

日本臨床麻酔学会誌

別冊



日本臨床麻酔学会

カルシトニン遺伝子関連ペプチドの作用から考える 術後痛モデルのメカニズム —炎症性疼痛モデルと比較して—

石田公美子* 川真田樹人*

【要旨】手術による侵害刺激は、末梢神経から脊髄を介して中枢に伝達し、さまざまな部位から異なった痛みを生じる。適切な術後鎮痛を図ることは、患者の苦痛軽減、早期回復、遷延性術後痛の予防につながる。カルシトニン遺伝子関連ペプチドは、近年、痛みの伝達・修飾においてサブスタンスPよりも重要な役割を担っていると考えられるようになったが、これらペプチドの痛み修飾機構はいまだ不明な点が少なくない。本稿では、動物モデルを用いて術後痛のメカニズムを炎症性疼痛と比較して検討し、ペプチドの痛み修飾機構から術後痛について考えてみたい。
キーワード：カルシトニン遺伝子関連ペプチド、脊髄後角、痛覚過敏、侵害受容線維

はじめに

手術侵襲による侵害刺激は、末梢神経、脊髄を介して中枢へ伝達し、さまざまな部位から異なった痛みが生じる。適切な術後鎮痛を図ることは、患者の苦痛軽減、早期回復、遷延性術後痛の予防につながる。しかし、これら痛みのメカニズムは解明されていない点も多い。末梢の侵害受容線維は、グルタミン酸を代表とする興奮性アミノ酸のみを含有するものと、サブスタンスP(substance P: SP)やカルシトニン遺伝子関連ペプチド(calcitonin gene-related peptide: CGRP)などのペプチドを含有するものがあり、それぞれ神経伝達物質や神経調節因子として、脊髄後角での痛みの伝達・修飾に関与している¹⁾。興奮性アミノ酸は、中枢神経におけるすべての感覚・運動・高次機能などの情報伝達に関与する物質であ

るが、SPやCGRPは末梢神経の侵害受容線維に特異的に発現していることから、これらのペプチドをターゲットとすると副作用の少ない鎮痛薬の開発が期待できる。

CGRPは37個のアミノ酸からなるペプチドで、中枢神経から末梢神経系まで幅広く存在する。CGRPは、近年、痛みの伝達・修飾においてSPよりも重要な役割を担っていると考えられるようになったが、これらペプチドの痛み修飾機構はいまだ不明な点が少なくない。本稿では、術後痛のメカニズムを炎症性疼痛と比較して動物モデルで検討し、ペプチドの痛み修飾機構から術後痛について考えたい。

I 手術侵襲による痛みの伝達と末梢組織の変化におけるペプチドの役割

手術操作により末梢組織が損傷を受けると、侵害

*信州大学医学部麻酔蘇生学教室

著者連絡先 石田公美子
〒390-8621 長野県松本市旭3-1-1
信州大学医学部麻酔蘇生学教室

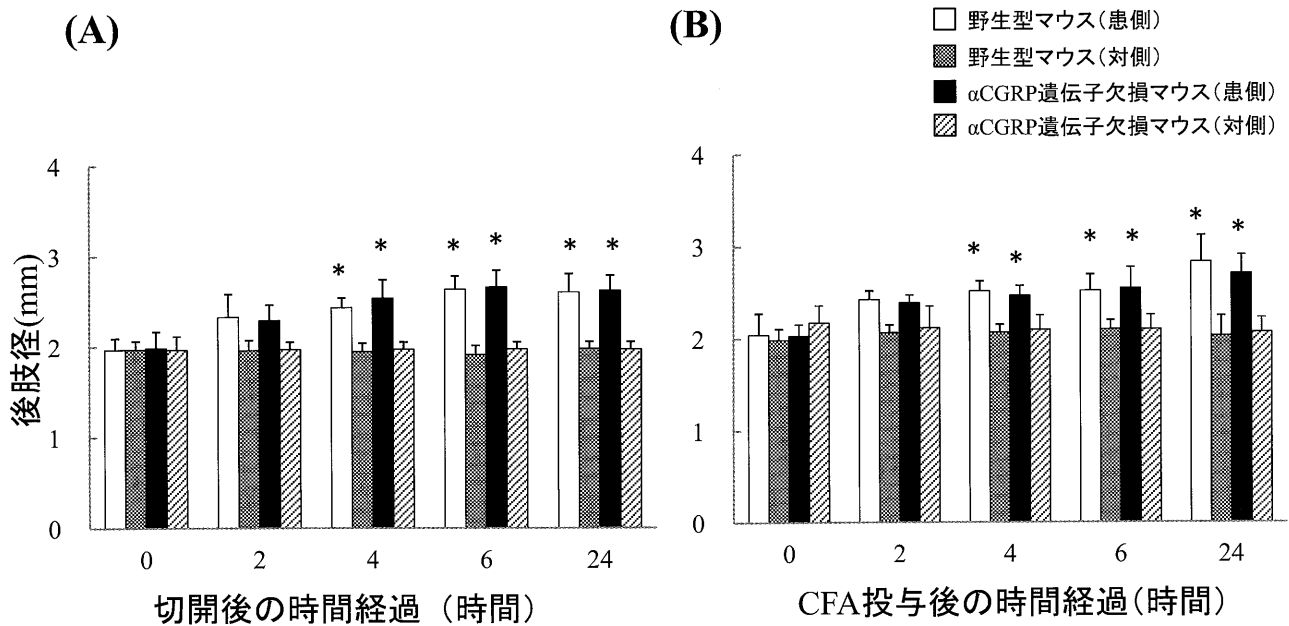


図1 後肢の浮腫に対する α CGRPの関与
術後痛モデル(A), 炎症性疼痛モデル(B)ともに, 後肢浮腫の経時変化は, α CGRP 遺伝子欠損マウスと野生型マウス間に差はなかった。
〔文献8〕より引用・改変

刺激を伝達する一次求心性神経の末梢側終末(自由終末)に存在する受容体が活性化される。侵害刺激は, 一次求心性神経を介して脊髄後根から脊髄に入力し, 神経終末より神経伝達物質である興奮性アミノ酸やペプチドを放出し, 脊髄の過剰興奮をきたし, 疼痛シグナルは高位中枢へと伝達される。侵害受容体の活性化に続き, 軸索反射により末梢組織へCGRPやSPなどが放出される。これらペプチドは, 肥満細胞の脱顆粒を誘導してヒスタミンを放出し, また, 血管内皮細胞や血管平滑筋の受容体に作用して血管拡張や浮腫, 血漿漏出を起こす²⁾。また, 組織の炎症や神経損傷は疼痛シグナルの活性化を遷延し, ケミカルメディエーターの放出や, 血管透過性の亢進, 炎症細胞の浸潤を引き起こす³⁾。

II 術後痛モデル, 炎症性疼痛モデルにおける α CGRPの関与

CGRPは α CGRPと β CGRPに分類されるが, 末梢の侵害受容線維に含まれるCGRPは α CGRPがほと

んどで, 痛みは α CGRPにより修飾されていると考えられている⁴⁾。そこで, 独自に作製された α CGRP遺伝子欠損(α CGRPKO)マウス⁵⁾と野生型マウス(129SVJ/B6系統)を用いて, 足底切開による術後痛モデル⁶⁾, complete freund's adjuvant(CFA)後肢皮下投与による炎症性疼痛モデル⁷⁾の2種類の疼痛モデルを作製して研究を行った。

患側の後肢径は, 術後痛, 炎症性疼痛モデルともに疼痛モデル作製4時間後より増加したが, α CGRPKOマウスと野生型マウス間に差はなかった(図1)⁸⁾。自発痛関連行動の指標であるGuarding pain scoreは, 術後痛モデルでは α CGRPKOマウスと野生型マウス間に差はなく, 炎症性疼痛モデルはCFA投与24時間, 48時間後に α CGRPKOマウスと野生型マウス間に差が見られた(図2)⁸⁾。侵害性熱刺激に対する逃避潜時は, 術後痛モデルでは α CGRPKOマウスと野生型マウス間に差はなく, 炎症性疼痛モデルでは24から72時間後に α CGRPKOマウスと野生型マウス間に差が見られた(図3)⁸⁾。侵害性機械

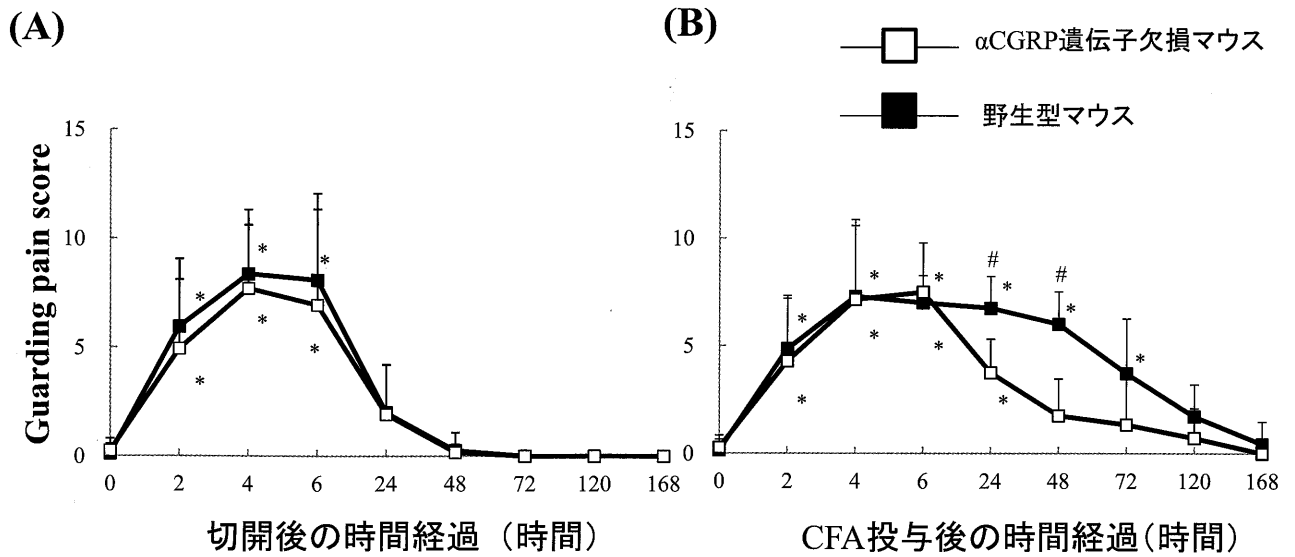


図2 自発痛におけるαCGRPの関与
術後痛モデル(A)は、αCGRP遺伝子欠損マウスと野生型マウス間に差はなく、炎症性疼痛モデル(B)は疼痛モデル作製24時間、48時間後に両マウス間に差が見られた。 [文献8]より引用・改変

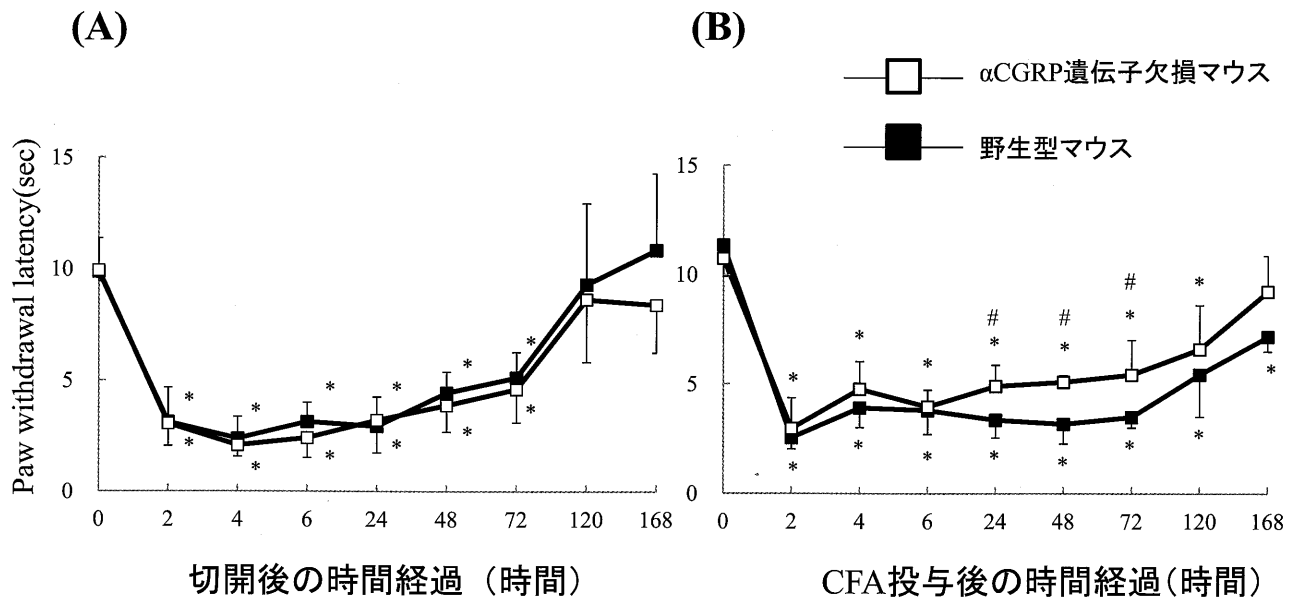


図3 熱性痛覚過敏におけるαCGRPの関与
術後痛モデル(A)はαCGRP遺伝子欠損マウスと野生型マウス間に差はなく、炎症性疼痛モデル(B)は24～72時間後に両マウス間に差が見られた。 [文献8]より引用・改変

刺激に対する逃避閾値は、術後痛モデル、炎症性疼痛モデルともにαCGRPKOマウスと野生型マウス間に差は見られなかった(図4)⁸⁾。免疫組織染色では、

野生型マウスの炎症性疼痛モデル作製24時間後に、健側と比較して患側の腰部脊髄(L4-5)後角におけるCGRP発現が有意に増加した。一方αCGRPKO

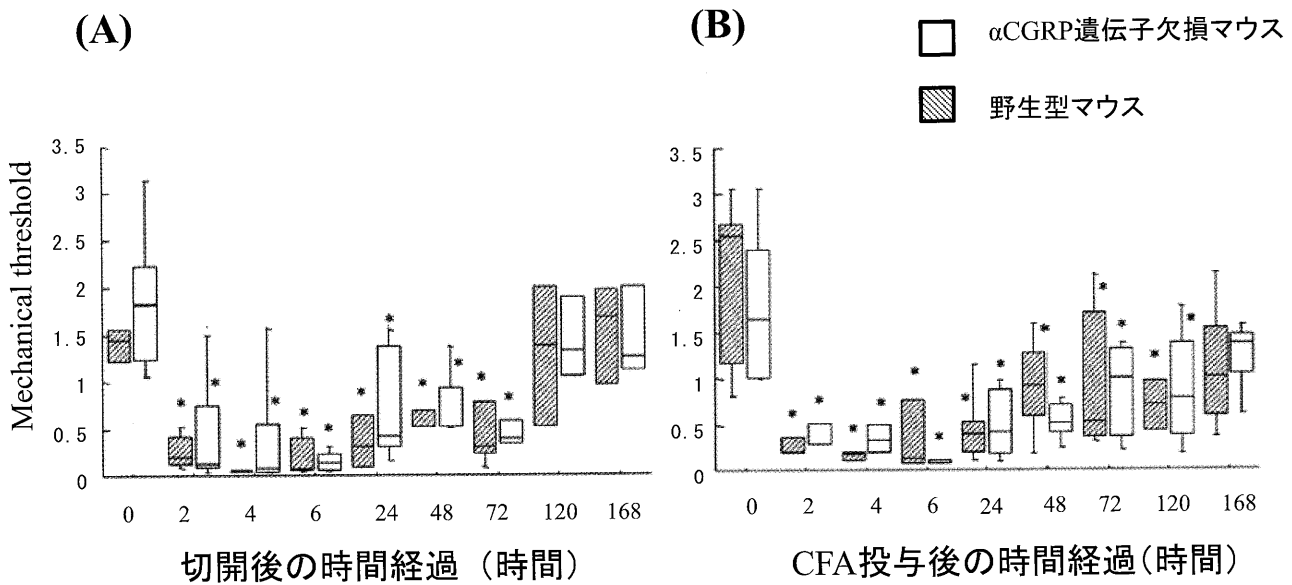


図4 機械性痛覚過敏における α CGRPの関与
術後痛モデル(A), 炎症性疼痛モデル(B)ともに α CGRP遺伝子欠損マウスと野生型マウス間に差は見られなかった。
〔文献8〕より引用・改変〕

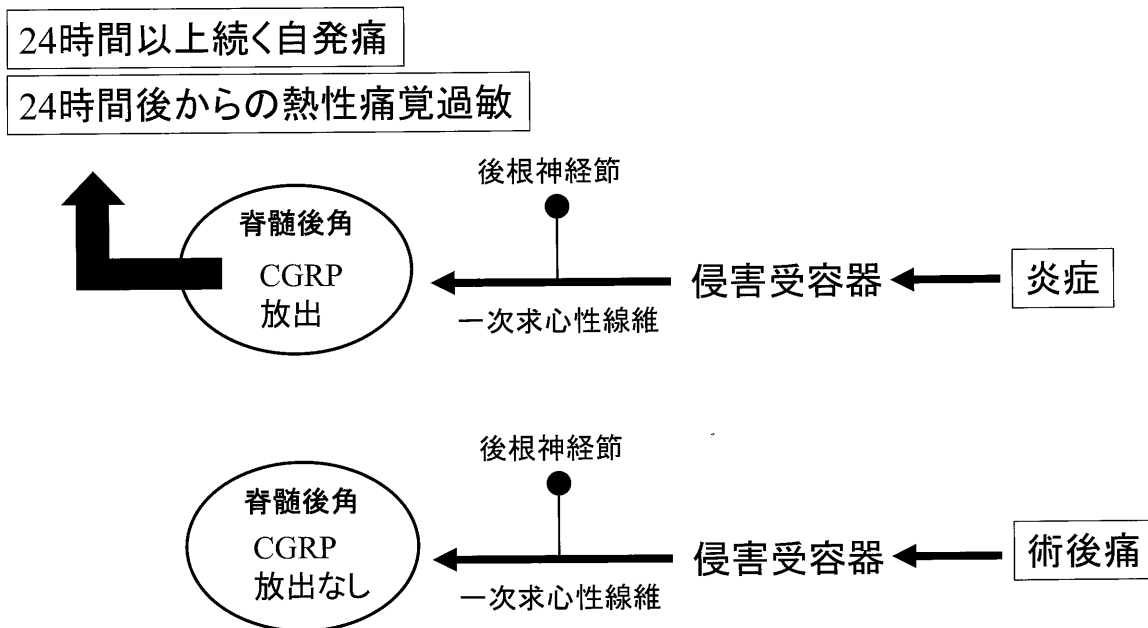


図5 脊髄における α CGRPの関与
炎症性疼痛モデルでは、痛みが24時間以上続く時、脊髄レベルでCGRPが放出され、24時間以上続く自発痛や、24時間後からの熱性痛覚過敏に関与する。一方、術後痛モデルは脊髄レベルでのCGRP放出を認めず、 α CGRPは自発痛、機械性、熱性痛覚過敏いずれにも関与しない。

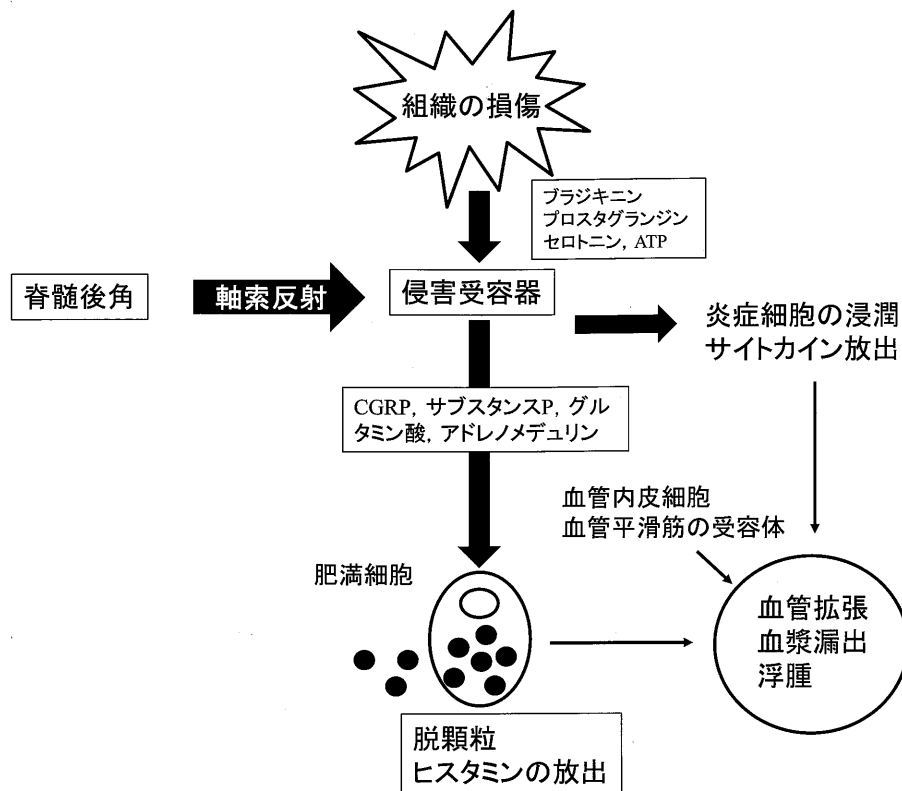


図6 末梢組織の変化におけるさまざまな神経伝達物質の関与

軸索反射で末梢に放出され、神経炎症に関与する分子はCGRPだけでなく、サブスタンスPやアドレノメデュリンなど多くのペプチドや一部、グルタミン酸なども関与している。

マウスは、無処置マウス、炎症性疼痛モデル作製24時間後ともに、CGRPの発現は測定感度以下であった⁸⁾。また、神経活動性の指標の一つであるc-Fosの脊髄後角での発現量は、野生型マウスの術後痛モデル、炎症性疼痛モデル作製4時間後では患側のc-Fos陽性細胞数が増加したが、24時間後は、野生型の炎症性疼痛モデルでのみ、患側のc-Fos陽性細胞数が増加していた⁸⁾。

α CGRPは、炎症性疼痛モデルにおいて痛みが24時間以上続く時に、脊髄レベルで放出され、24時間以上続く自発痛や、24時間後からの熱性痛覚過敏に関与する。一方、術後痛モデルにおいて、 α CGRPは、自発痛、機械性、熱性痛覚過敏いずれにも関与しない。すなわち、①CGRPは損傷を伴わない生理

的な痛みには関与しないこと、②自発痛が長時間持続するとCGRPが末梢の侵害受容神経から脊髄へと放出され痛みを増強すること、③CGRPの痛覚修飾は、熱性痛覚過敏にのみ関与し、機械性痛覚過敏には関与しないこと、が明らかとなった(図5)。

一方、末梢組織では、 α CGRPは、術後痛モデルと炎症性疼痛モデルにおいて浮腫への関与は小さい。これまでの研究により、ホルマリン投与後の末梢組織内では、グルタミン酸および一酸化窒素の放出が増加することが報告されており、軸索反射により感覚神経から末梢性にグルタミン酸が放出された結果、N-methyl-D-aspartate(NMDA)受容体を介して一酸化窒素が放出し、痛覚過敏とともに炎症が増強する^{9),10)}。また、CGRP遺伝子関連ペプチドファ

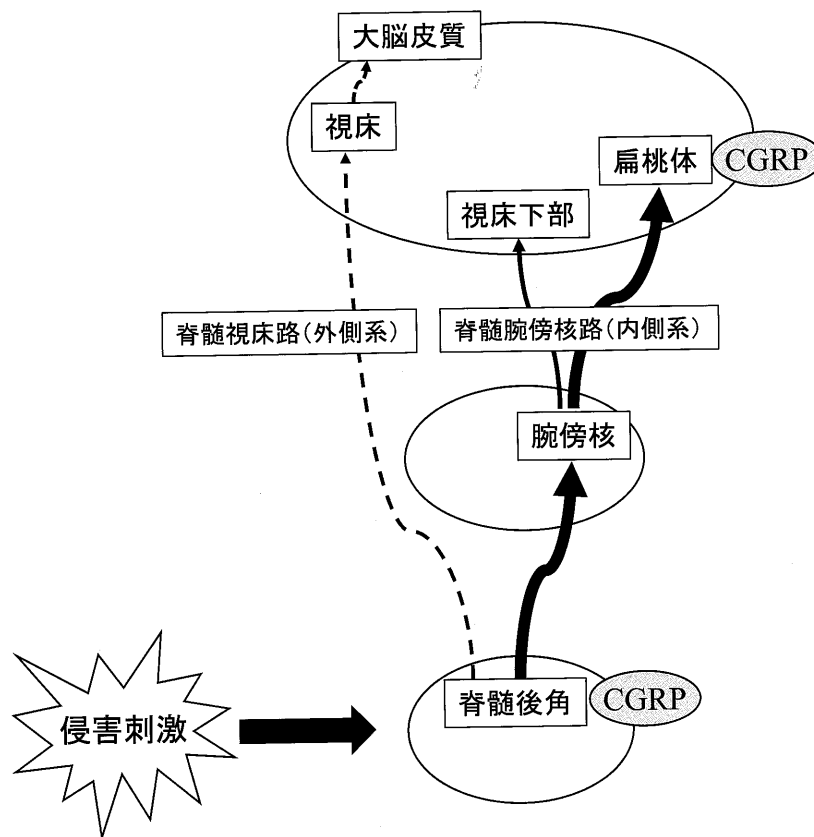


図7 扁桃体とCGRP

持続炎症痛による侵害刺激が連続して入力した結果、脊髄後角ニューロンの興奮性が増大するとともに、脊髄腕傍核路の扁桃体におけるニューロンが興奮し、脊髄、扁桃体両者におけるCGRP放出が増加する。

ミリーの一つであるアドレノメデュリン(adrenomedullin: AM)は、1993年に強力な血管拡張性の降圧作用を有する物質としてヒト褐色細胞腫より単離された¹¹⁾。CGRP同様、脊髄後根神経節をはじめ、末梢神経から中枢神経系に幅広く存在し、痛覚過敏形成や血管拡張、血管新生、抗炎症作用のほか、種々の臓器や組織において多彩な作用を発揮する¹²⁾。こうした軸索反射で末梢に放出され、神経炎症に関与する分子は、CGRPだけでなく、SPやAMなど多くのペプチドや一部グルタミン酸なども関与している可能性がある(図6)。

Ⅲ 情動的な痛みにおけるCGRPの関与

脊髄から中枢への痛み伝導路のうち、内側系である脊髄腕傍核路は痛みに対する不安、嫌悪、恐怖反応および自律神経反応に関与する¹³⁾。われわれと同様の α CGRP KOマウスを用いた電気生理学的検討では、ホルマリンの後肢皮下投与による炎症疼痛行動の持続により扁桃体でのシナプス伝達が増強することが報告されている¹⁴⁾。われわれの研究においても炎症性疼痛モデルでは、持続炎症痛により侵害刺激が連続して入力した結果、脊髄後角ニューロンの興奮性が増大するとともに、上行系のニューロンの興奮性も増大し、特に脊髄腕傍核路の扁桃体におけ

るニューロンの興奮により、脊髄、扁桃体両者における CGRP 放出が増加し、感覚的な痛みに加え、情動的な痛みの増強にも関与し、痛みが強まったと考えられる(図7)。

おわりに

近年、遺伝子改変技術としてゲノム編集技術が注目を浴び、CRISPR/Cas システムの開発により、迅速簡便に、複数の遺伝子を同時にノックアウトできるようになった¹⁵⁾。将来は、CGRP と SP を同時にノックアウトしたマウスを作製し、ペプチド全体の痛みへの関与について検討していきたい。

本稿は、日本臨床麻酔学会第36回大会(2016年、高知市)におけるシンポジウム(7)「神経炎症と組織炎症の観点から考える痛みのメカニズム」に、加筆したものです。本研究にご協力いただきました信州大学医学部麻酔蘇生学教室の田中聡先生、和歌山県立医科大学麻酔学教室の川股知之先生、慈恵医科大学総合医科学研究センター・神経科学研究部 加藤総夫先生、信州大学大学院医学系研究科循環病態学教室 新藤隆行先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) Yaksh TL, Hua XY, Kalcheva I, et al. : The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistent small afferent input. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 7680-7686, 1999
- 2) Brain SD, Grant AD : Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiol Rev* 84 : 903-934, 2004
- 3) Julius D, Basbaum AI : Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413 : 203-210, 2001
- 4) Mulderry PK, Ghatel MA, Spokes RA, et al. : Differential expression of alpha-CGRP and beta-CGRP by primary sensory neurons and enteric autonomic neurons of the rat. *Neuroscience* 25 : 195-205, 1988
- 5) Oh-hashii Y, Shindo T, Kurihara Y, et al. : Elevated sympathetic nervous activity in mice deficient in alphaCGRP. *Circ Res* 89 : 983-990, 2001
- 6) Banik RK, Woo YC, Park SS, et al. : Strain and sex influence on pain sensitivity after plantar incision in the mouse. *Anesthesiology* 105 : 1246-1253, 2006
- 7) Boettger MK, Uceyler N, Zelenka M, et al. : Differences in inflammatory pain in nNOS-, iNOS- and eNOS-deficient mice. *Eur J Pain* 11 : 810-818, 2007
- 8) Ishida K, Kawamata T, Tanaka S, et al. : Calcitonin gene-related peptide is involved in inflammatory pain but not in postoperative pain. *Anesthesiology* 121 : 1068-1079, 2014
- 9) Omote K, Kawamata T, Kawamata M, et al. : Activation of peripheral NMDA-nitric oxide cascade in formalin test. *Anesthesiology* 93 : 173-178, 2000
- 10) Omote K, Kawamata T, Kawamata M, et al. : Formalin-induced release of excitatory amino acids in the skin of the rat hindpaw. *Brain Res* 787 : 161-164, 1998
- 11) Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, et al. : Adrenomedullin : a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 192 : 553-560, 1993
- 12) Ma W, Chabot JG, Quirion R : A role for adrenomedullin as a pain-related peptide in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 : 16027-16032, 2006
- 13) Hunt SP, Mantyh PW : The molecular dynamics of pain control. *Nat Rev Neurosci* 2 : 83-91, 2001
- 14) Shinohara K, Watabe AM, Nagase M, et al. : Essential role of endogenous calcitonin gene-related peptide in pain-associated plasticity in the central amygdala. *Eur J Neurosci* 46 : 2149-2160, 2017
- 15) Wang H, Yang H, Shivalila CS, et al. : One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell* 153 : 910-918, 2013

Action of Calcitonin Gene-related Peptide and Mechanisms of Postoperative Pain Compared with Inflammatory Pain

Kumiko ISHIDA, Mikito KAWAMATA

Department of Anesthesiology and Resuscitology, Shinshu University School of Medicine

Nociceptive stimuli reach the brain from peripheral sites of surgical injury through the spinal cord. Optimization of postoperative pain treatment may not only lead to increased patient comfort but may also reduce complications, improve perioperative outcome, and prevent prolonged pain. The role of calcitonin gene-related peptide has recently been reported to be more important than the role of substance P in transmission and modification of pain, but the mechanisms by which these peptides transmit and modify nociceptive pain are not clear. In this paper, we discuss the mechanisms of postoperative pain compared with inflammatory pain in animal models.

Key Words : Calcitonin gene-related peptide, Spinal cord dorsal horn, Hyperalgesia, Nociceptive fibers

The Journal of Japan Society for Clinical Anesthesia Vol.38 No.3, 2018