

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
西村 渉	主査 教授 南 敏 明 副査 教授 宮 崎 瑞 夫 副査 教授 黒 岩 敏 彦 副査 教授 清 水 章 副査 教授 古 谷 榮 助
主論文題名 Characterization of <i>N</i> -methyl-D-aspartate receptor subunits responsible for postoperative pain (術後痛に対する NMDA 受容体サブユニットの役割)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>ヒトの手術後の痛みは持続性であり、侵害性刺激に対する反応の亢進(痛覚過敏反応)が見られることがよく知られている。これは外科手術による組織損傷が末梢において侵害受容体の感受性を亢進し、また脊髄におけるニューロンの興奮性の増強すなわち中枢性感作を引き起こすためと考えられている。ラットやマウスで作製された術後痛モデルでは、ヒトの術後痛の経時変化と同様に数日間にわたる機械的侵害性刺激に対する痛覚過敏反応が観察される。一方、グルタミン酸は中枢神経系のほとんどの興奮性シナプスで神経伝達物質として働き、グルタミン酸受容体の一種である NMDA 受容体は、情動、記憶、学習などの脳の高次機能に関与する。また NMDA(<i>N</i>-methyl-D-aspartate)受容体は脊髄後角に存在することから、痛覚の伝達において重要な役割をしていると考えられており、痛覚過敏反応や非侵害刺激により誘発される疼痛(アロディニア)の発現に関与することが数多く報告されている。NMDA 受容体は GluRζ (NR1)と GluRϵ1~4 (NR2A~D) のサブユニットにより構成されており、GluRζ は GluRϵ と機能的なチャネルを形成し、GluRϵ1~4 サブユニットによりそれぞれの機能が決定されると考えられている。申請者はマウスモデルを用いて術後痛に NMDA 受容体に関係するのかどうか、もし関係するならばどのサブユニットが関与しているのかを検討した。</p> <p>《方 法》</p> <p>GluRϵ1 および GluRϵ4 サブユニット欠損マウス、野生型マウスの雄、体重 25~30g に、ペントバルビタール (60mg/kg) を腹腔内投与し、全身麻酔を施行した。Brennan らの方法と同様に、マウス後肢の足底面に No.11 のメスにて筋膜に達する長さ 3 mm の縦切開を行い、足底筋を持ち上げ、これに縦切開を加えた後、圧迫止血を行い、5-0 ナイロン糸にて 2 針縫合した。髄腔内投与は、全身麻酔下で外科処置の 30 分前に、GluRϵ2 サブユニットの選択的拮抗薬である CP-101,606、生理食塩水 5 μl を 27 G のステンレス針を付けたマイクロシリンジを用いて第 5-6 腰椎間よりゆっくり投与した。機械的侵害性刺激に対する痛覚過敏反応の評価には von Frey フィラメントを使用し、手術前、手術後 2 時間、1 日後、3 日後、5 日後にそれぞれ疼痛閾値を測定した。運動神経障害の有無は、CP-101,606 1 μg を髄腔内投与した後 20 rpm で回転する Rota-rod Treadmill の上にマウスを置き、Rota-rod Treadmill から落ちるまでの時間を計測した。</p>	

《結果》

野生型マウスに生理食塩水を髄腔内投与し術後痛モデルを作製した群では疼痛閾値は術前 15.1 g から手術後 2 時間で 4.25 g へ低下し、その後徐々に回復し手術 5 日後に術前の疼痛閾値に回復した。CP-101,606 投与(1 µg)群ではコントロール群に比べ、手術後 2 時間、手術 1 日後、手術 3 日後において疼痛閾値は有意に上昇した。AUC (the area under the curve) で比較した場合、CP-101,606 は用量依存性に疼痛閾値の上昇を認め、CP-101,606 投与(1 µg)群ではコントロール群に比べ有意差を認めた。

Rota-rod テストでは、生理食塩水投与群と CP-101,606 投与(1 µg)群で有意差は見られなかった。

次に野生型マウス、GluRε1 および GluRε4 サブユニット欠損マウスを用いて術後痛モデルを作製すると各群の疼痛閾値は手術後 2 時間、手術 1 日後において著明に減少し、手術 5 日後には術前の疼痛閾値に回復したが、各群間で有意差は認めなかった。

GluRε1 および GluRε4 サブユニット欠損マウスに CP-101,606 を髄腔内投与し、CP-101,606 の効果を検討すると、GluRε1 および GluRε4 サブユニット欠損マウスに CP-101,606 を投与した群と野生型マウスに CP-101,606 を投与した群との比較では有意差は見られなかった。

《考察》

C 線維を興奮させる程度の刺激を繰り返すと脊髄後角ニューロン反応が次第に増幅するいわゆる wind up 現象に NMDA 受容体が関与している。本研究において、マウスの術後痛モデルに、GluRε2 サブユニットの選択的拮抗薬である CP-101,606 を術前に髄腔内投与することにより長期間にわたる鎮痛効果が観察された。また Rota-rod テストでは、生理食塩水投与群と CP-101,606 投与群で有意差は見られなかったことから、鎮痛効果は運動麻痺によるものではないと考えられた。GluRε1 および GluRε4 サブユニット欠損マウスの各群は野生型マウスに対し有意差は見られず、CP-101,606 の髄腔内投与を行っても相加的作用は認めなかった。

今回の実験結果より、術後痛には GluRε2 サブユニットが関与する可能性が示唆され、術前に投与した CP-101,606 は末梢性感作や中枢性感作を軽減し術後痛を予防することが明らかになった。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	西 村 涉
論文審査担当者		主 査 教授 南 敏 明 副 査 教授 宮 崎 瑞 夫 副 査 教授 黒 岩 敏 彦 副 査 教授 清 水 章 副 査 教授 古 谷 榮 助	
主論文題名 Characterization of <i>N</i> -methyl-D-aspartate receptor subunits responsible for postoperative pain (術後痛に対する NMDA 受容体サブユニットの役割)			
論文審査結果の要旨			
<p>ヒトの手術後の痛みは持続性であり、数日間にわたり侵害性機械刺激に対して痛覚過敏反応が見られる。これは外科手術による組織損傷が末梢において侵害受容体の感受性を亢進し、また脊髄におけるニューロンの興奮性の増強すなわち中枢性感作を引き起こすためと考えられている。ラットやマウスで作製された術後痛モデルでは、ヒトの術後痛の経時変化と同様に痛覚過敏反応が観察される。一方、グルタミン酸は中枢神経系のほとんどの興奮性シナプスで神経伝達物質として働き、グルタミン酸受容体の一種である NMDA (<i>N</i>-methyl-D-aspartate) 受容体は、情動、記憶、学習などの脳の高次機能に関与する。また NMDA 受容体は脊髄後角に存在することから、痛覚の伝達において重要な役割をしていると考えられており、痛覚過敏反応や非侵害刺激により誘発される疼痛 (アロディニア) の発現に関与することが数多く報告されている。NMDA 受容体は GluRζ (NR1) と GluRϵ1~4 (NR2A~D) のサブユニットにより構成されており、GluRζ は GluRϵ と機能的なチャネルを形成し、GluRϵ1~4 サブユニットによりそれぞれの機能が決定されると考えられている。</p> <p>申請者はマウスの術後痛モデルを用いて NMDA 受容体が術後痛に関係するのかどうか、もし関係するならばどのサブユニットが関与しているのかを検討した。マウスの術後痛モデルに、GluRϵ2 サブユニットの選択的拮抗薬である CP-101,606 を術前に髄腔内投与することにより長期間にわたる鎮痛効果が観察された。また Rota-rod テストでは、生理食塩水投与群と CP-101,606 投与群で有意差は見られなかったことから、鎮痛効果は運動麻痺によるものではないと考えられた。GluRϵ1 および GluRϵ4 サブユニット欠損マウスの各群は野生型マウスに対し有意差は見られず、CP-101,606 の髄腔内投与を行っても相加的作用は認めなかった。以上より術後痛には GluRϵ2 サブユニットが関与すること、GluRϵ2 サブユニットの選択的拮抗薬が術後痛に対する新しい鎮痛薬として臨床応用される可能性が示された。</p> <p>以上により、本論文は本学学位規程第3条第2項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p>			
(主論文公表誌) European Journal of Pharmacology 503: 71-75, 2004			