

Title	神経切断ラットの三叉神経筋電気刺激が誘導する三叉神経感覚核における c-Fos発現の変化
Author(s)	下田, 隆史
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47594
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	しも だ たか し 下 田 隆 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 0 5 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 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	神経切断ラットの三叉神経節電気刺激が誘導する三叉神経感覚核における c-Fos 発現の変化
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 矢 谷 博 文 (副査) 教 授 吉 田 篤 講 師 飯 田 征 二 講 師 森 本 佳 成

論 文 内 容 の 要 旨

[研究目的]

神経損傷は自発痛や痛覚過敏やアロディニアに代表される神経因性疼痛を引き起こし、難治性である。神経損傷に伴い、末梢神経系ならびに中枢神経系では細胞特異的に生理学的、形態学的な変化がおこることが知られている。近年、単に損傷神経だけではなく近傍の非損傷神経が同時に興奮性を変化させると報告されている。しかし神経切断後に、三叉神経感覚核 (TSN) における c-Fos 発現の活動変化を見た研究はいまだない。三叉神経切断後、機械受容ニューロンか侵害受容ニューロンが変化するのか、TSN 内の損傷神経の入力部位か非損傷神経の入力部位が変化するものなのかは不明である。

本研究は損傷をうけた神経が、三叉神経節 (TG) への電気刺激が誘導する TSN 内での c-Fos 発現にどのような変化を与えるのかを明らかにするものである。

[実験方法]

体重 200~250 g の Sprague-Dawley 系ラットを 48 匹用いた。ペントバルビタール麻酔下 (50 mg/kg, i.p.) で神経切断動物を作製した。下歯槽神経 (IAN)、眼窩下神経 (ION)、咬筋神経 (MasN) を露出させ切断する。神経切断後それぞれ 3 日目、7 日目、14 日目、21 日後にウレタン麻酔下 (1.3 g/kg i.p.) で、動物を脳定位固定装置に固定し、頭蓋骨に開けた穴を通して左側 TG に双極刺激電極を刺入した。刺入した電極を通して 0.1 mA 又は 1.0 mA で持続時間 5 ms の矩形波刺激を 5 Hz で 10 分間与えた。TG への刺激終了後、2 時間後に灌流固定し c-Fos 免疫組織化学法にて染色した。TSN に誘導された c-Fos-IR 細胞を光学顕微鏡にてプロットし、神経損傷ラットと非損傷ラットの間で c-Fos-IR 細胞の数を比較した。統計学的解析は、分散分析 (ANOVA) と Fisher's PLSD-テストにより行った。

TSN は三叉神経主感覚核 (Vp)、吻側垂核 (Vo)、中位垂核 (Vi)、三叉神経尾側垂核 (Vc) に分類され、門より上方の TSN の吻側の Vp、Vo、Vi は細胞形態的に Vp では背側核 (Vpd) と腹側核 (Vpv) に、Vo では吻-背内側 (Vor)、背内側 (Vodm)、腹外側 (Vovl) にわけられ、Vi ではそれぞれ背内側 (Vidm) 腹外側 (Vivl) と分けられる。Vc I / II と Vc III/IV では独自に背内側 (Vc I / II dm, Vc III/IV dm) と腹外側 (Vc I / II vl, Vc III/IV vl) を背内側-腹外側の外

周の長さの半分の長さにて分割したラインにて区分けした。

[結果]

コントロールラットにおける c-Fos 発現

神経非損傷ラットをコントロールラットとして、TG を電気刺激し c-Fos 免疫組織染色を行うと、TSN で黒色あるいは灰色に核が染色された。Vc I / II において c-Fos-IR 細胞数は最多となった。門より吻側の TSN において c-Fos-IR 細胞数は Vp (平均値/切片±平均標準誤差=16±5)、Vo (41±11)、Vi (15±1)、VcIII/IV (106±7) であり Vc I / II (568±28) と比較して有意に少なかった ($P<0.01$)。

IAN 切断ラットにおける c-Fos-IR 細胞

IAN を切断後 7 日で電気刺激したラットでは、c-Fos-IR 細胞は Vp の背側 1/3、Vor、Vodm、Vidm の背内側 1/2、VcIII/IV の背内側 1/4 に密に分布し、また背内側—腹外側軸に沿った Vc I / II の全体に密集した。コントロールラットと比較して c-Fos-IR 細胞が、Vp (171±19、 $P<0.01$)、Vo (96±20、 $P<0.05$)、Vi (98±39、 $P<0.01$)、VcIII/IV (145±17、 $P<0.05$) に有意の多く分布した。対照的に Vc I / II では c-Fos-IR 細胞の数はコントロールラットと比較すると有意に減少した (432±20、 $P<0.01$)。背側もしくは背内側の TSN の c-Fos-IR 細胞数はコントロールラットと比較し Vpd (164±18、 $P<0.01$)、Vor (63±16、 $P<0.01$)、Vodm (89±17、 $P<0.01$)、Vidm (48±20、 $P<0.05$) と有意に増加した。TSN の腹側もしくは腹内側における c-Fos-IR 細胞数はコントロールラットと比較し Vivl においては有意に増加した (51±20、 $P<0.01$)。Vc I / II dm における c-Fos-IR 細胞数は減少したが (115±11、 $P<0.01$)、Vc I / II vl においては増加した (317±16、 $P<0.05$)。VcIII/IVdm (103±13、 $P<0.01$) においては c-Fos-IR 細胞数は増加したが、VcIII/IVvl (41±5、 $P<0.05$) においては減少した。

ION 切断ラットにおける c-Fos-IR 細胞

ION 切断後 7 日で電気刺激したラットの c-Fos-IR 細胞は Vp の腹側 2/3 に密集して、Vor の内側 1/2 では粗に、Vo でも粗に、Vi の腹外側 3/4 と VcIII/IV では中程度に、Vc I / II では背内側—腹外側軸に沿って全ての部位で多数分布した。コントロールラットと比較して c-Fos-IR 細胞は Vp (185±16、 $P<0.01$)、Vor (63±6、 $P<0.01$)、Vi (153±4、 $P<0.01$)、VcIII/IV (208±15、 $P<0.01$) で有意に多く分布した。Vor (63±6、 $P<0.01$) と Vovl (21±10、 $P<0.01$) において有意に増加した。Vi において c-Fos-IR 細胞は Vivl 全体 (115±3、 $P<0.01$) と Vidm (38±37、 $P<0.05$) の腹外側 1/2 に多数分布した。Vc では c-Fos-IR 細胞は Vc I / II 全体に密に、背内側 1/4 を除く VcIII/IV 全体に分布した。Vc I / II (448±8) と Vc I / II vl (123±11) の c-Fos-IR 細胞数はコントロールラットと比較して有意に減少した ($P<0.01$)。VcIII/IV (208±15)、VcIII/IVdm (99±14、 $P<0.01$)、および VcIII/IVvl (108±10、 $P<0.01$) の c-Fos-IR 細胞数はコントロールラットと比較して有意に増加した。

MasN 切断ラットにおける c-Fos-IR 細胞

MasN 切断後 7 日で電気刺激したラットでは c-Fos-IR 細胞は Vp の背側 1/3、Vor で粗に、Vodm、Vidm の内側半分で中程度に、Vc I / II では背内側—腹外側軸に沿って密に分布していた。c-Fos-IR 細胞数の増加傾向は、Vor (40±9)、Vo (53±8)、Vodm (45±13)、Vi (55±11)、Vidm (43±15)、VcIII/IV (149±22)、および VcIII/IV (92±15) でみられたが、Vor および VcIII/IVdm でのみ有意に増加した ($P<0.05$)。Vc I / II (394±9、 $P<0.01$) における c-Fos-IR 細胞数は有意に減少しており、Vc I / II dm (166±9、 $P<0.01$) で顕著であった。

[結果および考察]

本研究より、神経切断を行ったラットへの TG の電気刺激は、吻側の TSN と VcIII/IV に c-Fos 発現を増加させた。c-Fos 発現の認められた場所は越神経節輸送を利用した HRP 染色によって示される切断した IAN、ION、MasN の中枢投射領域と一致した。吻側の TSN や VcIII/IV と異なり、慢性的な神経切断動物の Vc I / II では切断神経の中枢投射域の内側では c-Fos-IR 細胞数は減少し、外側では増加した。

本研究では切断神経と非切断神経の両者を含む TG を刺激し、神経の表現型依存および損傷神経依存の c-Fos 発現を両方向性に認めた。つまり切断機械受容ニューロン (A β 線維) と非切断侵害受容ニューロン (C および A δ 線維) の入力を受ける TSN ニューロンの興奮性が増加した一方で、切断侵害受容ニューロンの入力を受ける TSN ニューロンの興奮性が減少したと考えられる。また、三叉神経の三本の主要枝である眼神経、上顎神経、下顎神経は TG に合流することから、非損傷神経領域での c-Fos 発現数の増加は損傷神経と非損傷神経との間の混信による可能性も考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、神経因性疼痛の機序を明らかにすることを目的として、神経切断ラットの三叉神経節 (TG) を電気刺激したときの三叉神経感覚核 (TSN) でのニューロン活動について c-Fos 発現を指標に検討したものである。

その結果、下歯槽神経、眼窩下神経、あるいは咬筋神経の切断ラットと非切断ラットの TSN での電気刺激による c-Fos 発現は異なることが明らかとなった。すなわち、神経切断により切断神経の侵害刺激受容ニューロンの興奮性は減少し、切断神経および非切断神経の機械刺激受容ニューロンの興奮性は増加したことから、神経切断が TSN での c-Fos 発現に影響を与えたことが示唆された。

以上のことより、本研究は三叉神経のニューロンの興奮性を理解する上で新た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。