

115 神経因性疼痛モデルにおける筋萎縮因子の検討

堤惠理子¹⁾, 森 愛美子¹⁾, 曾田幸一朗¹⁾, 三戸憲一郎¹⁾, 川口浩太郎¹⁾, 森脇克行 (MD)²⁾, 弓削 類¹⁾, 浦辺幸夫¹⁾

1) 広島大学大学院保健学研究科, 2) 国立病院呉医療センター麻酔科

key words 神経因性疼痛・CCIモデル・不動

【目的】難治性の神経因性疼痛では、アロディニアや骨萎縮等を始めとして、多様な合併症が知られている。この合併症のひとつとして筋萎縮が報告されている。

神経因性疼痛を惹起するモデルとして、CCIモデル (chronic constriction injury model) が知られており、温熱性痛覚過敏が強く出現しやすいとされている。このCCIモデルマウスを用い、疼痛が効果器に及ぼす影響について論じた報告は極めて少ない。今回我々は、1) CCI術のみを実施した群 (CCI), 2) CCIと不動 (immobilize) を組み合わせた群 (CCI+IM), 3) 不動のみを実施した群 (IM) を作成することとした。本研究の目的は、各群での筋萎縮状態の経過を観察することで、この筋萎縮の原因が単純に不動によるものか、または疼痛発生による不動の影響を受けているのかどうかを検証することにある。

【方法】対象はC57BL/6NCrj系雄性マウス (10週齢) を用い、各群3匹ずつ合計9匹とした。10%ペントバルビタールナトリウム腹腔内注射による麻酔下で、左坐骨神経に対してCCI術を施行した。室温24℃、湿度55%の一定環境下で、光熱刺激による逃避反応時間の測定を行った。なお、測定は全対象に対して、術前および術後1週目から屠殺実施まで、毎週実施した。照射開始から逃避反応が出現するまでの時間を光熱刺激に対する逃避反応

時間とし、左右の後肢足底に対して8回ずつ測定した。左側の逃避反応時間から右側の逃避反応時間を減じたものをDifference Score (以下DS) と定義した。動物は術後7週で屠殺し、左右の前脛骨筋 (TA)、腓腹筋 (GC) を採取後、筋湿重量を測定した。筋湿重量は体重で除し、左右の筋湿重量/体重 (MW) を算出後、左/右を百分率で表した。統計学的検索として、MWの左右比較はMann-WhitneyのU検定を、DS及びMWの群間比較は一元配置分散分析を実施し、有意水準を5%未満とした。

【結果】測定の結果、DSは術後全ての週で術前に比較して、有意に増加した。CCIとCCI+IMのMWはTA、GCともにIMより有意に減少した。しかしながら、TA及びGCのCCIとCCI+IM間において、MWの差はほとんどなかった。

【考察】本研究では、CCIはIMよりも筋萎縮率が高かった結果となり、CCIの筋萎縮は不動のみの影響ではないことが示唆された。この理由として、神経・筋栄養因子、マクロファージ、さらにサブスタンスPやCGRP等のニューロペプチド等の因子の影響が考えられるが、疼痛による筋萎縮機序に関しては更に検討を重ねる必要がある。従って、今後は組織学的な検討を加えていきたい。

■理学療法基礎系 9

116 ラミニンを抗原とした多発性筋炎モデルラット作成の検討

中野治郎¹⁾²⁾, 沖田 実³⁾, 吉村俊朗 (MD)³⁾, 本村政勝 (MD)⁴⁾, 江口勝美 (MD)⁴⁾

1) 井上病院リハビリテーション科, 2) 長崎大学大学院医学研究科, 3) 長崎大学医学部保健学科, 4) 長崎大学医学部第一内科学教室

key words 多発性筋炎・モデルラット・ラミニン

【目的】

多発性筋炎に対する理学療法では、残存機能の賦活や廃用性筋萎縮の予防・治療を目的に運動療法が実施されるが、その有効性及安全性は未だ明らかにされていない。そして、この課題を解決していく第一段階としては、多発性筋炎の動物実験モデルの作成が不可欠となるが、有効な方法は確立されていない。一方、筋細胞基底膜に分布するラミニンタンパクは筋線維の機能維持に重要な役割を果たしていると考えられており、その欠損は筋線維壊死を誘導する。そこで今回われわれは、ラット生体内のラミニンを人為的に免疫化し、多発性筋炎モデルの作成を検討した。

【方法】

Wistar系ラット (雌、8週齢) を実験群、対照群に振り分け、実験群にはラミニンとフロイント完全アジュバント (Freund's complete Adjuvant: 以下、CFA) の混合液0.3mlを皮内注射により投与し、この操作を隔週3回繰り返した。また、対照群にはCFAのみを同様に投与した。3回目の投与から2週後、麻酔下で尾静脈から採血し、右側のヒラメ筋、長趾伸筋、腓腹筋、前脛骨筋、総指伸筋を採取した。そして、筋試料から凍結横断切片を作成し、H & E染色ならびにCD4、CD8、B細胞、貪食細胞に対する抗体を用いた免疫組織化学的染色を施して検鏡した。なお、CD4抗体はヘルパーT細胞、CD8抗体はキラーT細胞のマーカーである。一方、血清はウエスタンブロッティング法によるラミニン自己抗体の検出に供した。

【結果】

筋横断切片に一カ所以上の炎症所見が認められたものを筋炎の発生とし、各筋の発症率を検討したところ、腓腹筋は約6割、ヒラメ筋は約5割、前脛骨筋と長趾伸筋は約4割、総指伸筋は約1割であった。また、筋炎の程度はヒラメ筋、腓腹筋、前脛骨筋、長趾伸筋、総指伸筋の順に重症であった。次に、ヒラメ筋を検索材料にその免疫組織化学的染色の結果を検討したところ、対照群に比べ、実験群のヘルパーT細胞、貪食細胞は著明に増加しており、それぞれ壊死筋線維周囲、壊死筋線維内外に多く分布していた。一方、実験群すべてのラットの血清からラミニン自己抗体が検出された。

【考察】

タンパク質をCFAに混合して動物に投与すると、そのタンパク質が免疫化されることが知られており、様々な自己免疫疾患の動物モデル作成法として用いられている。同様に今回、実験群にラミニンを投与すると、血清内からラミニン自己抗体が検出され、骨格筋には炎症所見が認められた。これは、筋細胞基底膜のラミニンに自己免疫反応が生じ、その結果として筋炎が惹起されたものと推測できる。また、その病態は、ヘルパーT細胞の増加と筋線維壊死が特徴であり、ヒト多発性筋炎とも類似する。したがって、本モデルは多発性筋炎に対する運動療法を検討するための基礎実験に利用できると考えられ、今後は発症率を高める工夫に加え、運動負荷実験などを実施していきたい。