



Title	延髄後角のサブスタンスP受容体発現ニューロンの削除が三叉神経感覚核群のc-Fos発現制御に及ぼす影響
Author(s)	阿部, 徹也
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45567">https://hdl.handle.net/11094/45567</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	阿 部 徹 也
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 0 0 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 9 月 21 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	延髄後角のサブスタンス P 受容体発現ニューロンの削除が三叉神経感覚核群の c-Fos 発現制御に及ぼす影響
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 田 篤  (副査) 教 授 脇 坂 聡 助 教 授 松 本 憲 講 師 小 林 真 之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [研究目的]

延髄後角 (Vc) 第 I 層の投射ニューロンの 80% はサブスタンス P 受容体 (NK-1) を持ち、疼痛発現制御に重要な働きをするが、その詳細については不明である。この NK-1 発現ニューロンがいかに関与するかは、サブスタンス P-サポリン (SP-Sap) を小脳延髄槽 (大槽) に投与して選択的に NK-1 発現ニューロンを削除したラットを用いて調べることができる。NK-1 発現ニューロンの削除が、三叉神経節の電気刺激後に誘導される刺激強度依存の制御および GABA<sub>A</sub> 受容体アンタゴニストであるビククリンの全身投与によるシナプス性制御にいかに関与するかを三叉神経感覚核群の c-Fos 発現を指標に調べた。

#### [研究方法]

SD 系雄性成ラット (体重約 200 g ; ケアリー) を 48 匹用いた。

#### NK-1 発現ニューロン削除動物の作製方法 :

Na-ペントバルビタール麻酔下 (50 mg/kg, i.p.) で、動物を脳定位固定装置に固定後、後環椎後頭膜を露出して小さな穴を開け、5  $\mu$ l、5  $\mu$ M、の SP-Sap (16 匹)、コントロールとして生理食塩水 (Sal ; 16 匹) 又はブランク・サポリン (Bl-Sap ; 16 匹) をマイクロシリンジで注入した。注入後創面を閉じ、麻酔から回復させ、術後 2 ~ 4 週間経過したものを実験に使用した。

#### 動物の電気刺激法 :

ウレタン麻酔下 (1.3 g/kg, i.p.) で動物を脳定位固定装置に固定後、頭蓋骨に開けた穴から双極の刺激電極を三叉神経節に刺入した。腹腔内に Sal (1 ml/kg) 又はビククリン Sal 溶液 (2 mg/ml/kg) を投与して 10 分後から 10 分間 0.1 mA 又は 1.0 mA (5 Hz, 5 ms) で三叉神経節を電極を通して刺激した。刺激 2 時間後に灌流固定を行い、橋・延髄領域の連続横断凍結切片を作成し、免疫組織化学法により c-Fos 及び NK-1 を DAB 染色した。Vc は吻側の切片 5 枚を、それ以外は各亜核すべての c-Fos 陽性細胞を数えた。NK-1 陽性細胞は Vc で標識されているものを数えた。有意差検定は、Fisher's PLSD を用い  $P < 0.05$  を有意とした。

## [研究結果]

### NK-1 陽性細胞 :

Sal 及び Bl-Sap 処置例では、NK-1 陽性細胞は Vc の第 I 層に大半が (平均個数/切片±標準誤差 ; Sal, 12.1±1.0 ; Bl-Sap, 13.5±0.6) 、第 III 層の表層には少数 (Sal, 3.2±1.0 ; Bl-Sap, 3.6±0.7) が分布していた。Sal 及び Bl-Sap 処置例間で NK-1 陽性ニューロン数には有意差は見られなかった。SP-Sap 処置例では、第 I 層及び第 III 層の陽性ニューロン数は有意に減少していた (第 I 層 1.3±0.4,  $P<0.01$ , 第 III 層 0.25±0.2,  $P<0.05$ ) 。

### c-Fos 陽性細胞 :

Sal 及び Bl-Sap 処置例の三叉神経節を電気刺激した後の c-Fos 陽性細胞は、強度依存的に大半を Vc 浅層部 (VcI/II 層) の背内側-腹外側軸に沿った全域に認め (Sal, 0.1 mA, 167.6±16.9, 1.0 mA, 370.5±29.9 ; Bl-Sap, 0.1 mA, 160.0±19.6, 1.0 mA, 397.5±57.7) 、次に大細胞部に (Sal, VcIII/IV ; 0.1 mA, 32.4±3.6, 1.0 mA, 91.5±14.7 ; Bl-Sap, 0.1 mA, 20.8±4.1, 1.0 mA, 85.6±10.8) 、少数を Vc より吻側の核である主感覚核 (Vp) 、吻側亜核 (Vo) 、中位亜核 (Vi) の背内側部に認めた。SP-Sap 処置ラットでは、Sal 及び Bl-Sap 処置に比べ高強度刺激 (1.0 mA) 誘導 c-Fos 陽性細胞数は VcI/II 層で減少していた (235.0±18.5,  $P<0.01$ ) が、低強度刺激 (0.1 mA) 誘導 c-Fos 陽性細胞数は変化していなかった (160.0±12.2) 。Sal 及び Bl-Sap 処置動物にピククリンを前投与して刺激した例では、Sal を前投与したものに比べ、低強度刺激誘導 c-Fos 陽性細胞数は VcI/II 層 (Sal, 264.4±13.2,  $P<0.01$  ; Bl-Sap, 225.9±5.9,  $P<0.01$ ) 及び VcIII/IV 層 (Sal, 56.1±4.1,  $P<0.01$  ; Bl-Sap, 53.1±3.4,  $P<0.01$ ) で有意に増大していたが、高強度刺激誘導 c-Fos 陽性細胞数は有意に減少していた (Sal, 235.8±41.8,  $P<0.01$ ) 。SP-Sap 処置ラットのピククリンの前投与例では、低強度刺激誘導 c-Fos 陽性細胞数は VcI/II 層でやはり有意に増大していた (225.9±5.5,  $P<0.05$ ) が、高強度刺激誘導 c-Fos 発現も VcI/II 層で Sal 及び Bl-Sap 処置ラットと異なり増大していた (380.6±33.6,  $P<0.05$ ) 。

## [結論]

1. SP-Sap を大槽に投与することで、Vc の第 I 層及び第 III 層の NK-1 陽性細胞を削除できた。
2. Vc の NK-1 発現ニューロンの削除は、高強度刺激誘導の VcI/II 層の c-Fos 発現ニューロンを減少させたが低強度刺激誘導のものは変化させなかった。
3. SP-Sap 処置をしていない動物ではピククリンの全身投与は高強度刺激及び低強度刺激誘導の VcI/II 層の c-Fos 発現をそれぞれ減少及び増加させたが、Vc の NK-1 発現ニューロンの削除はいずれの c-Fos 発現も増加させた。
4. Vc の NK-1 発現ニューロンは上行性・下行性疼痛制御機構のカスケード回路の一部であり、GABA<sub>A</sub> 受容体を介した刺激強度依存の感覚制御に重要な役割を演じると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、サブスタンス P 受容体発現ニューロンの三叉神経感覚核群での感覚受容機構における役割を明らかにすることを目的にした。延髄後角の第 I 層及び第 II 層のサブスタンス P 受容体発現ニューロンを選択的に削除した動物では、刺激強度依存性に、三叉神経感覚核内の c-Fos 発現の GABA<sub>A</sub> 受容体を介した制御が変化することを示した。以上により、延髄後角のサブスタンス P 受容体発現ニューロンは頭頸部の感覚発現制御に重要な役割を演じることが明らかになった。

よって本研究は、博士 (歯学) の学位を得る資格があるものと認める。