

研究種目：基盤研究 (B)
研究期間：2006～2009
課題番号：18390512
研究課題名 (和文) 三叉神経痛において生じている一次侵害受容神経過敏化のメカニズムの
解明と治療法開発
研究課題名 (英文) Basic mechanisms of nociceptive sensitization of sensory ganglia
in trigeminal neuralgia and treatment development
研究代表者
松香 芳三 (MATUKA YOSHIZO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：90243477

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：三叉神経痛、神経節細胞、神経伝達物質、神経小胞、改良型ボツリヌス毒素、遊離、取り込み

1. 研究計画の概要

日本では、現在世界に類を見ないほど急速に、高齢化が進行しつつあり、歯科においても高齢者の受診患者は、今後激増することが推測されている。高齢者に多発する三叉神経因性疼痛は、その病態が十分解明されていないものもあり、不治の疼痛に苛まれている症例も少なくない。難治性で強度の疼痛に悩まされる患者の日常生活は、大きく障害され、社会的に大きな問題となっている。抗てんかん薬や抗うつ薬などが治療に用いられるが、それらの薬物は中枢性副作用が強く、服用不可能である患者も少なくない。そこで、本研究では中枢性副作用を生じさせない新規治療法を開発するため、以下のことを検討する。①一次侵害受容ニューロンの過敏化プロセスの分子レベルでのさらなる理解、②培養三叉神経節細胞への標的分子の導入が及ぼす影響の観察、③一次ニューロン過敏化プロセスを選択的に抑制する分子標的治療の開発。

2. 研究の進捗状況

(1) 三叉神経刺激モデル作製

麻醉下 (ペントバルビタール 50mg/kg) ラットの眼下窩神経を剖出し、絹糸 (2 本) をゆるく結紮することにより、三叉神経刺激モデルを作製した。眼下窩神経の支配部位の皮膚を知覚閾値計を用いて計測したところ、神経刺激モデルでは閾値が低下していた。これは、三叉神経痛患者の臨床症状と類似しており、神経刺激モデルが作製できたことを示している。

(2) 三叉神経刺激モデルにおける三叉神経節細胞からの伝達物質の遊離の変化

ペントバルビタール麻醉下 (75mg/kg) で、断頭・除脳後、三叉神経節を摘出し、コラーゲナーゼおよびトリプシンを用いて神経細胞を単離した。単離した神経節細胞は poly-D-lysine 処理を行ったカバーガラス上で培養した。三叉神経節細胞を神経刺激モデルとコントロールモデルに分類して、FM4-64 を投与し、神経伝達物質の遊離を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、三叉神経刺激モデルでは伝達物質の遊離が速く、遊離量が多いことが理解できた。また、改良 A 型ボツリヌス毒素をラット末梢皮膚に投与することにより、三叉神経節細胞における伝達物質の遊離が抑えられることが理解できた。

(3) 三叉神経刺激モデルにおける改良 A 型ボツリヌス毒素の疼痛抑制効果

三叉神経刺激モデルを作製し、疼痛閾値が減少しているラットに対し、改良 A 型ボツリヌス毒素を神経支配領域皮内に注射したところ、知覚閾値がベースラインレベルまで回復した。また、この効果は数週間持続することが理解できた。また、顔面部の熱刺激に対する効果を検討するため、計測機器のセットアップを行い、コントロールラットでの計測を開始した。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

当初、計画していた三叉神経刺激モデルの

作製、刺激モデルにおける三叉神経節細胞からの神経伝達物質の遊離状況、刺激モデルに対する毒素投与の効果は解明することができた。今後は、ボツリヌス毒素が三叉神経節内でどのように移動するのかを解明する予定である。

4. 今後の研究の推進方策

三叉神経刺激モデルにおける、改良A型ボツリヌス毒素投与後の熱刺激に対する閾値の変化を詳細に観察する。また、ボツリヌス毒素を末梢に投与した場合に生じる知覚神経節における伝達物質遊離の低下の要因を探るため、伝達物質遊離に関するタンパクやDNAの変化を観察する。さらに、ボツリヌス毒素の知覚神経内での走行を観察するため、ボツリヌス毒素あるいはボツリヌス毒素重鎖を蛍光色素で標識して、走行を観察する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

① Kitamura Y, Matsuka Y, Spigelman I, Ishihara Y, Yamamoto Y, Sonoyama W, Kamioka H, Yamashiro T, Kuboki T, Oguma K. Botulinum toxin type A (150 kDa) decreases exaggerated neurotransmitter release from trigeminal ganglion neurons and relieves neuropathy behaviors induced by infraorbital nerve constriction. *Neuroscience* 査読有 159:1422-1429, 2009.

② 松香芳三, 北村洋一, 山本由弥子, 園山亘, I. Spigelman, 小熊恵二, 窪木拓男. 三叉神経痛治療のための薬物治療法の開発. *日本歯科医学会誌* 査読有 28:49-53, 2009.

③ Matsuka Y, Ono T, Iwase H, Mitirattanakul S, Omoto KS, Cho T, Lam YYN, Snyder B, Spigelman I. Altered ATP release and metabolism in dorsal root ganglia of neuropathic rats. *Molecular Pain* 査読有 4:66, 2008.

[学会発表] (計2件)

① Kitamura Y, Matsuka Y, Spigelman I, Ishihara Y, Akther R, Yamamoto Y, Sonoyama W, Oguma K, Kuboki T. Peripheral administration of Botulinum toxin type A blocks neurotransmitter release from somata of trigeminal ganglion neurons and alleviates neuropathy symptoms. Society for Neuroscience, 2008年11月18日, Washington DC.

② Matsuka Y, Kitamura Y, Spigelman I, Akther R, Yamamoto Y, Sonoyama W, Oguma K and Kuboki T. The effect of peripheral administration of botulinum toxin type A in neuropathic pain rats. *Botulinum and Tetanus Toxins 2008*, 2008年6月12-14日, Baveno.

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

①ボツリヌス毒素由来のポリペプチドを有効成分として含む鎮痛作用を有する医薬組成物, 窪木拓男, 松香芳三, 小熊恵二, 北村洋一, 特願2008-182218, 出願日:2008/7/14, 優先権:基礎, 国内

[その他]

①松香芳三. 岡山大学産学官融合センター研究シーズ集4 (医歯薬学系) 45-46, 2008.

②窪木拓男, 松香芳三, 小熊恵二, 北村洋一. ボツリヌス毒素由来のポリペプチドを有効成分として含む鎮痛作用を有する医薬品. 岡山県産業振興財団 岡山TLO技術シーズ集10, 2008.