

O-0518

経皮的末梢神経電気刺激 (TENS) がマウス神経障害性疼痛モデルの脊髄後角二次ニューロンに及ぼす影響

松尾 英明¹⁾, 内田 研造²⁾, 中嶋 秀明²⁾, 渡邊 修司²⁾, 竹浦 直人²⁾, 杉田 大輔²⁾, 久保田雅史¹⁾, 嶋田誠一郎¹⁾, 馬場 久敏²⁾

¹⁾福井大学医学部附属病院リハビリテーション部, ²⁾福井大学医学部器官制御医学講座整形外科学領域

key words 経皮的末梢神経電気刺激 (TENS) ・神経障害性疼痛 ・脊髄後角二次ニューロン

【はじめに, 目的】

神経障害性疼痛の主症状である痛覚過敏の発症や持続には, 脊髄後角内での microglia や astrocytes といったグリア細胞が活性化し, グリア細胞から炎症性サイトカインの放出が放出され, 脊髄後角表層に存在する痛覚を伝達する二次ニューロンの感受性を亢進させる事が近年明らかにされてきている。このような神経障害性疼痛による痛覚過敏に対して臨床的に経皮的末梢神経電気刺激 (transcutaneous electrical nerve stimulation ; TENS) が行われているが, その鎮痛効果の基礎的メカニズムは未解明な点が多い。これらの事を背景に我々は, マウス神経障害性疼痛モデルを用いて TENS の鎮痛効果およびそのメカニズムについて基礎的な解析を継続的に行い, これまでに TENS 治療は痛覚過敏の改善と脊髄後角における microglia と astrocytes の活性化を抑制させる事を報告した。さらに TENS 治療が神経障害性疼痛による痛覚過敏を抑制する事の証明には, 痛覚を伝達する二次ニューロンの感受性を評価, 検討する事が必要と考えられる。神経障害性疼痛では, 脊髄後角表層に分布する痛覚伝達に関与する二次ニューロン内で γ isoform of protein kinase C (PKC- γ) や phospho-cyclic AMP response element-binding protein (p-CREB) といった蛋白が, 細胞内の情報を伝達する分子の活性化や受容体の発現および活性化に関与し, 感受性を変化させる事が明らかにされている。しかしながら, TENS 治療が神経障害性疼痛の一つの病態である二次ニューロン内でのこれらの蛋白発現にどのように影響しているかは不明である。

本研究ではマウス神経障害性疼痛モデルを使用し, TENS 治療が脊髄後角表層における二次ニューロンの感受性亢進に関与する蛋白に及ぼす影響について免疫組織化学的に検証した。

【方法】

対象は ICR マウス (9 週齢, n=15) とした。マウス神経障害性疼痛モデルとして総腓骨神経, 脛骨神経を結紮後に切断し, 腓腹神経を温存する spared nerve injury (SNI) を行い, 障害側を左側とした。マウスを SNI 群, SNI 後 1 日目から TENS 治療を行う TENS 群, SNI 手術の Sham 手術として神経までを展開し閉創する Sham 群に群分けした。TENS 治療は, 電気刺激装置 (Pulsecure-Pro KR-7; OG 技研社製) を使用し, 刺激部位は左側の L1-L6 に感覚支配される左側の傍脊柱筋の直上の皮膚, 周波数は 100Hz, 刺激強度は筋収縮が生じない最大強度, 刺激時間は 30 分間とし, 麻酔下にて 1 日 1 回実施した。7 日間の TENS の後, 灌流固定を行い, L4-5 の脊髄を採取し, 20 μ m に薄切し, 神経細胞のマーカーである NeuN, 痛覚感受性の亢進に関連する蛋白である PKC- γ と p-CREB についてそれぞれ免疫染色を行った。解析対象を脊髄後角表層とし, NeuN と PKC- γ と p-CREB の二重染色による神経細胞におけるそれぞれの蛋白の分布を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。さらに, 核染色である DAPI と共染色される PKC- γ 陽性細胞および p-CREB 陽性細胞の細胞数をカウントした。群間の比較には, 一元配置分散分析の後, post hoc test として Bonferroni の多重比較を行い, 有意水準を 5% とした。

【結果】

全ての群において NeuN と共染色される PKC- γ 陽性ニューロンと p-CREB 陽性ニューロンが観察されたが, SNI 群で増加している傾向を示した。細胞数の定量化では, SNI 群は, Sham 群と比較して有意に PKC- γ 陽性ニューロンと p-CREB 陽性ニューロンのどちらの細胞数も増加していた (p<0.05)。一方, TENS 群は, SNI 群と比較し, PKC- γ 陽性ニューロンと p-CREB 陽性ニューロンのどちらの細胞数も有意に減少していた (p<0.05)。

【考察】

本研究では, TENS 治療により二次ニューロンの感受性に関連すると報告されている蛋白発現の減少を認めた。TENS 治療は, 先行研究で報告した脊髄後角内の microglia と astrocytes の活性化を抑制させるのに加え, 神経障害性疼痛の病態の一つである二次ニューロンの感受性の亢進に抑制的に作用している事が確認でき, 鎮痛効果が得られるための基盤となる二次ニューロンの変化ではないかと推察された。

【理学療法学研究としての意義】

これまで TENS 治療が, 神経障害性疼痛の病態である脊髄後角内の microglia と astrocytes の活性化に及ぼす影響について報告してきたが, 一次求心性神経からの痛覚情報の脳への伝達が主な機能である二次ニューロンの変化については未検討であった。本研究は, TENS 治療により二次ニューロンの感受性の亢進が抑制される事が確認しており, 神経障害性疼痛に対する TENS による鎮痛効果の基礎メカニズムの一部を解明できたと考えている。