

氏名	大西 梨恵子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第5714号
学位授与の日付	平成30年3月23日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	神経障害性疼痛に対する早期の持続末梢神経ブロックの効果について -ラットを用いた行動学および免疫組織学的検討-
論文審査委員	沢 禎彦 教授 浅海 淳一 教授 川邊 紀章 准教授

学位論文内容の要旨

【緒言】

神経障害性疼痛は、口腔顔面領域においても、抜歯、インプラント手術などの口腔外科手術での神経損傷で生じる場合や、浸潤麻酔や根管治療が原因である場合も報告されており、治療困難な症例も少なくない。

本疾患に対する治療法として、薬物療法が第一選択であるが、末梢神経ブロックは臨床ではその効果が報告されているものの、エビデンスレベルは低く、治療優先順位は高くない。しかし、臨床では神経障害性疼痛の症例に対して末梢神経ブロックにより良好な鎮痛を得た報告もある。これらの乖離は、神経障害性疼痛に対する末梢神経ブロックの作用機序が十分に解明されていない上に、方法によって効果が異なることに起因しているのではないかと考えられる。

そこで本研究は、神経損傷に対する早期の持続的な末梢神経ブロックの有効性を証明することを目的に、神経障害性疼痛モデルラットの神経損傷部にリドカイン溶液を持続投与することによる効果を、行動学および組織学的に評価した。

【方法】

本研究は、岡山大学動物実験施設倫理委員会（#OKU-2015465）の承認を得て行った。実験動物には、雄の7週齢ラットを用いた。麻酔下で坐骨神経末梢枝を露出し、総腓骨神経および脛骨神経を6-0絹糸で結紮、切断し、神経障害性疼痛モデル（SNIモデル）ラットを作製した。持続的な末梢神経ブロックとして、浸透圧ポンプに局所麻酔薬（リドカイン溶液）を満たし、神経切断部に神経切断と同時に留置し、神経切断部にリドカイン溶液が持続的に浸透するようにした。コントロール群には、生理食塩水を用いた。リドカインの濃度、末梢神経ブロックの期間、投与部位を変えて、疼痛閾値の変化を行動学的に評価した。末梢神経ブロックの期間は、埋め込んだ浸透圧ポンプを取り出すことで調整した。行動学的評価として、von Freyフィラメントによる疼痛回避行動、つまりラットの足蹠部にフィラメントを当て、足を避ける、舐めるといった行動を観察した。痛覚閾値は、up-

down methodを用いて算出した。測定は術前（モデル作製前）、術後（モデル作製後）1時間経過時、1日～3日、4日目から14日目までは隔日おきに測定した。

次に、SNIモデルラットにおいて、6日目に侵害熱刺激後に脊髄を摘出し、L4およびL5脊髄後角でのc-Fosの発現を観察した、2%リドカイン溶液で3日間持続末梢神経ブロックした群、1日間持続末梢神経ブロックした群、および生理食塩水を投与した群（コントロール群）の3群間でc-Fosの発現量を比較した。

【結果】

SNIモデルラットに、2%リドカイン溶液で3日間持続末梢神経ブロックした群では、コントロール群と比べて、12日目まで有意に疼痛閾値の低下が抑制された。リドカインの濃度を0.5%、1%に変更して3日間持続末梢神経ブロックした群では、2%リドカイン溶液で3日間持続末梢神経ブロックをした群と同様に、12日目まで有意に疼痛閾値の低下が抑制された。さらに、神経ブロックの期間を変えて1日間2%リドカイン溶液で神経ブロックした群は、6日目以降、十分な抑制効果はみられなかった。SNIモデルラットの背部皮下に、2%リドカイン溶液を3日間持続投与した群では、疼痛閾値の低下の抑制はみられなかった。また、リドカインの神経傷害の程度を調べるため、神経を切断せずに、2%リドカイン溶液を充填した神経周囲に3日間持続投与したラットに対して、疼痛回避行動が見られるまでvon Freyフィラメントで刺激を加えた場合、投与中止翌日後（4日目）までは、疼痛閾値の上昇が認められたが、その後はコントロール群と差はなかった。

免疫組織学的評価では、コントロール群でL4の脊髄後角におけるc-Fosの発現が強く、特にL4の尾側でその傾向を強く認めた。一方、3日間持続末梢神経ブロックした群ではL4のc-Fosの発現量は少なく。コントロール群と有意な差が認められた。しかし、1日間持続末梢神経ブロックした群では、L4の脊髄後角におけるc-Fos発現量はコントロール群と比べて有意差はなかった。

【考察】

行動学的評価では、リドカインの濃度による有意差が認められなかった。また、1日間の投与群よりも3日間の投与群の方が疼痛閾値の低下を抑制し、全身投与では抑制されなかった。このことから、リドカインの直接的な薬理作用の可能性は低く、さらに末梢での持続的な神経ブロックが、術後の疼痛閾値の低下の抑制に効果的であることが示唆された。神経切断を行わず、2%リドカイン溶液で3日間持続末梢神経ブロックをした群では、術後4日目までは疼痛閾値の上昇を示したが、その後、生理食塩水を投与したコントロール群と差がなかったことから、6日目以降はリドカインによる神経傷害の影響は排除できると考えられた。

また、侵害熱刺激後の脊髄後角でのc-Fos発現を観察した結果、2%リドカイン溶液で3日間持続末梢神経ブロックをした群で、c-Fos発現量が有意に抑制されていたが、1日間持続末梢神経ブロックをした群では、コントロール群と比べて有意差はなかったことから、末梢神経ブロックの効果は、神経ブロック期間に依存しており、その機序として、脊髄後角での一次ニューロンからの異常興奮が抑制されることによって、中枢性感作に対して影響を及ぼしている可能性が考えられた。

本研究結果から、神経損傷が生じた直後、あるいは損傷の可能性が高い症例においては、早期に持続的な末梢神経ブロックを行うことが神経障害性疼痛に対して有効ではないかと示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は、神経障害性疼痛に対する早期の持続的末梢神経ブロックの有効性を証明することを目的として、神経損傷モデルラットに対するリドカインによる持続的末梢神経ブロックの効果を、動物行動学的・免疫組織化学的に検討したものである。

【材料と方法】

7週齢の雄SDラットを用いた。坐骨神経の枝について、腓腹神経を残して脛骨神経と総腓骨神経を麻酔下で切断した Decosterd と Woolf の神経障害性疼痛モデル (spared nerve injury model of neuropathic pain, SNI) を作製した。さらに、神経切断時にリドカイン溶液を満たした浸透圧ポンプをポンプカテーテルの先端が切断部に近接するように留置して筋に固定し、持続的疼痛ブロックモデルを作出した。疼痛閾値の変化は、神経切断された足蹠に対するフィラメント (von Frey) 刺戟からの回避行動の有無によって評価した。また、リドカインの全身投与による効果を評価するため、SNIラットの背部皮下にリドカインポンプを留置し、フィラメント刺戟からの回避行動を評価した。活動電位の発火した神経細胞のマーカースとして c-FOS を応用した免疫組織化学的解析が一般に行われている。本研究では、2%リドカインで持続的疼痛ブロック (1, 3日間) を施行した SNI ラットについて、神経切断された足蹠を 55°C の湯で 10 秒間刺激後、脊髄を採取し、坐骨神経が入力する L4・L5 脊髄後角における c-FOS 発現細胞数を免疫組織化学的に解析した。

【結果および考察】

本研究において、SNI はこれまでの報告と同様、疼痛閾値を大きく低下させたが、SNI に対するリドカイン (0.5, 1.0, 2.0 %) 投与による3日間の持続的末梢神経ブロックは、いずれの濃度でも、10-12日目まで有意に疼痛閾値の低下を抑制した。神経切断後1日間の2%リドカインによる持続的末梢神経ブロックでは、その後3日間疼痛閾値の低下を有意に抑制したが、6日目以降は有意な抑制が見られなかったことから、神経障害性疼痛における疼痛閾値の低下は、神経損傷直後の低濃度リドカインの持続的末梢神経ブロックによって抑制することができること、その効果はブロックの期間に比例して持続することが示唆された。一方、背部皮下にリドカインポンプを留置した SNI ラットでは疼痛閾値の低下は抑制されず、障害部位をブロックしなければ効果がないと考えられた。免疫組織化学的解析では、足蹠を熱刺戟した SNI ラットの L4 脊髄後角の尾側細胞に c-FOS の発現が見られた。持続的疼痛ブロックを3日間施行した SNI ラットも同部位に c-FOS の発現が見られたが、発現細胞は非ブロック SNI ラットより有意に少なかったことから、1次ニューロンから脊髄後角に入力した刺戟は、脊髄において神経細胞体レベルで過剰な興奮をもたらすこと、また、持続的末梢神経ブロックがこれを抑制できることが示された。顎顔面領域の治療困難な神経障害性疼痛は、口腔領域の手術後の発症例のみならず、浸潤麻酔・根管治療が原因となる症例も報告されており、切断神経根に起こる過剰反応の機序の解明と障害性疼痛の治療法の確立は喫緊の課題である。本論文は、SNI モデルを応用して、神経障害性疼痛が障害直後に開始する低濃度リドカインの神経切断部における長期持続的末梢神経ブロックによって中枢性に制御できる可能性を示した。この知見は臨床的に興味深いものであり神経障害性疼痛の治療法の確立への速やかな展開が期待される。

以上より、審査委員会は本論文に博士 (歯学) の学位論文の価値を認める。