

学位授与番号：甲 958 号

氏 名：高橋由香里

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 2 月 12 日

学位論文名：

神経障害性疼痛モデル動物における扁桃体中心核シナプス増強機構の解析

主論文名：

痛みモデル依存的扁桃体中心核シナプス増強機構の差異

学位審査委員長：下山直人教授

学位審査委員：靱山俊彦教授、安保雅博教授

論文要旨

(2部提出)

論文提出者名	高橋 由香里	指導教授名 加藤 総夫
<p>主論文：痛みモデル依存的扁桃体中心核シナプス増強機構の差異 (PAIN RESEARCH, 24 巻, 137-146 項, 2009 年)</p> <p>慢性痛は本邦の 13%が訴える重要な医学的問題である。特に「痛み」の成分の一つである負情動、すなわち痛みの苦痛は、生活の質と日常生活動作能力を著しく低下させるとともに気分感情障害などを併発するため、その発現機構の解明と治療法の開発は急務である。脊髄後角浅層から腕傍核 (PB) を介して扁桃体中心核外側外包部 (CeLC) へと至る脊髄-腕傍核-扁桃体路が痛み情動の発現において主要な役割を演じる可能性が示されている。この経路の最終段シナプスである PB-CeLC シナプスは、さまざまな慢性痛モデルにおいて著明な伝達増強を示すが、その分子機構の詳細は未解明である。発症 6 時間後の亜急性関節痛モデルでプロテインキナーゼ A 依存的 NMDA 受容体機能の増強が示されている一方 (Bird et al., 2005)、我々は 1 週経過後の神経障害性疼痛ラットにおいて、このシナプス伝達増強が NMDA 受容体成分増強を伴わないことを報告した (Ikeda, Takahashi, Inoue, Kato, 2007)。これら二種類の疼痛モデルにおける PB-CeLC シナプス増強メカニズムの差異を生み出す機構を解明するため、神経障害性疼痛発症 6 時間後のラットの PB-CeLC シナプス伝達を解析した。片側神経結紮 6-8 時間後に下肢足底の異痛症閾値を測定した後、急性脳スライス標本パッチクランプ法により PB 由来線維刺激誘発の興奮性シナプス後電位 (EPSC) を CeLC ニューロンから記録した。異痛症は神経結紮側においてのみ認められたが、誘発 EPSC の振幅増大は左右両側扁桃体で認められ、このシナプス伝達増強は、1 週経過後の同慢性痛モデル同様、非 NMDA 受容体成分の増強によるものであった。したがって、関節炎痛と慢性神経障害性疼痛の PB-CeLC シナプス増強のメカニズムの差異は、時間経過によるものではなく、異なる痛みのモダリティにより活性化する脳内の痛み関連機構の空間的・時間的活性化パターンの差異に起因すると結論された。</p> <p>また、本公表内容以外に、このシナプス増強の急性期から慢性期の変化が増強の片側化を伴う事実、さらに、増強が、複数シナプス小胞の高同期性放出を可能にする放出部位の構造的増加を伴う事実を証明した (論文公表準備中)。これらの結果は、慢性痛の扁桃体における侵害受容と負情動の連合の程度と機構が継時的にダイナミックに変容し、構造・機能的なシナプスの変化によって固定化される可能性を示すものであり、慢性痛の負情動が難治化する機序の一つである可能性が考えられた。</p>		

論文審査の結果の要旨

高橋 由香里氏の学位申請論文は主論文 1 編、参考論文 5 編からなり主論文の原題は「Synaptic potentiation in the central amygdala involves different mechanisms depending on pain model」、日本語原題は「痛みモデル依存的扁桃体中心核シナプス増強機構の差異」であり、2009 年に PAIN RESEARCH 誌に発表された。以下、学位申請論文の要旨と審査委員会における審査結果を記載する。

近年の疼痛学研究は、侵害受容に関わる分子機構とその脊髄後角への投射機構およびそこでの処理機構に関する理解を飛躍的に進めた。一方、慢性痛に関しては痛みの本質的生物学的意义である「苦痛」を生み出している脳内神経回路の可塑性変化がある。慢性痛の長く持続する苦痛を理解し、治療の対象としていくためには、侵害受容がどのような機構で痛みを、そして苦痛を生み出すのか、さらに、その機構が痛みの慢性化に伴ってどのような可塑的变化を示すのか、を理解することが必要である。本研究において高橋氏は、現在、痛みの伝達経路の中心と考えられている脊髄後角第一層、第 V 層から対側の脊髄視床路を通して皮質耐性感覚野に至る連絡経路ではなく、むしろ指導教官である加藤教授らが解明してきた、脊髄後角第一層から橋の腕傍核に投射している情動が関連する経路に関わる扁桃体中心核におけるシナプスの可塑性を検討した。シナプスの可塑性が痛みの慢性化にどのように関わっているかの機序を検討する研究である。高橋氏の研究のポイントは、1 1 部と 2 部とに分かれている中で、動物モデルの痛みの種類によって扁桃体中心核の可塑性の機序が異なることを示したことである。また、その可塑性が痛み刺激の種類だけでなく、痛みを加えてからの時間経過の違いによる可塑性の違いについても検討したことである。結果、神経障害性疼痛モデルである腰椎第 5 神経を絞扼するモデルである Chung model においては脳スライス標本において、パッチクランプ法により扁桃体中心核シナプスからの EPSC の計測により、non-NMDA 受容体の機序によるシナプス可塑性が人間の慢性疼痛の機序につながる結果を分子機構に基づいて示した。

平成 26 年 1 月 29 日、審査委員長下山直人および、靱山委員、阿保委員の出席のもとに公開審査会を開催し、高橋氏の研究概要の発表に続いて、口頭試問を実施した。口答試験においては以下の質問があった。

- (1) 使用した動物の週齢とその影響、(2) 扁桃体中心核細胞の自発発火に関連する EPSC や、伝達物質による miniature EPSC はどのようなであったか、(3) LPB 以外の入力があるのかどうか、(4) シナプスへの刺激頻度を変えて頻度特性があったかどうか、(5) ストロニウムへの置換による効果が他の部位のシナプスよりも小さいが、それは LPB-CeC シナプスの特徴かどうか、(6) ネットワークが保たれているモデルであるが、抑制性の入力変化はどうなっているか、(7) フォルマリンモデルでは BLA の C-fos の増加が報告されているが、CeC ではどうか、(8) 酢酸腹腔内投与による内臓痛モデルとの

比較はどうか、(9) 髄内電気刺激療法メカニズムとの関連は、(9) MRI での扁桃体での活動の報告はあるのか、(10) 痛みのモデルの違いはどのような中枢への電気信号の違いなのか、

これらの質問に対して、高橋氏は適切な回答と意見を述べた。その後、審査委員会において慎重に審議した結果、高橋氏の研究は慢性疼痛の機序の解明とその治療法の開発の可能性につながる重要な治験を示しており、学位論文として十分な価値があると認定した次第である。