



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | リゾホスファチジン酸(LPA)の小脳延髄槽への投与が三叉神経感覚核における侵害受容反応に及ぼす効果   |
| Author(s)    | 酒井, 勇介  |
| Citation     | 大阪大学, 2008, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/49240">https://hdl.handle.net/11094/49240</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 href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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         | 酒井 勇介  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(歯学)   |
| 学位記番号      | 第 21918 号  |
| 学位授与年月日    | 平成 20 年 3 月 25 日                                       |
| 学位授与の要件    | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>歯学研究科統合機能口腔科学専攻                    |
| 学位論文名      | リゾホスファチジン酸 (LPA) の小脳延髄槽への投与が三叉神経感覚核における侵害受容反応に及ぼす効果    |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 矢谷 博文<br>(副査)<br>教授 吉田 篤 准教授 和田孝一郎 講師 小泉 英彦 |

### 論文内容の要旨

#### [緒言]

リゾホスファチジン酸 (LPA) は神経を損傷した時に放出され、ニューロンの脱髄を起こすといわれる脂質メディエーターである。LPA の主な出所は血清で、活性化された血小板によって放出される。神経損傷が起こるとその部位の血清が漏出し、放出された LPA がニューロンに到達し脱髄を起こす。脱髄が起きると非侵害刺激でも神経が興奮し、慢性疼痛が引き起こされる。LPA は神経因性疼痛の発現に関与する初発原因分子といわれているが、その疼痛発現に関与する具体的なメカニズムに関しては不明である。

本研究では、三叉神経感覚核 (TSN) の侵害受容反応に対する LPA の関与を明らかにすべく、小脳延髄槽 (CM)、三叉神経節 (TG) および下歯槽神経 (IAN) に LPA を作用させた場合の侵害受容動態 (フォンフライテスト) および TSN における c-Fos 発現、プロテインキナーゼ C $\gamma$  (PKC $\gamma$ ) 発現を調べた。

#### [実験方法]

成熟雄性 Sprague-Dowley 系ラット (250~300 g) を 52 匹用いた。ネブタール麻酔下 (50 mg/kg, i.p.) で、CM、TG および IAN に LPA (10 nM、10  $\mu$ l) を投与した。また、コントロール群として同部位に生理食塩水 (Sal) を投与した。その後 1 日目、3 日目、7 日目にフォンフライテストを行い、部位別；下肢足背、頬の咬筋相当部、上口唇における機械刺激疼痛閾値を調べた。投与後 7 日目に、ウレタン麻酔下 (1.3 g/kg, i.p.) にて、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、C 線維活動条件 (1.0 mA、5 ms、5 Hz) の電気刺激を 10 分間与えた。2 時間後に動物は深麻酔下にて左心室より 4%パラホルムアルデヒド (300 ml) を灌流して固定し、脳を取り出し同固定液に 6 時間以上後固定し、24 時間以上 30%ショ糖溶液 (4℃) へ浸漬した。その後、厚さ 60  $\mu$ m の連続凍結横断切片を作製し、免疫組織化学法にて染色を行い、光学顕微鏡で c-Fos 陽性細胞の数を TSN の部位別に計測した。また、CM における LPA の効果を明らかにするため、CM へ LPA を投与した群、Sal を投与した群、IAN を切断した群、何も処置しない群を各々 4 匹ずつ作製し、処置後 7 日目に前述の通り動物を灌流固定し、脳を取り出し切片を作製、免疫染色を行い三叉神経尾側亜核 (Vc) における PKC $\gamma$  陽性細胞の数を光学顕微鏡で計測した。さらに、灌流固定後の動物の TG を取り出し 2%四酸化オスミウムで染色した後、純レジンにて包

埋した。その後、ウルトラマイクロトームで厚さ 80 nm に切断し、透過型電子顕微鏡を用いてニューロンの変性状態を観察した。

#### [結果および考察]

##### 1. フォンフライテスト

LPA を CM に投与すると、1 日、3 日、7 日後、咬筋相当部において機械的疼痛閾値の漸時的な低下が認められた。

##### 2. c-Fos 陽性細胞

LPA を CM に投与し 7 日後に、TG を電気刺激して 2 時間後の TSN には多くの c-Fos 陽性細胞が認められた。Sal および LPA 投与ラットではそれぞれ三叉神経主感覚核 (Vp) (平均値/切片±平均標準誤差=3.0±2.4、18.9±3.5)、吻側亜核 (Vo) (18.3±7.8、55.9±6.7)、中位亜核 (Vi)/Vc 境界部 (149.3±33.7、267.8±21.4)、Vi (64.6±22.8、102.6±9.7)、Vc I/II (181.4±59.7、301.5±80.3)、VcIII/IV (65.2±22.8、82.0±28.3) となり、すべての領域において LPA 投与により c-Fos 陽性細胞数は増加し、特に Vp、Vo、Vi/Vc において LPA 投与により c-Fos 陽性細胞数は有意に増加した (Vp :  $P<0.01$ 、Vo :  $P<0.05$ 、Vi/Vc :  $P<0.05$ )。

##### 3. 脱髄現象および PKC $\gamma$ 陽性細胞

LPA を CM に投与した場合の三叉神経節において、LPA 誘発の脱髄が電子顕微鏡像により観察された。また、Vc II 層の内層における PKC $\gamma$  陽性細胞数は 112.0±3.8 となり、何も処置しない群 (78.9±3.8)、Sal を投与した群 (72.8±3.1)、IAN を切断した群 (93.8±3.2) と比較して有意な発現の上昇が認められた ( $P<0.01$ )。

本研究より、LPA を中枢性に投与することにより、Vp、Vo、Vi/Vc 領域において神経の活動が活発になり、延髄での LPA の放出が三叉神経根での脱髄を誘発し、アロディニアや痛覚過敏現象を引き起こす可能性が示唆された。LPA は神経の損傷部位または中枢領域から遊離するが、延髄および三叉神経根において作用し疼痛が症状として現れる可能性が高い。

### 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、その初発分子であるリゾホスファチジン酸 (LPA) を小脳延髄槽、三叉神経節および下歯槽神経に投与したときの侵害受容反応の変化を検討したものである。

LPA の中枢性投与により神経活動が活性化され、疼痛閾値の低下、三叉神経感覚核での c-FOS 陽性細胞数の増加がみられ、また三叉神経根での脱髄が誘発された。この結果は、中枢性の LPA がアロディニアや痛覚過敏現象を引き起こすことを示唆するものである。

以上より、本研究は三叉神経系における侵害受容のメカニズム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。