on inhibitory synaptic transmission in spinal substantia gelatinosa neurons. *The Journal of Functional Diagnosis of the Spinal Cord.* (2013) 34, 46-51
- 2) Takiguchi N, Yoshida M, Taniguchi W, Hashizume H, Yamada H, Miyazaki N, Nishio N, Nakatsuka T. Distinct degree of radiculopathy at different levels of peripheral nerve injury. *Mol Pain.* (2012) 8, 31
- 3) 谷口亘、吉田宗人、中塚映政. 慢性疼痛の基礎的研究 脊髄メカニズム. *Bone Joint Nerve.* (2012) 2(2), 217-222
- 4) Taniguchi W, Takiguchi N, Kaito Y, Nishio N, Kawasaki Y, Miyazaki N, Yoshida M, Nakatsuka T. Cellular mechanism of dopaminergic inhibitory descending pathway activated by electrical stimulation of A11 in the hypothalamus. -in vivo patch-clamp analysis-. *The Journal of Functional Diagnosis of the Spinal Cord.* (2012) 33, 30-35
- 5) Kaito Y, Nishio N, Taniguchi W, Takiguchi N, Miyazaki N, Maenaka Y, Nakatsuka T, Yoshida M. In vivo patch-clamp analysis of reactive oxygen species actions on excitatory synaptic transmission in spinal substantia gelatinosa neurons. *The*

- Journal of Functional Diagnosis of the Spinal Cord. (2012) 33, 18-23
- 6) Nishio N, Taniguchi W, Sugiura Y, Takiguchi N, Kiyoyuki Y, Matsukawa S, Sakurai Y, Kawasaki Y, Nakatsuka T. Reactive oxygen species actions on excitatory synaptic transmission in spinal substantia gelatinosa neurons. Pain Reserch. (2012) 27(3), 143-152
- 7) 杉村弥恵、谷口亘、瀧口登、西尾尚子、松川すみ、中塚映政. 前帯状皮質電気刺激による脊髄後角ニューロンにおけるシナプス伝達の変調—in vivo パッチクランプ法による解析—。日本運動器疼痛学会誌. (2012) 4, 28-36
- 8) Unezaki S, Sasaki A, Mabuchi T, Matsumura S, Katano T, Nishio N, Andoh T, Nakazawa T, Yamamoto T, Nakatsuka T, Kuraishi Y, Ito S. Involvement of Tyr1472 phosphorylation of NMDA receptor NR2B subunit in postherpetic neuralgia in model mice. Mol Pain. (2012) 8, 59.
- 9) 中塚映政. 脊髄内疼痛伝達機構の可塑的变化と神経障害性疼痛. 整形外科. (2012) 63, 344
- 10) 中塚映政. 【坐骨神経痛と鍼灸治療】腰部脊柱管狭窄症の診断と治療 西洋医学の立場から. 医道の日本. (2012)71, 24-49
2. 学会発表
- 1) Takiguchi N, Yoshida M, Taniguchi W, Hashizume H, Miyazaki N, Nishio N, Nakatsuka T: Distinct degree of radiculopathy at different levels of peripheral nerve injury. 42th Annual Meeting of Society for Neuroscience, New Orleans, 2012. 10
- 2) 谷口亘, 西尾尚子, 櫻井悠加, 瀧口登, 峰巨, 阿部唯一, 宮崎展行, 吉田宗人, 中塚映政: 活性酸素種(ROS)は TRPA1 チャンネルを介して脊髄後角ニューロンを興奮させる. 第1回和歌山ニューロカンプファレンス, 和歌山, 2012. 12月
- 3) 瀧口登, 谷口亘, 橋爪洋, 峰巨, 阿部唯一, 宮崎展行, 西尾尚子, 山田宏, 中塚映政, 吉田宗人: 腰神経傷害部位の違いによる根性疼痛発現強度の検討. 第5回日本運動器疼痛学会 東京, 2012. 11月
- 4) 瀧口登, 吉田宗人, 谷口亘, 杉村弥恵, 西尾尚子, 中塚映政: 末梢神経傷害部位の違いから生じる根性疼痛の発現について. 第34回日本疼痛学会, 熊本, 2012. 7月
- 5) 瀧口登(和歌山県立医科大学 整形外科), 谷口亘, 山田宏, 橋爪洋, 宮崎展行, 峰巨, 中塚映政, 吉田宗人. 傷害部位の違いで腰神経根性疼痛の発現強度に差は生じるのか 動物モデルを用いた行動学、組織学、電気生理学的解析. 第41回日本脊椎脊髄病学会, 久留米, 2012. 4月
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし

H24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
脊髄後角ニューロンにおけるグリア細胞由来伝達物質 D-serine の役割

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

末梢神経障害後にグリア細胞より放出される D-serine が脊髄後角ニューロンに及ぼす効果を電気生理学的手法、免疫組織学的手法を用いて検討した。D-serine は生理的条件下で脊髄後角表層の NMDA 受容体活性を増強するとともにグリシン受容体を活性化し、これが末梢神経損傷後のアロディニア症状を有する神経障害性疼痛の発症に関与しているかもしれない。

A. 研究目的

脊髄後角における痛覚情報伝達は主にニューロン間で行われるが、脊髄損傷、神経損傷などの病的状態ではニューロンに加えてミクログリアやアストロサイトなどのグリア細胞も加わり、このような病態時における痛みは複雑さを呈する。これまで末梢神経損傷後に出現するアロディニア症状を有する神経障害性疼痛の発症機序として、障害側の脊髄におけるグリア細胞の活性化が関与することが知られている。活性化したグリア細胞がトリガーとなり、セカンドメッセンジャーを介した細胞内情報伝達を刺激し、細胞内カルシウム濃度の増加を来し、最終的にグリア細胞自身から炎症性サイトカイン、グルタミン酸などの伝達物質を放出する。

D-serine はアストロサイトから放出される伝達物質のひとつで NMDA 受容体の共作動物質として脳や脊髄レベルにおいて広範囲に存在している。

今回、末梢神経障害後にグリア細胞より放

出される D-serine が脊髄後角ニューロンに及ぼす効果を調べる目的で、電気生理学的手法、免疫組織学的手法を用いて検討した。

B. 研究方法

Wistar 系成熟雄ラットから、ウレタン麻酔下に腰仙部脊髄を摘出し、マイクロスライサーを用い、脊髄スライス標本を作成した。脊髄後角ニューロンより、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。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。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。本研究は新潟大学動物実験指針に準拠し、動物愛護の精神を持って実験を行った。

C. 研究結果

1. D-serine による NMDA 受容体の活性化
記録ニューロンにホールセル・パッチクラ

ンプ法を適用して、 -50 mV の電位固定下に NMDA を投与すると、一過性で内向きの NMDA 電流が発生した。この NMDA 電流の振幅を D-serine (5 mM) 存在下と非存在下において比較した。D-serine により NMDA 電流の振幅は有意に増加した ($P < 0.05$)。このことより、D-serine がラット脊髄後角シナプス後ニューロンに存在する NMDA 受容体の活性化を増強することが示唆された。

2. D-serine による抑制性電流に対する作用

0 mV の電位固定下に D-serine を投与すると、全てのニューロンにおいて、一過性の外向き電流を生じた。膜電位を変化させて D-serine による電流変化を調べたところ、その逆転電位は -70 mV 付近であった。さらに、グリシン受容体の拮抗薬存在下において D-serine 誘起の外向き電流は阻害されたことから、D-serine 誘起電流はグリシン受容体を介していることが示唆された。

D. 考察

我々の実験では -50 mV の電位固定下に D-serine を単独で投与しても内向き電流の発生は観察されなかった。すなわち、脊髄後角において D-serine 自体は非選択的陽イオンチャンネルの開閉に直接は作用しないが、NMDA 受容体のグリシン結合部位に作用し、チャンネルの活性化に作用することが示唆された。一方、 0 mV の電位固定下に D-serine を投与すると外向き電流が発生した。D-serine による外向き電流はグリシン受容体阻害薬により阻害されことから、グリシン受容体の Cl⁻チャンネルを介したものであることが示唆された。このように、脊髄後角ニューロンにおいて、グリア由来伝達物質として知られている D-serine が生理的条件下において NMDA 受容体活性化を増強するだけでなく、グリシン受

容体誘起の外向き電流を誘起することが明らかとなった。本結果は D-serine が生理的条件下で興奮性だけでなく抑制性応答にも影響を及ぼすという大変興味深いものである。したがって本結果から、D-serine の作用は NMDA 受容体発現の高い部位や状態においては興奮性に作用する一方、グリシン受容体発現の高い部位や状態には抑制性に働くことを意味するのかもしれない。

E. 結論

D-serine は生理的条件下で脊髄後角表層の NMDA 受容体活性を増強するとともにグリシン受容体を活性化する。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載。

G. 研究発表

1. 論文発表

論文発表

- 1) Honda H, Kawasaki Y, Baba H, Kohno T. The μ opioid receptor modulates neurotransmission in the rat spinal ventral horn. *Anesth Analg* 2012;115:703-712.
- 2) Kohno T, Kimura M, Sasaki M, Obata H, Amaya F, Saito S. Milnacipran inhibits glutamatergic N-methyl-D-aspartate receptor activity in spinal dorsal horn neurons. *Mol Pain* 2012;8:45.
- 3) Yamamoto T, Honda H, Baba H, Kohno T. Effect of xenon on excitatory and inhibitory transmission in rat spinal ventral horn neurons. *Anesthesiology* 2012;116:1025-1034.
- 4) Petrenko AB, Yamakura T, Kohno T, Sakimura K, Baba H. Increased brain monoaminergic tone after the NMDA receptor GluN2A subunit gene knockout is responsible for resistance to the hypnotic effect of nitrous oxide. *Eur J Pharmacol* 2013;698:200-205.

2. 学会発表

1) Yamamoto T, 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。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

なし

H 2 4 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 鈴木 重行 名古屋大学医学部保健学科 教授

研究要旨

難治性疼痛の中でも不動が関連する疼痛を想定し、モデルラットに対して疼痛の変化とともに運動の効果について検討した。その結果、ギプス固定により発生した疼痛は運動負荷により軽減できることが判明した。

A. 研究目的

ギプス固定による疼痛モデルラットに対してストレッチングを用いた運動介入を行い、痛み行動が運動によって改善するかを検証すること。

B. 研究方法

モデル動物はギプスを用いて足関節を最大底屈位にて2週間または4週間固定して作成した。ストレッチングは自作した他動運動装置を用いて40°の可動範囲で足関節最大背屈位まで行い、30分/日、6日/週、固定除去直後から実施した。疼痛の変化は腓腹筋への機械的刺激に対する逃避反応閾値を測定した。

（倫理面への配慮）

本研究は名古屋大学医学部保健学科動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

2週間または4週間のギプス固定により腓腹筋における逃避反応閾値は低下した。

そして、4週間の固定の後にストレッチングを行った群では逃避反応閾値の低下が抑制

されたが、2週間の固定の後にストレッチングを行った群では非運動群に比べて有意な差は認められなかった。

D. 考察

各群の逃避反応閾値の推移より、ギプス固定により痛み行動が生じるが、ストレッチングはその反応を抑制する効果があると推測された。また、2週間固定した群は4週間固定した群より早期に痛み行動が軽減したことから、疼痛の観点においてもギプス固定は早期に除去することが望ましいことが示唆された。

軟部組織由来の疼痛モデルを昨年度は酸性食塩水投与により、今年度はギプス固定により作成し、いずれも運動介入が疼痛を抑制すること示唆するデータが得られた。

E. 結論

酸性食塩水あるいはギプス固定したラットでは痛み行動が生じるが、ストレッチングによる運動介入はその反応を軽減する効果があると判明した。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 下 和弘, 鈴木重行, 牛田享宏. 熱流束、総熱量測定による痛覚評価の検討. PAIN RESEARCH, 27(1): 17-26, 2012

2. 学会発表

- 1) Hayashi K, Suzuki S, et al: Treadmill exercise reverses mechanical hyperalgesia in acid-injected rats. 14th World Congress on Pain (Milan, Italy) 2012

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

H24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
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 准教授

研究要旨

坐骨神経損傷または脊髄神経損傷により作製した慢性痛モデルラットと気分障害（抑うつ）モデルラットを人工寒冷環境に曝露し、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高速液体クロマトグラフィ（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。慢性痛モデルラットのストレス反応性は健常ラットと大きく異なることが明らかとなった。

A. 研究目的

我々は、慢性痛と自律神経系の関連性を明らかにするため、低温ストレスが慢性痛に及ぼす影響を動物実験で調べてきた。これまでに、低温ストレス（環境温度を7℃低下）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、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。

慢性痛や気分障害（抑うつ）を持つ人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症状が悪化する例が少なくない。この現象のメカニズムのひとつとして、慢性痛や抑うつ病態では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が、詳細は明らかでない。

そこで、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曝露し、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 法によって坐骨神経に慢性絞扼損傷を与えるか（CCI 群）、Chung 法によってL5脊髄神経を結紮切断する（SNL 群）ことで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（6日間）を負荷した抑うつモデルラット（FST 群）を用いた。また、対照群（control 群）として通常飼育したラットを用いた。

以上の処置後、各ラットの頸静脈に採血用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ず自由行動下で採血を行うため、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。

術後3日後に名古屋大学環境医学研究所が所有する環境ストレスシミュレータを用いて低温曝露を行った。室温24℃、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（曝露前1、2）。その後30分間で14℃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 (NA) 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。

(倫理面への配慮)

本実験は、名古屋大学動物実験委員会の承認のもと、実験動物福祉 3Rs ポリシーを遵守して行われた。

C. 研究結果

図1に低温曝露前2回の血中 NA 値を示した。control 群に比較して、慢性痛モデルラットと抑うつモデルラットの NA 値に明らかな違いは見られなかった。

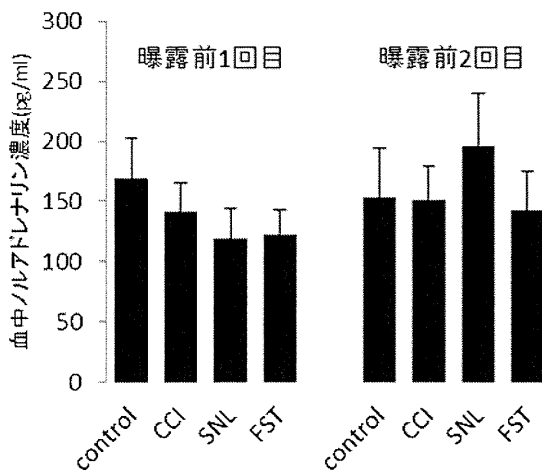


図1. 安静時の血中 NA 量

control 群(n=7)、CCI 群(n=9)、SNL 群(n=8)、FST 群(n=8)の曝露前1(左図)、曝露前2(右図)の血中 NA 濃度 (pg/ml)。

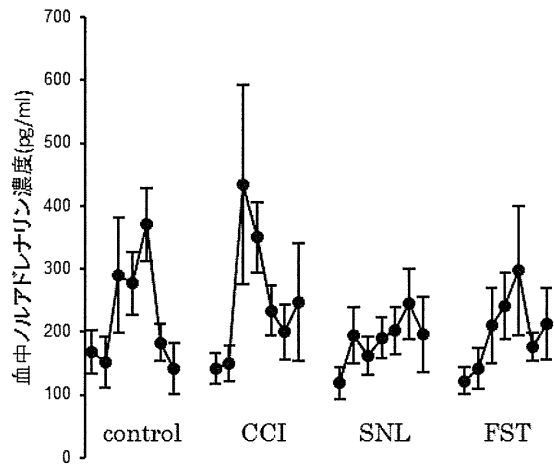


図2. 低温曝露による血中 NA 量の変化

control 群(n=7)、CCI 群(n=9)、SNL 群(n=8)、FST 群(n=8)。

それぞれのグラフは左より曝露前1、2、低温曝露中1、2、3、曝露終了後1、2の採血値を示す。

図2に低温曝露中の血中 NA 値の経時変化を示す。control 群では低温曝露中、徐々に NA 値が上昇し、曝露中3回目の採血で最高値となった。曝露終了後には曝露前値レベルまで低下した。一方、慢性痛モデル (CCI) では、低温曝露の初回採血で高値を示し、曝露中徐々に低下した。この変化は control 群とは全く異なった経過であった。また SNL 群では、低温曝露を行っても NA 値に明らかな変化は見られなかった。抑うつモデルラット (FST 群) は、control 群と比較し NA 変化量は小さい傾向はあるが、control 群と同様の変化を示した。

D. 考察

慢性痛ならびに慢性痛と関連の深い気分障害 (特に抑うつ) を持つ人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曝露し、交感神経の活動指標である NA 血中濃度の経時変化を健常ラットと比較した。

安静時の NA 値は対照群と比較して、慢性痛

モデルラット (CCI 群、SNL 群)、抑うつモデルラット (FST 群) において明らかな違いは見られなかった。この結果から、これらの病態の安静時の交感神経系の活動は健常ラットと変わらないが示唆される。我々の過去の研究で、CCI モデルラットの安静時血中 NA 濃度は CCI 術後 1 週間以内には一過性に上昇するが 1 週間を過ぎると CCI 手術前と同じレベルまで低下していることが分かっており、今回の結果はこれと矛盾しない。今回の結果からもうひとつの慢性痛モデルである SNL 群、抑うつモデルである FST 群においても、安静時の交感神経活動は健常と変わらないことが新たに分かった。

一方、低温曝露中の NA 値の変化はモデル毎に異なっていた。すなわち control 群では低温曝露によって徐々に NA 値が上昇してくるのに対して、CCI 群では低温曝露開始直後に高い NA 値を示した。このことは、このモデルの交感神経系が低温に対して過敏 (急速に興奮する) になっていることを示唆する。一方、同じ慢性痛モデルである SNL ラットでは低温曝露中に NA 値の変化が観察されなかった。このことは、このモデルでは低温ストレスに対する交感神経系の反応性が減弱あるいは消失している、すなわち自律神経系の機能破綻が起こっていることを示唆する。どちらも同様の慢性痛関連行動を示す神経障害性モデルでありながら、低温ストレスに対する交感神経系の反応性が全く異なっていることは非常に興味深い。また、抑うつモデルが control 群に比べ変化量が小さい傾向を示したことは、このモデルの交感神経系の反応性が減弱している可能性を示唆している。例数を増やす、温度変化を少なくして変化を比較する等、今後の研究課題である。

E. 結論

慢性痛モデルラットと気分障害モデルラットを人工寒冷環境に曝露し、ストレス応答性の指標として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。慢性痛モデルラットのストレス反応性は健常ラットと大きく異なることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載。

G. 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) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 佐藤 純: 天気変化と痛み. **Anesthesia Network** 15(1): 32-34, 2011.
- 7) 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.
- 8) Morimoto A, Winaga H, Sakurai H, Ohmichi M, Yoshimoto T, Ohmichi Y, Matsui T, Ushida T, Okada T, Sato J: Treadmill running and static stretching improve long-lasting hyperalgesia, joint limitation, and muscle atrophy induced by cast immobilization in rats. **Neuroscience Letters** (2012) DOI: 10.1016/j.neulet.2012.11.009.
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.
- 6) 佐藤 純: 痛みと自律神経系. シンポジウム4 「しびれ・痛みと自律神経障害」 第65回日本自律神経学会総会 2012. 10.
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

難治性疼痛の実態解明と対応策の開発に関する研究
ヒトにおける慢性疼痛の認知メカニズムの解明

研究分担者 橋本 亮太 大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学
連合小児発達学研究所附属子どものこころの分子統御機構研究センター
准教授

研究要旨

統合失調症は、体の危険信号としての痛みすら十分に感じず非常に重篤な状況に陥るとい
う臨床報告が見られるが、そのメカニズムは明らかになっていない。統合失調症の患者は痛
みに無関心であるケースが見られ、痛みを常に集中させている慢性疼痛患者とは対極
の臨床症状を呈す。よって統合失調症患者の痛覚研究は慢性疼痛メカニズムの解明に繋がる
と考えられる。本研究では統合失調症患者に2種類の異なる実験的痛み（Tonic pain/Phasic
pain）を与えその主観的痛みの程度の違いを解析した。その結果、健康被験者では Phasic
Pain の主観的痛みの強さより Tonic Pain が有意に強いが、統合失調症患者では約 1/3 の症
例で Tonic Pain の強さが低いという結果が得られた。患者全体としてもその変化は健康被
験者と異なることが明らかになった。これらは、健康被験者において、痛みが持続するこ
とでその主観的痛みの強さが増すことに対し、その持続によって痛みの増強が見られないこ
とは、臨床的痛みに対する耐性の高さを反映すると考えられる。今後さらにサンプル数を拡大
し、その脳内メカニズムの検討を続けたいと考えている。

A. 研究目的

統合失調症患者は重症腹膜炎でも痛みを訴えないなど体の危険信号としての痛みすら感じず
生命の危険にさらされるという臨床報告が散見される。統合失調症患者の痛み感受性の変化を実
験的痛みで行った研究は存在するがいずれも小規模であり、その原因については注意機能・認知
機能との関連を示唆する報告があるが未だ明らかになっていない。今回我々は、2種類の異なる
実験的痛み刺激（Tonic/Phasic）に対する主観的痛みの強さについて、統合失調症患者群、健常者
群において比較し、その違いを検討した。

B. 研究方法

DSM-IV によって精神科医が診断した統合失調
症患者 46 名、健常者 20 名に文書で同意を得た後、
熱刺激（Pathway:Medoc. Co. Ltd. イスラエル）に
より実験的痛みを与え、熱くて痛くて我慢できな
い温度（Heat Tolerance:HT）の測定を行い、痛
みの程度を visual analogue scale (VAS) で測定

した。さらに、15 秒間の持続する熱刺激を 5 つ
の温度（40 度、42 度、44 度、46 度、48 度）で
ランダムにそれぞれ 3 回ずつ行い、主観的痛み評
価の推移を持続的痛み評価装置（CoVAS :
Medoc. Co. Ltd. イスラエル）で被験者に評価を促
した。CoVAS で 80/100 の評価となった温度以上
の刺激は中断した。痛み評定は 15 秒間の中で最
も高い評定を解析に使用した。Phasic Pain の強
さは HT の VAS 評定を、Tonic Pain の強さは各刺
激温度の評定で HT に近い温度のものとした。
患者の症状として PANSS (Positive and Negative
Syndrome Scale) での評価を精神科医によって行
った。統計は JMP9.01 を用い、Student-t 検定、
相関解析はペアワイズ法で行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、精神疾患患者を対象とした研究で
ある。被験者への説明とインフォームド・コン
セント、個人情報への厳重な管理（匿名化）など
を徹底させた。また、本研究は、大阪大学倫理
審査委員会において承認を受けている。