



Title	歯髓オピオイドペプチドに関する薬理学的ならびに生化学的研究
Author(s)	張, 恵玲
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36570">https://hdl.handle.net/11094/36570</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	張	恵	玲
学位の種類	医	学	博
学位記番号	第	8412	号
学位授与の日付	昭和63年12月26日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	歯髄オピオイドペプチドに関する薬理学的ならびに生化学的研究		
論文審査委員	(主査) 教授 吉田 博		
	(副査) 教授 塩谷弥兵衛 教授 和田 博		

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

歯髄のオピオイドペプチドの侵害刺激時における挙動を薬理生化学的に、また免疫組織化学的に検討し、その生理的意義を追求することを目的とした。

#### 〔方法ならびに成績〕

1. 薬理学的実験：実験動物としてはSD系雄性ラット(体重200-300g)を用いた。動物をurethaneにて麻酔し、下頸両側切歯歯頸部に侵害刺激として窩洞を形成した。形成1時間後、下頸を剥除し、歯髄を摘出した。秤量後、0.1N塩酸中にてhomogenizeし、60,000×gにて20分遠沈してその上清をlyophilizeした。この粗抽出物をmet-enkephalin(ME)抗血清を用いる2抗体法によりradioimmunoassay(RIA)した。対照群は窩洞を形成することなく、麻酔後1時間で歯髄を摘出し、同様に処理した。また、歯髄を電気刺激するときは、形成された窩洞を介して電極を歯髄内に挿入し、1時間後、10Hz, 5msec, 5Vの矩形波にて10分間刺激し、直ちに歯髄を摘出した。実験によっては一側の下歯槽神経を下頸孔の部位で切断し、1週間後、対照側および切断側の歯髄を摘出し、同様に処理した。使用した薬物はcycloheximide(CHX) camostat mesilate(FOY-305), captopril, indomethacin, dexamethasone, morphine, naloxone, ethylketocyclazocine(EKC), Win 44, 441-3, NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, substance P(SP), [D-Pro<sup>2</sup>, D-Trp<sup>7,9</sup>]-SP, bradykinin(BK)およびDes-Arg<sup>9</sup>-[Leu<sup>8</sup>]-BKであった。これらの薬物の中、前9者は形成された窩洞を介してマイクロシリングを用いて、容量2μlで歯髄腔内に局所性に投与した。

2. 生化学的実験：無傷の歯髄を20mMのHClを含む1Mのacetic acidを用いてhomogenizeし遠沈

して、その上清を lyophilize した。この粗抽出物を 20mM, pH8.5 の Tris-HCl buffer に溶解し、T P C K-treated trypsin 50  $\mu$  g を加え、37°C, 2 時間 incubate した。反応の停止は 90°C, 20 分加熱することによった。また、carboxypeptidase B で処理する場合は、サンプルを pH7.4 に調整し、D F P-treated carboxypeptidase B 2.5  $\mu$  g を加えて、37°C で 2 時間 incubate し 90°C, 20 分加熱して反応を停止した。これらの酵素処理後、サンプル中の ME 含量を R I A した。

3. 免疫組織化学的実験：動物を urethane 麻酔下、Zamboni 液にて灌流固定し、通法に従い歯髄の paraffin 切片を作成した。脱 paraffin 後、切片を trypsin 処理し次いで通法に従い間接蛍光抗体法により M E 抗血清を用いて免疫組織化学的検索をおこなった。

1. 薬理学的実験：①歯髄 M E 含量は窩洞形成直後より増大し始め、1 時間後には有意な増大を示した。電気刺激群は control 群に比較して有意な M E 含量の増大を示したが、電気刺激しない窩洞形成のみの群と比較して有意の差は認められなかった。従って、窩洞形成が有効な侵害刺激と考えられたので、窩洞形成 1 時間後の歯髄 M E 含量の増大を指標として、各薬物の効果を検討した。②C H X は窩洞形成群および窩洞無形成群のいずれの歯髄 M E 含量に対してなんら影響を与えたかった。③F O Y-305 は窩洞無形成群に対しては影響を与えたかったが、窩洞形成群の M E 含量の増大を著明に抑制した。④Captopril は窩洞形成群および窩洞無形成群のいずれの歯髄 M E 含量をも増大した。⑤S P および S P-antagonist はいずれも窩洞形成による歯髄 M E 含量の増大に対してなんら影響を与えたかった。⑥B K は単独では影響は認められなかったが、B K-antagonist は単独で歯髄 M E 含量の増大を著明に抑制し、さらにその効果は B K との併用により逆転した。⑦indomethacin および dexamethasone はいずれも窩洞形成による M E 含量の増大に対して有意な影響を与えたかった。⑧morphine および E K C はいずれも歯髄 M E 含量の増大を著明に抑制し、それらの効果はそれぞれの antagonist である naloxone および Win 44, 441-3 を併用することによって、有意に逆転した。⑨下歯槽神経切断は歯髄 M E 含量に対してなんら影響をあたえなかった。

2. 生化学的実験：①無傷歯髄の酸抽出物の trypsin 消化により M E 含量は著明に増大した。②この trypsin 消化に引き続いて carboxypeptidase B での消化は歯髄 M E 含量をさらに著明に増大させなかった。

3. 免疫組織化学的実験：歯髄切片を trypsin 処理後、M E 抗血清を用いて間接蛍光抗体法を施すと、歯髄細胞の M E 免疫反応性が著明に増大することが認められた。この反応性は歯髄細胞中に顆粒状に観察された。

#### 〔総括〕

ラット切歯歯髄にはその組織細胞内にオピオイドペプチドおよびその前駆体タンパクが存在し、歯髄が侵害刺激を受けたとき、発痛物質 B K がまず遊離され、この B K は trypsin 様酵素を活性化して前駆体タンパクを限定分解し内因性鎮痛物質 M E を産生する。産生された M E は逆に negative feedback mechanism により B K のさらなる産生遊離を抑制して、内因性疼痛制御系としての役割を演じているものと考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、ラット切歯歯髄に含まれるオピオイドペプチド含量の侵害刺激に伴う増大の機序を薬理学的ならびに生化学的方法により詳細に検討したものである。

本研究は、歯髄オピオイドペプチド含量の増大は、侵害刺激に伴って歯髄において産生・遊離される発痛物質ラジキニンが、オピオイドペプチド産生酵素を活性化することによって惹起され、活性化されたオピオイドペプチド産生酵素が、歯髄細胞中に存在するオピオイドペプチド前駆体タンパクを限定分解して、メチオニンケファリンなどのオピオイドペプチドを産生することを示唆した。

この研究成果は、生体における侵害受容反応防御の点で重要な知見を示しており、医学博士の学位を授与するに相当するものと判定した。