

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

「情動的側面に着目した慢性疼痛の病態解明と診断・評価法の開発（H23-痛み-一般-001）」
慢性疼痛における情動の役割の研究

研究代表者：南 雅文（北海道大学薬学研究院 教授）

研究要旨

本研究では、神経障害性疼痛モデル動物における自発痛により誘発されると考えられる抑うつ様状態を評価する目的で、報酬刺激提示時の快情動の減弱（アンヘドニア）を、側坐核内におけるドパミン遊離量を指標として検討した。In vivo マイクロダイアリシス法を用いた検討により、対照群において報酬刺激（30%スクロース水）提示時に観察される有意な側坐核内ドパミン遊離量上昇が、神経障害性疼痛モデル動物においては消失していることを明らかとした。

A. 研究目的

痛みによる不安、抑うつ、嫌悪などの負情動は、生体警告系としての痛みの生理的役割に重要であるが、これら負情動は、QOLを著しく低下させるだけでなく、精神疾患・情動障害の引き金ともなり、また、そのような精神状態が痛みをさらに悪化させるという悪循環を生じさせ、慢性疼痛の病態において重要な役割を果たしていると考えられる。そこで本研究では、慢性疼痛モデル動物を用いた研究により、痛みの情動的側面に関与する脳部位の活性化が、痛みに与える影響とその神経機構を明らかにすることを目的とする。本年度は、神経障害性疼痛モデル動物における自発痛により誘発されると考えられる抑うつ様状態を評価する目的で、報酬刺激提示時の快情動の減弱（アンヘドニア）を、側坐核内におけるドパミン遊離量を指標として検討した。

B. 研究方法

1. 神経障害性疼痛モデルラットの作製

実験には雄性 SD ラットを使用した。6 週齢の時点で、脊髄神経部分切結紮手術を行った（Chung model）。神経障害性疼痛の評価は von Frey 試験を用い、脊髄神経部分切結紮手術の前日、および切結紮手術後 7 日毎に 28 日後まで行った。また、対照群（Sham 施術群）として脊髄神経の露出までを行い、切結紮しない群を作製し解析に用いた。

von Frey 試験には、0.4, 0.6, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 15.0 g のフィラメントを使用した。2.0 g のフィラメントから測定を開始し、反応しない場合（○）は 1 段階大きい圧のフィラメント、反応した場合（×）は 1 段階小さい圧のフィラメントを用いて測定を順次行った。測定は初めて反応が交叉した後に 4 回繰り返し行った。検定後、以下の式を用いて 50 % threshold を算出した。

50 % threshold = $10^{X+k\delta} / 10000$

X: 最後に用いたフィラメントの圧の強さ

k: / Xの配列によって決まる値 (参照:

Chaplan et al. *Journal of Neuroscience Methods* (1994) 55-63)

δ : フィラメントの偏差 (= 0.224)

2. 慢性疼痛が報酬刺激提示時の側坐核ドパミン遊離に及ぼす影響の検討

神経障害性疼痛の評価を von Frey 試験を用いて行い、施術 28 日後に機械的痛覚過敏が持続している個体を、慢性疼痛モデルラットとして用いた。施術 28 日後の von Frey 試験後にペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) 麻酔下、マイクロダイアリス用ガイドカニューレを、その先端が側坐核 shell 領域の 1.0 mm 上方に留まるように埋込手術を行った。術後 2 日目、マイクロダイアリス開始 16 時間前から絶水食を行い、実験当日、マイクロダイアリス用透析プローブを挿入し、リンゲル液を流速 1.0 $\mu\text{l}/\text{min}$ で灌流した。なお、灌流路には可動式アームに装着したシーベルを用い、実験中、ラットが自由にチャンバー内を行動できるようにした。透析液は 5 分毎に回収し、透析液中のドパミン含量を電気化学検出器を用いて定量した。実験終了後、マイクロダイアリス用透析プローブ刺入部位を確認し、側坐核 shell 内への刺入が確認された個体のみデータ解析に用いた。

研究の実施にあたっては、「動物の愛護及び管理に関する法律 (動愛法)」を遵守し、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針 (文部科学省告示第 71 号) 及び、動物実験の適正な実施に向けたガイドライン (日本学会議) 国立大学法人北海道大学の動物実験に関する指針に即して、北海道大学で設けら

れた規程に従い立案した計画を、動物実験委員会の審議を経て研究機関の長の承認を得た上で動物実験に着手した。

C. 研究結果

神経障害性疼痛モデル動物における自発痛により誘発されると考えられる抑うつ様状態を定量的に評価する目的で、Chung モデルラットを用いて、報酬刺激提示時の快情動の減弱 (アンヘドニア) を、報酬刺激提示時の側坐核内ドパミン遊離量の変化を指標として、in vivo マイクロダイアリス試験により検討した。Chung モデルラットにおいては、施術 28 日後においても、機械的刺激に対する疼痛閾値の有意な低下が、神経障害側 (同側: ipsilateral) において確認された (図 1)。

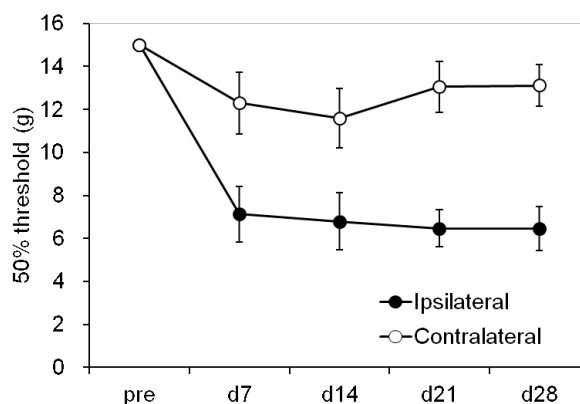


図 1 神経障害性疼痛モデル動物におけるアロディニア

神経障害性疼痛モデルラットにおいて、機械的刺激に対する疼痛閾値の経時変化を von Frey 試験により検討した。(n = 9)

続いて、Chung モデルラットに対して、報酬刺激として 30%スクロース水を 30 分間提示し、側坐核内ドパミン遊離量の変化を解析したところ、Sham 施術群では報酬刺激提示前と比較し有意な側坐核内ドパミン遊離量上昇が確認されたが、Chung モデルラットにおいては有意

なドパミン遊離量の変化は観察されなかった (図 2)。また、30%スクロース水提示時の摂水量は両群間で有意な差が見られなかった (Sham, 5.7 ± 0.9 g; Chung model, 5.4 ± 0.8 g)。

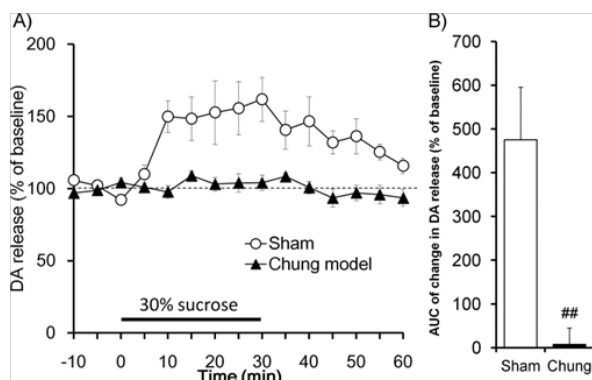


図 2 神経障害性疼痛モデル動物における報酬刺激提示時の側坐核内ドパミン遊離

報酬刺激 (30%スクロース水) 提示時の側坐核 shell 内でのドパミン遊離量の変化を解析した。A) ドパミン遊離の経時変化。B) 報酬刺激提示開始後 60 分間のドパミン遊離変化量 (AUC)。Student's t-test: ## $P < 0.01$ ($n = 7$, each)

D. 考察

これまでに、慢性疼痛モデル動物における自発痛およびそれにより惹起される情動変化に関しては、ほとんど研究が進んでいない。そこで、神経障害性疼痛モデル動物における自発痛により誘発されると考えられる抑うつ状態を評価する目的で、報酬刺激提示時の快情動の減弱 (アンヘドニア) を、側坐核におけるドパミン遊離量を指標として検討した。神経障害性疼痛モデルラットにおいては、対照施術群で見られる報酬刺激提示時のドパミン遊離量増加が消失しており、快情動が減弱していることが示唆された。本実験結果は、報酬課題時の腹側線条体神経活動が慢性疼痛患者で減弱するという検討結果と一致するものであり、慢性疼痛下での抑うつ状態、特にアンヘドニアの評価法として、実験動物での側坐核内ドパミン遊離、ヒ

トでの腹側線条体神経活動計測の有用性を示すものである。

E. 結論

神経障害性疼痛モデルラットにおいて、対照施術群で見られる報酬刺激提示時の側坐核でのドパミン遊離量増加が消失していることを明らかとした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会および研究会発表

- 1) 眞嶋悠幾、井川ありさ、井手聡一郎、津田誠、井上和秀、南雅文: Chronic pain increases neurokinin 1 receptor mRNA expression in the bed nucleus of stria terminalis: Roles of neurokinin 1 receptor in the anxiety-like behavior. Neuro2013 (第 36 回日本神経科学大会・第 56 回日本神経化学学会大会・第 23 回日本神経回路学会大会), 京都, 2013.6.22

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

