



Title	延髄後角のNK-1受容体ニューロンの選択的削除がホルマリン誘導侵害受容行動、c-Fos発現に及ぼす効果及びそれに対するビククリン前投与の影響
Author(s)	正脇, 綾
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49798">https://hdl.handle.net/11094/49798</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">大阪大学の博士論文について</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

【25】

氏 名	まさ 正 脇 綾
博士の専攻分野の名称	博 士（歯 学）
学 位 記 番 号	第 2 2 8 4 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 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	延髄後角の NK-1 受容体ニューロンの選択的削除がホルマリン誘導侵害 受容行動、c-Fos 発現に及ぼす効果及びそれに対するピククリン前投与 の影響
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 丹羽 均 (副査) 教 授 上崎 善規 准教授 竹村 元秀 講 師 飯田 征二

論 文 内 容 の 要 旨

[緒言]

延髄後角（Vc）第Ⅰ層の投射ニューロンの 80％は、サブスタンス P（SP）の受容体（NK-1；ニューロキニン 1 型受容体）を持ち、疼痛発現制御に重要な働きをしているが、その詳細については不明である。SP と神経毒であるサボリンを結合させた SP・サボリン（SP・Sap）を小脳延髄槽（大槽）に投与すると、選択的に NK-1 発現ニューロンが削

除される方法が開発された。この SP・Sap で前処置したラットを用い、NK-1 発現ニューロンがいかに疼痛発現制御に関与するかを、口唇にホルマリンを注射して誘導される疼痛関連行動（PRB；顔面こすり運動）及び Vc での c-Fos 発現から検討した。さらに GABA<sub>A</sub> 受容体アンタゴニストであるピククリンを全身前投与し、これらに対する影響を調べた。

[実験方法]

SD 系雄性ラット（体重約 150g；ケアリー）を、24 匹用いた。

NK-1 発現ニューロン削除動物の作製方法：

Na-ペントバルビタール麻酔下（50 mg/kg, i.p.）で、動物を脳定位固定装置（Narishige）に固定後、後環椎後頭膜を露出し、小さな穴を開け、SP・Sap（3 μM；8 匹）、コントロールとして生理食塩水（Sal；8 匹）又はブランクーサボリン（Bl・Sap, 3 μM；8 匹）を各 5 μl ずつ、マイクロシリンジで大槽に注入した。注入後創面を閉じ、麻酔から回復させ、術後 2～4 週間経過したものを実験に使用した。

動物の侵害受容動態：

腹腔内に Sal（1 ml/kg）又はピククリン Sal 溶液（2 mg/kg）を投与して、10 分後に 1.5%ホルムアルデヒド生理食塩水溶液をラットの左側上口唇に皮下注射した。5 分毎の PRB を 60 分間にわたり計数した。ホルマリン注射 2 時間後に灌流固定を行い、延髄領域の連続横断凍結切片を作製し、免疫組織化学法によりそれぞれ c-Fos 及び NK-1 を DAB 染色した。Vc の c-Fos 陽性細胞を数え、陽性細胞の多い切片 5 枚を代表値とした。NK-1 陽性細胞は Vc で標識されているものを数えた。結果は平均±標準誤差で表し、有意差検定には、分散分析 Fisher's PLSD を用い、*P* < 0.05 を有意とした。

[結果]

NK-1 免疫陽生ニューロン：

SP・Sap 前処置ラットの、Vc のⅠ層における NK-1 免疫陽性ニューロン数は、2.3 ± 0.9 個であり、Sal（7.3 ± 1.3 個）および Bl・Sap（6.9 ± 1.1 個）と比べ有意に減少した（*P* < 0.05）。

ホルマリン誘導疼痛関連行動：

上口唇へのホルマリン注射により引き起こされる PRB は、足へのホルマリン注射で見られる PRB と同様に二相性の変化を示した。上口唇へのホルマリン注射開始から 5 分間を第Ⅰ相、10 分から 60 分を第Ⅱ相とし、その間（5 分から 10 分）を鎮静期とした。

Sal 及び Bl・Sap 前処置ラットでは、第Ⅰ相で PRB の急激な増加を認め（89.8 ± 19.8 回及び 89.5 ± 38.3 回）、鎮静期に PRB は減少した（13.0 ± 10.2 回及び 36.8 ± 16.0 回）。第Ⅱ層で PRB は再び増加した（77.0 ± 4.7 回及び 109.0 ± 20.9 回）。Sal 及び Bl・Sap 前処置ラットではいずれの相においても、PRB 数に差は認めなかった。SP・Sap 前処置ラットでは、第Ⅱ相の PRB 数は、Sal 及び Bl・Sap 前処置ラットの PRB 数に比べ有意に減少

した ( $25.4 \pm 9.0$  回,  $P < 0.01$ )。

ビククリンを全身前投与すると、第 II 相の PRB 数は Sal ( $34.0 \pm 14.9$  回,  $P < 0.05$ ) 及び Bl-Sap 前処置ラット ( $26.1 \pm 8.5$  回,  $P < 0.01$ ) では、Sal 溶液を全身前投与した場合と比べ、それぞれ有意に減少した ( $P < 0.05$ ) が、SP-Sap 前処置ラット ( $28.3$  回  $\pm 4.1$ ) では変化しなかった。

#### c-Fos 陽性細胞：

Vc の c-Fos 陽性細胞数は、Sal 前処置ラットでは、浅層部 (VcI/II) で  $145.3 \pm 21.2$  個、大細胞部 (VcIII/IV) で  $39.0 \pm 4.0$  個であった。また Bl-Sap 前処置ラットでは VcI/II で  $104.2 \pm 9.7$  個、VcIII/IV で  $33.2 \pm 8.1$  個であった。SP-Sap 前処置ラットでは、VcI/II で  $48.7 \pm 5.5$  個、VcIII/IV で  $17.2 \pm 3.6$  個であり Sal 及び Bl-Sap 前処置ラットに比べそれぞれ有意に減少していた (VcI/II, Sal に対し  $P < 0.01$ , Bl-Sap に対し  $P < 0.05$ ; VcIII/IV, Sal 及び Bl-Sap に対し  $P < 0.05$ )。

ビククリンの全身前投与により、VcI/II、VcIII/IV に認められる c-Fos 陽性細胞数は Sal (VcI/II,  $80.9 \pm 8.8$  個,  $P < 0.05$ ; VcIII/IV,  $14.0 \pm 2.0$  個,  $P < 0.05$ ) 及び Bl-Sap 前処置ラット (VcI/II,  $66.2 \pm 8.1$  個,  $P > 0.05$ ; VcIII/IV,  $12.3 \pm 2.5$  個,  $P < 0.05$ ) で、Sal 溶液を全身前投与した場合に比べ、それぞれ減少した。SP-Sap 前処置ラットでは、ビククリンの全身前投与により、VcI/II に認められる c-Fos 陽性細胞数は、Sal 溶液を全身前投与した場合に比べ、増加したが (VcI/II,  $93.7 \pm 13.8$  個,  $P < 0.05$ )、VcIII/IV では変化しなかった (VcIII/IV,  $21.1 \pm 3.1$  個)。

#### 〔結論〕

Vc の NK-1 発現ニューロンは顔面の侵害受容及び GABA<sub>A</sub> 受容体を介した促進制御に関与すると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究では三叉神経尾側亜核 (Vc) のニューロキニン 1 型受容体 (NK-1) 発現ニューロンをサブスタンス P サボリンを用いて選択的に削除したラットを用い、上口唇へのホルマリン注射により誘導される疼痛関連行動や Vc での c-Fos 発現が減少すること、また GABA<sub>A</sub> 受容体アンタゴニストであるビククリンの全身投与で、通常は鎮痛に働く疼痛制御が逆となることを示した。従って NK-1 ニューロンは、顔面のホルマリン誘導炎症性疼痛による Vc の c-Fos 発現、及び GABA<sub>A</sub> レセプターを介した疼痛制御に重要な役割を持つと考えられる。

本研究は三叉神経系における侵害受容制御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。