

Title	口腔領域へのホルマリン注射が誘導する疼痛刺激に反応して発現する延髄後角のc-Fosに対する大脳皮質体性感覚領の電気刺激の影響
Author(s)	五條, 房己
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43668
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	五 條 房 己
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 16916 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学基礎系専攻
学位論文名	口腔領域へのホルマリン注射が誘導する疼痛刺激に反応して発現する延髄後角の c-Fos に対する大脳皮質体性感覚領の電気刺激の影響
論文審査委員	(主査) 教授 重永 凱男 (副査) 教授 上崎 善規 助教授 古郷 幹彦 講師 増田 裕次

論文内容の要旨

【目的】

動物の脊髄及び脳幹ニューロン活動に対する大脳皮質下行路の制御に関する研究の試みは Hernández-Peón and Hagbarth (1955) 及び Hagbarth and Kerr (1954) により初めてなされた。臨床的には頑痛に悩む患者の皮質刺激が疼痛緩和に有効であることが報告されている (Ebel et al. 1966)。しかし疼痛制御の大脳皮質の関わりについての神経機構は不明である。

皮下へのホルマリン注入、その注入部位に炎症反応を引き起こすことから亜急性の疼痛モデルとして用いられ、即時型遺伝子の産生蛋白である c-Fos 発現も上昇させる。その発現は尾側亜核 (Vc) においては、侵害受容線維が終止するとされる浅層 (Vc I/II) に主に誘導され、低閾値機械受容線維が終止するとされる大細胞部 (Vc III/IV) にはあまり誘導されない。また、過去の研究から、c-Fos が疼痛経路を研究するための神経活動のマーカーとして有用であることが確認されている (Hunt et al. 1987; Tolle et al. 1990; Gogas et al. 1991; Noguchi 1992; Walther et al. 1993)。

現在までのところ、大脳皮質刺激が脳幹の侵害刺激応答ニューロンの活動を制御するという証拠は無い。そこで本研究では、大脳皮質の第一次 (SI) 又は第三次 (SII) 体性感覚領の電気刺激が、ホルマリン誘導侵害刺激に反応する Vc ニューロンの c-Fos 蛋白発現にどのような効果を及ぼすかについて検討した。

さらに WGA-HRP の順行性輸送を利用して大脳皮質から三叉神経感覚核への直接投射についても検討を行った。

【方法】

実験には雄性 S-D 系ラット (体重250~300g) を52匹用いた。ウレタン麻醉下で (1.3gr/kg, i.p.) 左側の SI 及び SII を頭蓋骨を除去して露出した。100 μ l の 5%ホルマリンを左右の下口唇の皮下に注入した直後又は2時間後から左側の大脳皮質の SI 又は SII の口腔支配領域 (shigenaga et al. 1974) を、銀ボール (単極) 電極を硬膜上に直接置いて電気刺激した。

単一矩形波刺激 (持続0.2ms、10Hz) を60分間、強度0、0.1、0.5又は1.0mA で通電した。「シャムオベ群」として (8匹) 下口唇に生食水をホルマリンの代わりに注入した。4匹には SI の皮質刺激を1.0mA で行い、残りの4匹には SI の硬膜上に電極を置くのみで、電気刺激を行わなかった。

神経路の探索実験では、同麻酔下で、SI及びSIIを含む大脳皮質のV層をねらい、5%WGA-HRPを2 μ l注入した。2日間生存させた後、下記と同様に灌流固定、切片作製を施し、適法のTMB法により神経終末を可視化した。

免疫組織化学法については、大脳皮質刺激後に動物をペントバルビタールで深麻酔し、100mlの生食水に続き4%パラホルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液(PB;pH7.4)500mlの固定液を心臓から灌流した。脳幹を摘出し、同固定液にて一昼夜後固定(4 $^{\circ}$ C)した後、20%ショ糖を含む0.1MPBに移した。厚さ6 μ mの連続凍結切片を作製し、0.1M PBに回収した。切片は0.1M PBで20分間洗浄し、1%正常ヤギ血清で20分間ブロッキングを行った。その後ヒトのc-Fos p62のアミノ基断端のアミノの酸3-16番に相当するペプチドに対するc-Fos抗体p62(1:7,000)で12時間インキュベーションを行った。過酸化酵素活性を可視化するため、切片を0.05%DAB及び0.01%過酸化水素を含む0.05M トリス-塩酸緩衝液(pH7.2)に浸漬した。切片を0.1M PB及び蒸留水で洗浄した後、ゼラチン被覆スライドにマウント、風乾、カバーガラスをかけパーマウントで封入した。

【結果】

ホルマリン注入2時間後より1時間のSI刺激では、Vc I/IIの侵害刺激誘導c-Fos陽性ニューロンは両側とも減少傾向にあったが、有意差は認められなかった。

SI刺激とは異なり、SII刺激は反対側Vc I/IIのc-Fos陽性ニューロン数を有意に減少させた(対照群:左側235.7 \pm 12.2、右側240.3 \pm 15.6;0.1mA刺激群:左側225.5 \pm 24.5、右側194.4 \pm 24.2;0.5mA刺激群:左側168.0 \pm 17.5、右側125.3 \pm 6.4**;1.0mA刺激群:左側195.8 \pm 7.8、右側142.3 \pm 15.4*: * P <0.05、** P <0.01、Mann-Whitney、U-test)。しかし、Vc III/IVのc-Fos陽性ニューロン数には変化がみられなかった(対照群:左側18.8 \pm 1.7、右側18.9 \pm 1.9;0.1mA刺激群:左側16.3 \pm 5.8、右側22.0 \pm 6.7;0.5mA刺激群:左側28.8 \pm 3.6、右側33.8 \pm 1.8**;1.0mA刺激群:左側51.0 \pm 7.9、右側61.3 \pm 13.0*)。

ホルマリン注入直後から1時間に及ぶSII刺激では、反対側のVc I/IIにおいてc-Fos陽性ニューロン数を有意に減少させた(対照群:左側212.4 \pm 8.6、右側203.6 \pm 12.4;1.0mA刺激:左側211.6 \pm 6.3、右側137.7 \pm 8.0**)。

また、大脳皮質からの直接投射は、三叉神経感覚核の吻尾方向全体に亘る背内側部で口腔領域を支配する一次求心線維が終止する部位に認められた。

【結論】

本研究は、第二次体性感覚野の電気刺激が延髄後角から上行する侵害性情報を抑制することを明らかにした。この抑制には、皮質延髄路の関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、第1次(SI)、又は第2次(SII)体性感覚領を電気刺激して、ホルマリン誘導疼痛刺激に反応する延髄後角(Vc;三叉神経尾側亜核)のc-Fos蛋白発現に対する修飾の効果を検討したものである。さらにWGA-HRPの順行性輸送を利用して大脳皮質から三叉神経核への直接投射を確認した。

SIIの硬膜上電気刺激は口腔領域の難治性疼痛患者に対する有効な治療となる可能性を持つことを、形態学的手法により示し、疼痛感覚の中樞制御機構の解明に重要な知見をあたえるものである。本研究者は、博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認める。