

Title	疼痛発症にかかわる末梢でのグルタミン酸とオピオイドの相互作用
Author(s)	金, 幼虹
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/47612">http://hdl.handle.net/11094/47612</a>
DOI	
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	金 幼 虹
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 21036 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	疼痛発症にかかわる末梢でのグルタミン酸とオピオイドの相互作用
論文審査委員	(主査) 教授 上崎 善規 (副査) 教授 矢谷 博文 助教授 竹村 元秀 講師 長島 正

### 論文内容の要旨

#### 「緒言および目的」

グルタミン酸は侵害受容線維に高濃度存在し、痛覚伝導路第一次中継核では痛覚情報に関わる伝達物質として働いていることが知られているが、末梢神経における役割は不明である。

本研究では、侵害受容神経末梢端でのグルタミン酸の役割を明らかにするため、末梢神経端からのグルタミン酸遊離の有無、ならびにグルタミン酸末梢投与に伴う逃避反応と痛覚伝導路一次中継核での c-Fos 陽性ニューロンの発現について検討した。さらに、これらに対するオピオイド投与の影響を検討した。

#### 「実験方法」

##### 1. 末梢における興奮性アミノ酸遊離

SD 系雄性ラット(体重約 300 g)を使用し、ウレタン(1 g/kg i.p.)麻酔下に、プローブを後肢足背皮下に挿入し、リンゲル液(15 µl/分)で灌流した。灌流液は 20 分(300 µl)毎にフラクションコレクターを用い、氷冷下に採取した。

##### 2. アミノ酸測定方法

灌流液中のアミノ酸の量は、HPLC-蛍光検出器(o-phthalaldehyde 法)により測定した。カラムには C18ODS(4.6 mm×150 mm)を、移動相には pH 6 のリン酸緩衝液(100 mM)、27%メタノール、EDTA(10 mM)を使用した。

##### 3. 逃避行動の測定

プランターテストにより、薬物投与側(左側後肢)、対照側(右側後肢)を交互に熱刺激し左右の逃避行動開始までの時間を測定した。1 測定当り 1 分間隔で熱刺激を 4 回繰り返し、その平均値を用いた。

##### 4. 脊髄(痛覚第一次中継核)の免疫組織化学

ラット左側後肢、足蹠皮下に薬物を 50 µl 投与し、2 時間後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し、脊髄(L4-L6)を摘出、厚さ 60 µm の切片を作成した。c-Fos 抗体を用い ABC 法により可視化した。

#### 「実験結果」

1. 坐骨神経に対する電気刺激(10 V、2 Hz 矩形波、20 分間)、足背の熱刺激(50°C 20 分間)や、足背への 1%カプサイシン塗布により、ラット後肢足背皮下灌流液中へ遊離されるグルタミン酸量が増加した。

2. カプサイシン（三日前、30 mg/kg；二日前、50 mg/kg；前日、70 mg/kg）前処置した場合は、カプサイシン刺激によるグルタミン酸遊離増加は見られなかった。
3. モルヒネ（10 mg/kg）静脈内投与後、あるいは皮下灌流液中へ10 μM投与中は、カプサイシン刺激によるグルタミン酸遊離増加が抑制された。ナロキソン同時投与（5 mg/kg または 10 μM）はこのモルヒネの作用に拮抗した。
4. グルタミン酸（5 μmol）を後肢足蹠皮下に投与すると、15 分後からラットの逃避反応時間が減少した。モルヒネ（10 mg/kg）はこの作用を抑制した。さらに、ナロキソン（5 mg/kg）はそのモルヒネの効果を抑制した。
5. 同様にグルタミン酸（5 μmol）を足蹠皮下に投与した場合、脊髄 L5 の I/II 領域のみで c-Fos 陽性ニューロン数が有意に増加した。この反応は足蹠へのカプサイシン塗布によっても認められた。さらに、これらの刺激による反応は、モルヒネの末梢投与により抑制され、ナロキソンにより拮抗された。

#### 「結論と考察」

1. 侵害刺激に伴い侵害神経末梢部位からグルタミン酸の遊離増加が認められた。
2. モルヒネはカプサイシン刺激によるグルタミン酸遊離増加を抑制した。この抑制効果はナロキソンで拮抗された。
3. グルタミン酸末梢投与により、逃避反応の促進や脊髄における疼痛反応が認められた。
4. モルヒネはこのグルタミン酸による疼痛反応を抑制した。

以上の結果より、侵害刺激が末梢-末梢反射により侵害受容神経末梢から興奮性アミノ酸を放出し、末梢に存在するグルタミン酸受容体を介して、疼痛刺激を増強する機構が存在すること、また、このグルタミン酸の作用は、末梢のオピオイド受容体により調節を受けていることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、侵害受容神経末梢部位におけるグルタミン酸の役割を明らかにするため、末梢神経からのグルタミン酸遊離の有無、末梢投与による逃避反応と痛覚伝導路一次中継核での c-Fos 陽性ニューロンへの影響、およびオピオイド投与の影響について検討したものである。

その結果、侵害刺激が末梢-末梢反射により末梢神経から興奮性アミノ酸を放出し、グルタミン酸受容体を介して、疼痛刺激を増強する機構が存在すること、またこの作用は末梢のオピオイド受容体により調節を受けていることが明らかとなった。

本研究の結果は末梢部位に限局的に作用する、副作用の少ない疼痛制御薬の開発につながる可能性を示唆するものであり、よってこの論文は博士（歯学）の学位に十分値するものと認める。