



Title	ラット三叉神経脊髄路核でのグルタミン酸遊離機構たんぱく質の修飾とニューロパシクペイン発症・維持の関わりについて
Author(s)	藤田, 豊大
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46387
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 >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	藤 田 豊 大
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 20220 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 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	ラット三叉神経脊髄路核でのグルタミン酸遊離機構たんぱく質の修飾と ニューロパシックペイン発症・維持の関わりについて
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 矢谷 博文 (副査) 教 授 上崎 善規 助教授 竹村 元秀 講 師 長島 正

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

医療技術の進歩した今日でも、口腔顔面領域で慢性疼痛を訴える患者の数は増加している。この領域での慢性難治性疼痛としては、術後の末梢神経損傷に起因した痛覚過敏やアロディニア（ニューロパシックペイン）がある。これらはその多くが下顎の抜歯、とくに下顎埋伏智歯抜歯時やインプラント植立術などの術後に発生する。本研究では、慢性難治性疼痛発症・維持機構を解明するため、口腔顔面領域にニューロパシックペイン発症動物を作成し、三叉神経脊髄路核尾側亜核浅層領域（SpVc-I/II）での一次求心性線維の情報伝達物質グルタミン酸の動態とニューロパシックペイン発症・維持の関わりを検討した。

【実験方法】

実験 1：ニューロパシックペイン発症動物の作成

手術による末梢神経損傷：Sprague Dawley (SD) 雄性ラットを用いた。ベントバルビツールナトリウム麻酔下で、左側下顎神経を露出させ、クロミック製縫合糸で 3 箇所緩やかに結紮した。疼痛閾値の測定は von Frey filament を使い、左右下唇周辺を刺激し、フィラメントによる機械的刺激に対し逃避行動を行った時の荷重を反応閾値とした。薬物投与による末梢神経損傷：SD 系ラットを用いた。延髄くも膜下腔内に神経線維の脱髄を引き起こす lysophosphatidic acid (LPA) を投与し、上記と同様に疼痛閾値の測定を行った。

実験 2：SpVc-I/II でのグルタミン酸遊離に対する一酸化窒素 (NO) の影響

SD 系ラットを用いた。下顎神経結紮手術から 2 週間後、ラットをウレタン麻酔下で脳固定装置に固定し、結紮側 SpVc-I/II にマイクロダイアリスプローブを挿入し、リング液を灌流した。灌流液中のグルタミン酸量は、HPLC で分離測定を行った。

侵害刺激としては灌流側の下顎切歯歯髄電気刺激 (40 V)、下唇周辺へのカプサイシンクリーム塗布を行った。

薬物投与：NO 消去薬、NO ドナーは灌流液中に添加した。NO 合成酵素阻害剤は腹腔内投与を行った。SpVc-I/II の二次ニューロンを破壊する目的で SP-SAP (サブスタンス P 結合サポリン) を延髄くも膜下腔内に投与した。

実験 3：SpVc-I/II でのグルタミン酸遊離に対するグルタミン酸遊離機構のたんぱく質修飾の影響

SD系ラットを用いた。実験2と同法にて、結紮側のSpVc-I/IIを灌流した。灌流液中のグルタミン酸量は、HPLCで分離測定を行った。薬物は酸化剤、アルキル化剤、抗酸化剤を灌流液中に添加した。

【実験結果】

実験1：ニューロパシクペイン発症動物の作成

結紮手術動物では、機械的刺激に対する異常感覚（アロディニアの発症）は手術1週間後から始まり、2週間後に最大となった。

LPAの髄腔内投与では、機械的刺激に対する異常感覚は1日後から発症し、7日後に最大となった。

以上より、下顎神経結紮術あるいはLPA投与により、ニューロパシクペインを発症する病態動物の作成が可能となった。

実験2：SpVc-I/IIでのグルタミン酸遊離に対するNOの影響

歯髄電気刺激（40 V）、カプサイシンクリーム塗布により、グルタミン酸の遊離増加が認められた。この増加は、灌流液中へのNO消去薬添加、NO合成酵素阻害剤腹腔内前投与、SP-SAPの延髄くも膜下腔内処置により有意に抑制された。また、灌流液中へのNOドナー添加は、グルタミン酸遊離の増加を引き起こした。

以上より、SpVc-I/IIの二次ニューロンで産生されたNOは、シナプス間隙に拡散し、前シナプスのグルタミン酸遊離機構に働き、グルタミン酸の遊離を促進することが明らかとなった。

実験3：SpVc-I/IIでのグルタミン酸遊離に対するグルタミン酸遊離機構のたんぱく質修飾の影響

酸化剤、アルキル化剤の灌流液中への添加によりグルタミン酸遊離の増加が認められた。また、抗酸化剤の灌流液中への添加により、カプサイシンクリーム塗布によるグルタミン酸遊離の増加が有意に抑制された。

以上より、SpVc-I/IIでは、前シナプスのグルタミン酸遊離機構のSH基が修飾されると、グルタミン酸遊離が促進されることが明らかとなった。

【結論ならびに考察】

ニューロパシクペインの発症・維持には、グルタミン酸受容体を介するNO合成系が重要な役割を果たすことが明らかとなった。機序としては、シナプス間隙に拡散したNOが、前シナプスのグルタミン酸遊離機構たんぱく質のSH基を修飾することにより、小胞の開口放出分子装置に関わるたんぱく質複合体形成を促し、グルタミン酸遊離を促進すると考えられた。この増加は、受容体の活性化増大と、それに伴うNOの更なる産生を引き起こし、シナプス間で異常なグルタミン酸放出促進機構が形成され、これにより、ニューロパシクペインの発症、持続が生じることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ニューロパシクペイン発症ラットの三叉神経脊髄路核尾側亜核の灌流実験により、侵害刺激がグルタミン酸を遊離すること、またそれにより一酸化窒素の産生を促進すること、さらに一酸化窒素が前シナプスのSH基を修飾することによりグルタミン酸遊離機構を亢進することを示した。

以上の結果はニューロパシクペインの発症および維持機構を解明する上で重要な知見を与えるものであり、博士（歯学）の学位に値するものと認める。