

動物実験による疼痛解析

○安井正佐也

A) 医学系技術支援室 第1技術班

概要

動物を用いて行う行動学的疼痛試験は、ヒトに対して痛みをもたらすような種々の刺激を動物に与え、その反応（逃避行動）を指標として評価を行う。その刺激の種類としては機械刺激、熱や冷刺激、化学刺激がある。機械刺激法の代表例として von-Frey filament 試験、Randall Selitto 試験がある。前者は、非侵害刺激に対する痛み（アロディニア）の評価を目的に、決まった圧力を加えることができる太さの異なるフィラメントを測定部位にタッチし、逃避反応を起こす圧力を測定する。後者は、侵害刺激に対する痛み（痛覚過敏）の評価を目的に、測定部位に一定スピードで圧力を加えていき逃避反応を起こす圧力を測定する方法である。熱性刺激の代表的な評価法として Hot plate 試験がある。これは、マウスあるいはラットを 50°C から 55°C に保った銅製熱板上に乗せ、後肢足底をなめる行動や跳躍行動を指標にして反応発現までの時間で評価する方法である。その他、免疫組織化学的方法を用いて、痛みを引き起こすメディエーターや受容体の存在や痛みを伝える神経線維の分布を観察する評価法や電気生理学の実験によって神経線維の反応特性を測定する方法などがある。今回、それらの方法を紹介する。

1 行動学的実験方法

動物（ラット、マウス）に対して、様々な疾患モデルがありそのモデル動物に対して疼痛解析を行う。痛み刺激には機械刺激、熱・冷刺激、化学刺激があり、それらの刺激によって引き起こされる動物の行動を定量化することで痛みを測定する。代表的な試験方法として、機械刺激（侵害刺激）に対する逃避行動を指標に閾値を測定する von-Frey 試験（図1）および Randall Selitto 試験（図2）がある。前者は von-Frey hair という細くて柔らかい Filament から太くて硬い Filament まで段階的にあり、計測部位に細くて柔らかい Filament から順にタッチする。ラットが逃避行動を示した Filament サイズを反応閾値(g)として評価する。主に皮膚の非侵害刺激に対する痛み（アロディニア）の評価に用いられる。後者はいわゆる圧痛測定であり、測定部位に一定スピード/圧力で押した時のラットが逃避行動を示した値 (g) を測定する方法である。主に筋などの深部組織の痛覚過敏を評価する為に用いられる。熱刺激に対する逃避行動を測定する方法に Hotplate 試験（図3）がある。一定の温度（50°C から 55°C）に保たれたプレート上に覚醒動物を置き、疼痛関連行動（1）足をなめる、（2）立ち上がる、（3）ジャンプするまでの潜時を測定する方法で、熱性痛覚過敏を評価する。

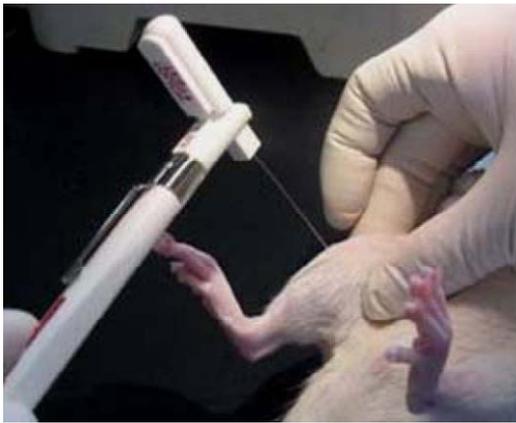


図1 von-Frey 試験



図2 Randall Selitto 試験

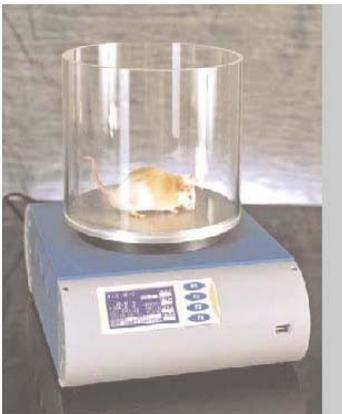


図3 Hotplate 試験

2 免疫組織学的方法

痛み刺激（侵害刺激）は末梢神経終末（一次求心性神経）の侵害受容器で受容され、中枢に伝えられる。侵害受容器には様々な刺激に応答する受容体が同定されており、それらの受容体や侵害受容線維に存在する神経伝達物質などを免疫組織化学的に標識することで痛覚受容器の存在を証明する。また、近年は一次求心性神経線維の脊髄内投射領域におけるマイクログリアの活性化が痛覚亢進に関与している事が明らかとなっている。そのため、脊髄後角でのマイクログリアの活性化を免疫組織化学的に標識することで、中枢性痛覚過敏の関与を指摘する報告が多く見られる。

3 電気生理学的実験

生体内で知覚神経を単離し単一神経の電気的な活動記録をする単一神経記録法は、受容野に対し様々な刺激を加えた際の活動電位の変化を計測できる。それによって神経の反応特性を調べることが可能であり、神経のタイプを同定することができ、またそれぞれのタイプの単一神経が応答する受容野のサイズや侵害刺激（機械刺激・化学刺激・熱刺激）に対する変化を記録することで、痛みを電気生理学的に解析する手法が用いられている。

3 まとめ

実験動物を用いて行う代表的な疼痛解析方法を紹介した。いずれの方法においても一朝一夕に行える方法ではなく、より深い知識と経験が必要となる。特に行動学的実験については動物の日内変動を理

解し、測定環境も出来る限り一定に保つ必要がある。また、実験動物に対して十分にハンドリングを行い、動物を慣れさせる事が大切である。