The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Activation of p38 MAPK in primary afferent neurons by noxious stimulation and its involvement in the development of thermal hyperalgesia
Author(s)	水島, 敏行
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46382
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名　水島敏行（みずしま　としゆき）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　20127　号

学位授与年月日　平成18年3月24日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科生体統合医学専攻

学位論文名　Activation of p38 MAPK in primary afferent neurons by noxious stimulation and its involvement in the development of thermal hyperalgesia
（侵害刺激後の一次知覚ニューロンにおけるp38 MAPKの活性化と熱性痛覚過敏への関与）

論文審査委員　（主査）
教　授　眞下　節

（副査）
教　授　佐古田三郎　　教　授　武田　雅俊

論文内容の要旨

【目的】細胞内情報伝達系 MAP kinase は細胞外の刺激を細胞内へ伝えるうえで重要な役割を果たすとされている。最近、我々は末梢への痺痛刺激により、一次知覚ニューロンの細胞体が存在する後根神経節（DRG）において、MAP kinase の一つである ERK（extracellular signal-regulated kinase）のリン酸化が、非常に早い時間経過で、刺激の種類特異的に生じることを発見した。さらにこの実験の中で ERK のリン酸化反応を用いて、熱刺激受容体である TRPV1 の作用を明確に証明することが出来た。一方、MAP kinase は ERK の他に p38、JNK（c-Jun N-terminal kinase）、ERK5 が存在する。そのなかでも p38 MAP kinase は炎症やアポトーシスなど細胞のストレス時に活性化されることが知られている。本研究では侵害刺激後の p38 の活性化を DRG ニューロンにおいて検討し、さらに p38 活性化と急性痛との関連についても調べた。

【方法ならびに成績】雄性 S-D ラットの足底にカプサイシン（10 mM、200 μl）を投与して2、5、10、30分後に灌流固定を行った。L4 と L5 の DRG を摘出後、p38 活性化の指標であるリン酸化 p38（p-p38）抗体を用いた免疫組織化学法を施行した。ナイーブの DRG での p-p38 陽性細胞の割合は 14.9±1.0%であった。カプサイシン投与後2分より p-p38 陽性 DRG 細胞の増加を小型細胞中心に認め、カプサイシン刺激後の p-p38 陽性細胞の割合は 31.7±2.4%（2分）、17.7±1.5%（10分）であった。しかし、カプサイシン投与後30分には正常レベルにまで減少した。次に、ラット足底に熱刺激（38、42、46、50、54℃）を加えて2分後に DRG を摘出し、同様に免疫組織化学法に供した。足底への熱刺激によって p38 は温度依存的に活性化し、熱刺激後の p-p38 陽性細胞の割合は 17.8±1.5%（42℃）、27.3±1.8%（54℃）であった。また熱刺激による p38 活性化は、主に熱刺激受容体 TRPV1 を含有している DRG ニューロンで生じていることを二重染色にて確認した（TRPV1/p-p38＝62.3±5.5%）。さらに熱刺激後に増加する p-p38 と p-ERK は高い共存率を示した（p-p38/p-ERK＝～87%）。最後に、行動学的実験としてカプサイシン刺激前と刺激後2、5、10、30、60分に thermal hyperalgesia と mechanical allodynia を測定した。p38 活性化阻害剤である FR167653（10 μg）をカプサイシン投与30分前に髄腔内投与すると、カプサイシン刺激による thermal hyperalgesia の出現、及び p-p38 陽性 DRG 細胞の増加が抑制された。しかし、FR167653 はカプサイシン刺激による mechanical

allodyniaの出現を抑制しなかった。

【総括】本研究において、p38 MAP kinaseはERKと同様、痛み刺激後1～2分という非常に早い時間経過で活性化することが分かった。しかもこのp38のリン酸化は刺激強度依存的に、TRPV1を含有しているDRGニューロンにおいて増加していた。従来の痛み分野の研究では、主に電気生理学的手法を用いて、薬剤や受容体の効果を調べてきた。つまり一つ一つのニューロンの作用を見て全体を推測していたのであるが、本研究でみられたようなERKやp38のリン酸化反応では、痛み刺激後1～2分という非常に早い時間経過で変化するニューロンの活動性を形態学的に捉えることが可能であること、つまりDRG全体の反応を一度に見ることが出来るわけである。これは実際の疼痛行動など、神経系全体の反応の総和として現れる臨床症状とより密接な関連性を持つ可能性が高いと思われる。実際に、p38活性化阻害剤であるFR167653はカプサイシン刺激による熱性痛覚過敏の出現を抑制した。ERKに比べるとp38の疼痛伝達における役割は不明な点が多いが、p38はERKと同様、侵害刺激後のDRGニューロン活性化の指標と成り得ること、さらにはDRGニューロンにおけるp38の活性化は急性痛の発生に関与する可能性があることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究において、p38 MAP kinaseはERKと同様、痛み刺激後1～2分という非常に早い時間経過で活性化することが分かった。しかもこのp38のリン酸化は刺激強度依存的に、TRPV1を含有しているDRGニューロンにおいて増加していた。従来の痛み分野の研究では、主に電気生理学的手法を用いて、薬剤や受容体の効果を調べてきた。つまり一つ一つのニューロンの作用を見て全体を推測していたのであるが、本研究でみられたようなERKやp38のリン酸化反応では、痛み刺激後1～2分という非常に早い時間経過で変化するニューロンの活動性を形態学的に捉えることが可能であること、つまりDRG全体の反応を一度に見ることが出来るわけである。これは実際の疼痛行動など、神経系全体の反応の総和として現れる臨床症状とより密接な関連性を持つ可能性が高いと思われる。実際に、p38活性化阻害剤であるFR167653はカプサイシン刺激による熱性痛覚過敏の出現を抑制した。ERKに比べるとp38の疼痛伝達における役割は不明な点が多いが、p38はERKと同様、侵害刺激後のDRGニューロン活性化の指標と成り得ること、さらにはDRGニューロンにおけるp38の活性化は急性痛の発生に関与する可能性があることを発見した本研究は学位の授与に値すると考えられる。