

## 長期ギプス固定による後肢不動化モデルラットの脊髄後角におけるミクログリアの活性化

竹部陽菜<sup>1)</sup>、太田大樹<sup>1)</sup>、田口徹<sup>1)</sup>

1) 新潟医療福祉大学 理学療法学科

【背景・目的】近年、運動不足をとまなう生活習慣や骨折後のギプス固定など、長期間にわたる身体の不活動が痛みを生じるとされ、このような「不活動性疼痛」はリハビリテーションや介護領域で問題となっている。これまでに、後肢を4週間にわたりギプス固定したラットでは、機械痛覚過敏や熱痛覚過敏など、痛み刺激に対する逃避行動が増大し、これが不活動性疼痛の実験モデルとして有用であると報告されている<sup>1,2)</sup>。

この不活動性疼痛モデルの皮膚では、侵害受容器1本1本の機械または熱刺激応答に変化はないものの(研究室未発表データ)、痛覚受容を担うと考えられるTRPV1やP2X3、NGF陽性侵害受容線維の密度が皮膚において増加すると報告されており<sup>3)</sup>、これにより末梢からの侵害入力が増大することで痛覚行動を亢進させる可能性がある。一方、不活動性疼痛モデルの脊髄では、一次求心性神経の伝達物質であり、痛覚受容に重要な役割を担うと考えられるカルシトニン遺伝子関連ペプチドが、脊髄後角表層において増加するとの報告があるものの、痛みへの関与は不明である。近年、脊髄後角におけるミクログリアの活性化が、様々な慢性痛モデルの病態に関わることが実証されているが、上述の不活動性疼痛モデルにおける関与は不明である。

そこで本研究では、後肢ギプス固定による不活動性疼痛モデルラットを用い、脊髄後角ミクログリアの動態を免疫組織化学染色により可視化し、その細胞直径や数の定量化により、不活動性疼痛の脊髄機構の解明を試みた。

【方法】先行研究に準じ、SDラットの左後肢を4週間ギプス固定することで不活動性疼痛モデルを作製した<sup>1)</sup>。また、Iba-1の免疫組織化学染色により脊髄後角ミクログリアの動態を可視化し、その細胞直径および数を定量化した<sup>4)</sup>。なお、本研究は新潟医療福祉大学動物実験委員会の承認を受け、関連する利益相反はない。

【結果】不活動性疼痛モデルラット(IM)のL3腰髄後角(特に、I-II層)では、細胞体が肥大したミクログリアが観察された(図1A)。後角I-II層における細胞直径は対照群(CTR)と比較し、不活動性疼痛群(IM)で有意に大きかった(図1B)。また、後角I-II層における細胞数は対照群(CTR)と比較し、不活動性疼痛群(IM)で有意に多かった(図1C)。

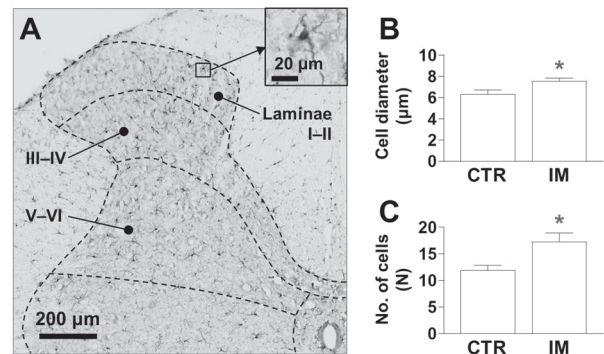


図1. 不活動性疼痛モデルラットにおける脊髄後角ミクログリアの活性化。(A) Iba-1の免疫組織化学染色によるミクログリアの可視化とその分布(ギプス固定側、左後肢)。(B) 後角表層(I-II層)におけるミクログリアの細胞直径。(C) 後角I-II層におけるミクログリアの数。CTR(対照群): n = 6、IM(不活動性疼痛モデル): n = 7。\*p < 0.05, Mann-Whitney U-test.

【考察・結論】不活動性疼痛モデルラットを用い、脊髄後角ミクログリア細胞を免疫組織化学染色により可視化し、その動態を細胞直径や発現数から定量化した。モデルラットのL3脊髄後角I-II層では直径が増大したミクログリアが観察され、その数が有意に増加していた。これらの変化は他の慢性痛モデルでも観察されるため、後角表層におけるミクログリアの活性化は不活動疼痛の脊髄機構に寄与すると考えられる。

【謝辞】本研究は、科研費基盤(B)(JP19H03987)、AMED-CREST(JP19gm0810010h0604)、新潟医療福祉大学研究奨励金Aの助成を受けて行った。

### 【文献】

- 1) Nakano J: Changes in hind paw epidermal thick-ness, peripheral nerve distribution and mechanical sensitivity after immobilization in rats. *Physiol Res*, 61: 643-647, 2012.
- 2) Hamaue Y: Immobilization-induced hypersensitivity associated with spinal cord sensitization during cast immobilization and after cast removal in rats. *J Physiol Sci*, 63: 401-408, 2013.
- 3) Sekino Y: Sensory hyperinnervation and increase in NGF, TRPV1 and P2X3 expression in the epidermis following cast immobilization in rats. *Eur J Pain*, 18: 639-648, 2014.
- 4) Taguchi T: Peripheral and spinal mechanisms of nociception in a rat reserpine-induced pain model. *Pain*, 156: 415-427, 2015.