

# 絞扼性神経損傷モデルラットに対する他動的運動介入は神経障害性疼痛に与える影響

岡田圭祐 (PT, MSc)<sup>1)2)</sup>, 今北英高 (PT, PhD)<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 医療法人藤井会香芝生喜病院リハビリテーション室

<sup>2)</sup> 畿央大学大学院健康科学研究科

キーワード:

## はじめに

神経障害性疼痛は慢性疼痛疾患の中でも重症度が高く、非神経障害性疼痛と比較して、生活の質に与える影響が大きいとされている<sup>1)</sup>。神経障害性疼痛のメカニズム研究には絞扼性神経損傷（以下、CCI）モデル<sup>2)</sup>などが用いられ、複合性局所疼痛症候群Ⅱ型に類似した諸症状を示す。神経障害性疼痛の原因として、末梢による感覚受容体の感作や中枢神経系における感覚回路の可塑的变化の影響が指摘されている。また、ミクログリアは神経障害などで活性化され、炎症物質を放出する。これらの物質は一次ニューロンからの痛みの神経伝達物質の放出を促進し、同時に二次ニューロンの膜電位を上げることでシナプス伝達を促進する<sup>3)</sup>。慢性疼痛に対する運動療法はガイドラインで強く推奨されている<sup>4)</sup>。先行研究では、トレッドミル走行などの運動が神経障害性疼痛モデルにおける神経因性疼痛の改善<sup>5)</sup>や予防効果があると報告されている<sup>6)</sup>。本研究ではCCIモデルに対し、他動運動による運動負荷が疼痛に与える影響を検討する。

## 方 法

### 1. 対象

本研究は第一実験、第二実験で構成した。

#### 1) 第一実験

9週齢の雄性 Sprague Dawley (SD) ラットを27匹用いた。SA（偽手術麻酔群）8匹、CA（絞扼性神経損傷麻酔群）9匹、CSA（絞扼性神経損傷+麻酔下運動群）10匹に無作為に振り分けた。

#### 2) 第二実験

9週齢の雄性SDラットを26匹用いた。SN（偽手術無麻酔群）8匹、CN（絞扼性神経損傷無麻酔群）8匹、CSN（絞扼性神経損傷+無麻酔下運動群）10匹に無作為に振り分けた。

本研究は畿央大学動物実験倫理委員会の承認（承認番号：H30-05）を得て、畿央大学動物実験管理規定にしたがって実施した。

### 2. CCIモデルの手術<sup>2)7)</sup>

CNとCA、CSN、CSAには先行研究に準じてCCI手術を施行した。SAとSNには偽手術を施行した。

### 3. 行動観察

体重測定、Von-Frey filament（以下、VFF）test、Beam walking test（以下、BWT）を術前および術後1週間ごとに実施した。両側後足部に対しVFFを適用し疼痛回避行動の観察を行い、up-down法を用いて50%疼痛閾値を算出した<sup>8)</sup>。BWTは先行研究に基づいて1～7点の7段階で評価した<sup>9)</sup>。

### 4. ラットの除外基準

CCI手術の1週間後のBWTの結果から、6点以下は本研究から除外した。また、術後1週間の時点で疼痛閾値に変化のないものも同様に除外した。

### 5. 運動介入

右足関節に対し第一実験ではイソフルラン麻酔下にて、第二実験では筒状の容器にラットを収容し間歇的に他動運動を施行した。運動は5秒周期で足関節底屈、背屈を繰り返す。週5日、10分間行った。術後1週間より開始し4週間実施した。運動群以外では10分間足部の把持のみ行った。

### 6. 骨格筋、脊髄の分析

運動介入期間の終了後、ヒラメ筋（以下、SOL）、長趾伸筋（以下、EDL）を採取し、筋湿重量を計測した。また、脊髄の組織分析標本を作製し、ABC法を用いて免疫組織化学染色を実施した。なお、一次抗体として抗カルシトニン遺伝子関連ペプチド（以下、CGRP）抗体、抗アログラフト炎症因子-1（以下、AIF-1）抗体、抗グリア細胞線維性酸性タンパク質（以下、GFAP）抗体を用いた。

### 7. 統計処理

統計処理は3群間の比較として一元配置分散分析を用い、多重比較検定にBonferroni法を用いた。なお、危険率5%をもって統計学的有意とした。

## 結 果

### 1. 第一実験

#### 1) 体重

各群の体重に有意な差はなかった。

#### 2) 疼痛閾値（図1）

術後1週目よりCA（ $9.4 \pm 4.5$  g）、CSA（ $9.6 \pm 4.8$  g）はSA（ $28.8 \pm 0.0$  g）と比較し疼痛閾値の低下を認め、4週目までCAとCSAに差は認めなかった。5週目にはSA（ $27.6 \pm 3.6$  g）、CA（ $9.4 \pm 2.8$  g）、CSA（ $15.8 \pm 3.8$  g）の各群間で有意な差を認めた。

#### 3) 筋湿重量

右SOL（SA： $0.17 \pm 0.02$  g、CA： $0.13 \pm 0.03$  g、CSA： $0.15 \pm 0.02$  g）ではCAはSAと比較し有意に低値を示した。右EDL（SA： $0.20 \pm 0.02$  g、CA： $0.16 \pm 0.02$  g、CSA： $0.16 \pm 0.01$  g）ではCA、CSAはSAと比較し有意に低値を示した。

#### 4) 脊髄組織（図2）

抗CGRP1、抗AIF-1、抗GFAP染色ともに著明な変

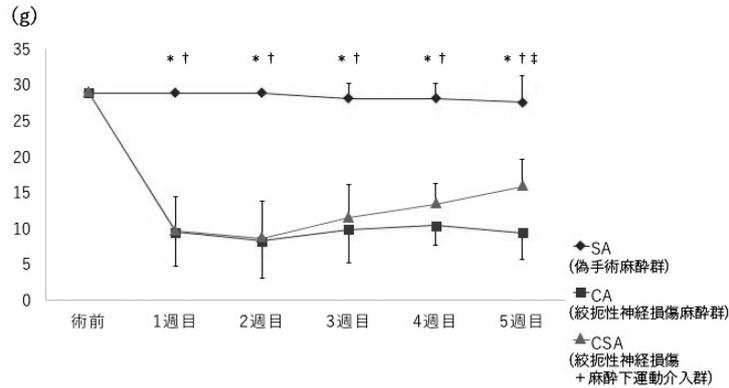


図1 第一実験における50%疼痛閾値の経時変化 (g)

\* SA と比較し CA に有意な差を認める. ( $p < 0.05$ )

† SA と比較し CSA に有意な差を認める. ( $p < 0.05$ )

‡ CA と比較し CSA に有意な差を認める. ( $p < 0.05$ )

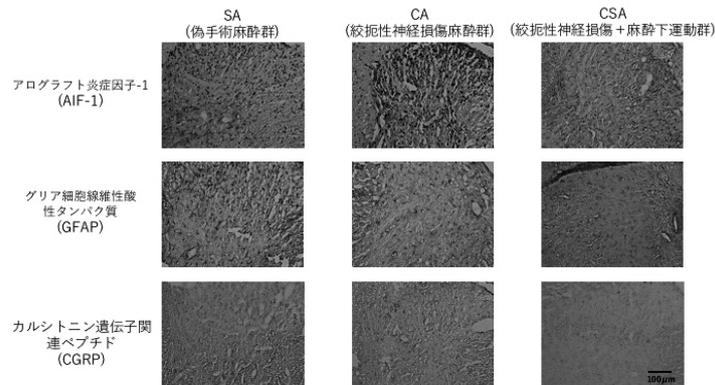


図2 第一実験における脊髓組織の免疫組織化学染色

右脊髓後角における免疫組織化学染色の結果である。痛み関連領域である第 I ~ V 層におけるアログラフト炎症因子-1 (AIF-1), グリア細胞線維酸性タンパク質 (GFAP), カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の染色性に各群間で著明な変化を認めなかった。

化を認めなかった。

## 2. 第二実験

### 1) 体重

各群の体重に有意な差はなかった。

### 2) 疼痛閾値 (図3)

術後1週目より CN ( $9.1 \pm 5.4$  g), CSN ( $10.5 \pm 5.1$  g) は SN ( $28.8 \pm 0.0$  g) と比較し疼痛閾値の低下を認めた。術後5週目においても CN ( $11.2 \pm 5.7$  g), CSN ( $10.7 \pm 4.5$  g) は SN ( $28.8 \pm 0.0$  g) と比較し疼痛閾値の低下を認めた。

### 3) 筋湿重量

右 SOL (SN :  $0.18 \pm 0.01$  g, CN :  $0.14 \pm 0.03$  g, CSN :  $0.16 \pm 0.01$  g) では CN は SN と比較し有意に低値を示した。右 EDL (SN :  $0.21 \pm 0.02$  g, CN :  $0.15 \pm 0.03$  g, CSN :  $0.18 \pm 0.03$  g) では CN は SN と比較し有意に低値を示した。

### 4) 脊髓組織 (図4)

抗 CGRP, 抗 AIF-1, 抗 GFAP 染色ともに著明な変

化を認めなかった。

## 考 察

第一実験において、麻酔下における間歇的他動運動の効果を検討した。麻酔下での間歇的他動運動が術後5週目に未介入群に対し疼痛閾値を改善させた。第二実験において、無麻酔下における間歇的他動運動の効果を検討した。覚醒状態での間歇的他動運動では疼痛閾値に変化を与えなかった。CCI モデルは術後約1週間で痛覚過敏が完成するとされ、本研究においても術後1週間で痛覚閾値の低下を認めており、先行研究と同様の結果となった<sup>7)</sup>。痛覚閾値の低下は脊髓後角における二次ニューロンの感受性亢進や広作動域ニューロンの感受性変化や脊髓後角第 II ~ I 層への発芽<sup>3)</sup> によって起こるとされている。また、近年では脊髓におけるグリア細胞の働きが神経障害性疼痛に重要な役割を果たしているとされている。特にミクログリアは神経障害などにより炎症性サイトカインの放出にかかわるとされており、疼痛の発生と

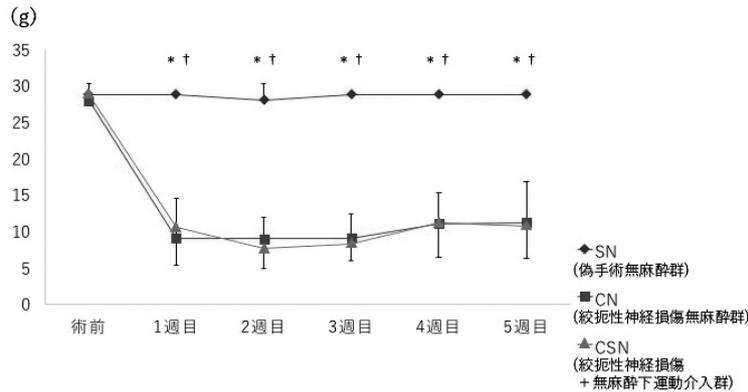


図3 第二実験における50%疼痛閾値の経時変化 (g)  
 \* SN と比較し CN に有意な差を認める. ( $p < 0.05$ )  
 † SN と比較し CSN に有意な差を認める. ( $p < 0.05$ )

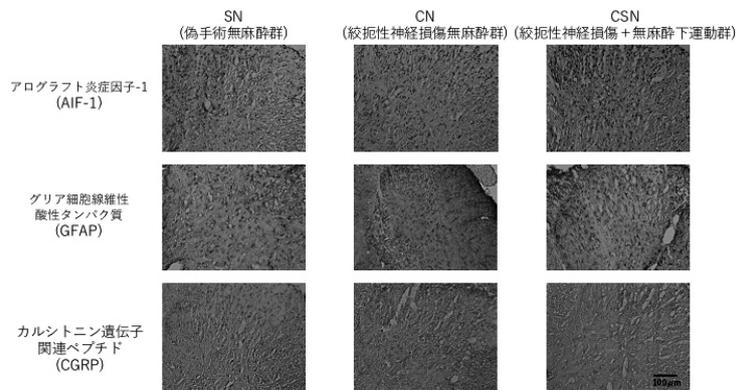


図4 第二実験における脊髄組織の免疫組織化学染色  
 右脊髄後角における免疫組織化学染色の結果である。痛み関連領域である第I~V層におけるアログラフト炎症因子-1 (AIF-1), グリア細胞線維性酸性タンパク質 (GFAP), カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の染色性に各群間で著明な変化を認めなかった。

大きく関与している。本研究ではミクログリア, アストロサイトともに著明な変化を認めず, 術後5週間の時点では運動介入の効果とグリア細胞は大きく関与していない可能性が示唆された。

結 論

本研究では麻酔下での運動は疼痛閾値の改善に有効であるが, 無麻酔下での間歇的他動運動は疼痛閾値に変化を与えないことが示唆された。また, 運動介入の効果にグリア細胞が関与しているかは明らかにできなかった。

文 献

- 1) Attal N, Lanteri-Minet M, *et al.*: The specific disease burden of neuropathic pain: Results of a French nationwide survey. *Pain*. 2011; 152: 2836-2843.
- 2) Bennett GJ, Xie YK: A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 1988; 33(1): 87-107.
- 3) 丸山一男: 痛みの考え方—しくみ・何を・どう効かす—。

- 南江堂, 東京, 2014, pp. 253-257.
- 4) 松原貴子: 慢性疼痛のリハビリテーション. *臨床精神医学*. 2013; 42(6): 733-738.
- 5) YJ Kim, JH Byun, *et al.*: Effect of Exercise on  $\mu$ -Opioid Receptor Expression in the Rostral Ventromedial Medulla in Neuropathic Pain Rat Model. *Ann Rehabil Med*. 2015; 39(3): 331-339.
- 6) López-Álvarez VM, Modol L, *et al.*: Early increasing-intensity treadmill exercise reduces neuropathic pain by preventing nociceptor collateral sprouting and disruption of chloride cotransporters homeostasis after peripheral nerve injury. *Pain*. 2015; 156(9): 1812-1825.
- 7) Sumizono M, Sakakima H, *et al.*: The effect of exercise frequency on neuropathic pain and pain-related cellular reactions in the spinal cord and midbrain in a rat sciatic nerve injury model. *J Pain Res*. 2018; 11: 281-291.
- 8) Chaplan SR, Bach FW, *et al.*: Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods*. 1994; 53(1): 55-63.
- 9) Goldstein LB, Davis JN: Beam-walking in rats: studies towards developing an animal model of functional recovery after brain injury. *J Neurosci Methods*. 1990; 31(2): 101-107.