

機関番号：13101

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20791502

研究課題名 (和文) 下歯槽神経における神経因性疼痛に関与するセロトニンと受容体の解明

研究課題名 (英文) Elucidation of the role of serotonin and serotonin receptors in neuropathic pain in inferior alveolar nerve.

研究代表者

弦巻 立 (Tsurumaki Tatsuru)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：10345522

研究成果の概要 (和文)：神経結紮による触覚過感受性モデルラット作成法に準じて、下歯槽神経結紮による神経因性疼痛モデルを確立することができた。ラット下歯槽神経の摘出神経標本において RT-PCR によりセロトニン受容体サブタイプのうち少なくとも 1B, 1F, 2A, mRNA が発現していることが確認できた。しかし、これらの受容体発現は神経因性疼痛モデルの摘出神経標本で有意な変化を認めなかった。

研究成果の概要 (英文)：I created an experimental animal model of neuropathic pain on the inferior alveolar nerve by using a modified method of the neuropathy model created by Yonehara et al. 5-HT1B, 1F, 2A mRNAs were detected by RT-PCR in rat inferior alveolar nerve. However, expressions of serotonin receptors mRNAs were not shown significant change.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：外科系歯学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：神経因性疼痛、セロトニン

1. 研究開始当初の背景

疼痛メカニズムは極めて複雑であり、複雑なメカニズムゆえに疼痛に関わる物質も多岐にわたっており、さまざまな物質とその受容体の関与が示唆されている。セロトニンはさまざまな働きを担う神経伝達物質のひとつであるが、痛覚にも関与していると考えられている。セロトニンには7種類の受容体サブクラスとさらにそのサブタイプに分類されており、神経因性疼痛への関与を示唆する報告もあるが、関連受容体は不明な点も多い。

下歯槽神経の損傷に伴うと思われる神経因性疼痛を経験することは歯科医として

臨床で経験することであり、歯科領域における疼痛管理は患者のQOLを維持するために重要である。また歯科での患者の主訴の半数以上が疼痛によるものであることを鑑みても、本研究は難治性である神経因性疼痛の原因解明の一助となる研究となることと考えられる。

2. 研究の目的

極めて複雑な疼痛メカニズムの一端を担っていると考えられるセロトニンに着目し、下歯槽神経での神経因性疼痛に関与するセロトニンとその受容体を明らかにすること

で、口腔領域での神経因性疼痛に対するセロトニンシステムの基礎的な解明を図ることを目的とする。

このため、神経因性疼痛のモデルラット確立し、下歯槽神経での受容体発現変化を動物により再現することならびに生化学的手法による受容体の検索と疼痛との関連を容易にする。

3. 研究の方法

- (1) 神経因性疼痛モデルラットの確立と、薬物投与による反応には行動生理学的、薬理学的実験手法を用いる。
- (2) セロトニン受容体を網羅的に検索するためには、生化学的に RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) を用いて下歯槽神経に発現している mRNA を検索する。
- (3) 発現しているセロトニン受容体の疼痛による変化には、ウェスタンブロット、もしくは免疫染色によって生化学的、解剖学的に検索する。

4. 研究成果

1) 神経因性疼痛モデルラットの確立

Yonehara ら (Brain Res. 2003) による下歯槽神経結紮による触覚過感受性モデルラット作成法に準じて、神経結紮による神経因性疼痛モデルを確立した。下歯槽神経結紮後の神経因性疼痛を評価する方法は、Yonehara らの方法に準じ、von Frey filament を用いて下顎のオトガイ孔周辺歯肉と下唇を刺激し、疼痛誘発側 (患側) と、結紮していないコントロール側 (健側) を同一固体で比較し、接触からの逃避行動を指標とした。

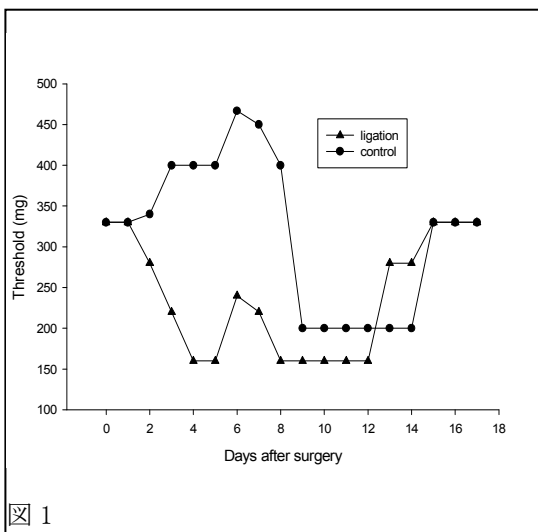


図 1

神経結紮部位はラットの下歯槽神経を下顎孔に侵入する直前にナイロン糸で結紮した。

結紮前後でのコントロール側と疼痛誘発側での von Frey filament による接触刺激からの逃避行動は以下のとおりであった。

図 1 のとおり結紮後接触反応への閾値は患側で低下しており、健側では上昇する傾向が認められた。

結紮 1 2 日後からは、ほぼ同程度の反応となった。

患側での閾値低下とその回復は yonehara らの報告とほぼ一致する。健側での上昇は報告と異なるが、これは、例数の差もしくは、手術侵襲の差による組織の炎症反応などによるものと考えた。

(2) ラット下歯槽神経におけるセロトニン受容体サブタイプ mRNA 発現の検討

セロトニン受容体サブタイプは 1A、1B、1D、1E、1F、2A、2B、2C、3、4、5A、5B、6、7 の 14 種類がクローニングされておりこのうち、1E を除く 13 種類についてそれぞれ現在までに報告されている遺伝子配列をもとに特異的なプライマーを作成し、RT-PCR により mRNA 発現を検討した。

図 2 から図 4 に発現の認められた受容体について結果の電気泳動写真を示す。写真はすべて左のレーンから分子量マーカー、全脳摘出標本、下歯槽神経標本の結果である。



図 2 5-HT_{1B} 受容体

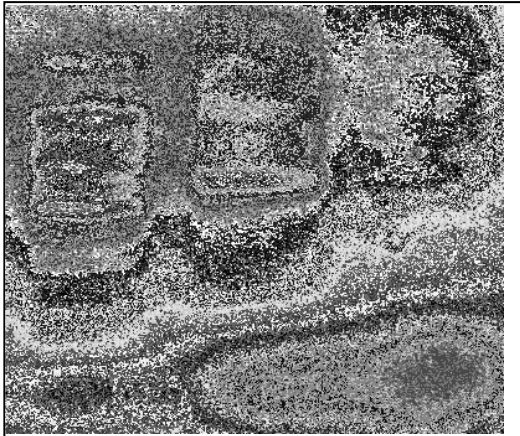


図3 5-HT_{1F}受容体



図4 5-HT_{2A}受容体

図2, 3, 4は発現が認められたセロトニン受容体の1B, 1F, 2AmRNAのバンドである。これら3つの受容体mRNAはラット下歯槽神経摘出標本に明らかに発現していると考えられた。

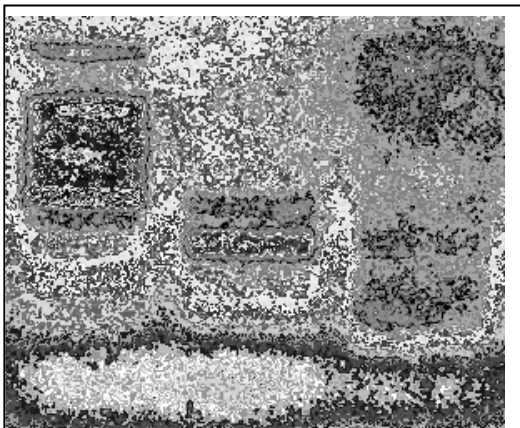


図5 5-HT_{1D}受容体

図5に下歯槽神経で発現の認められなかったセロトニン受容体の代表例として5-HT_{1D}受容体を示す。このように、ポジティブコントロールとしての脳から抽出したRNAからは発現が認められるものの、下歯槽神経から抽出したRNAからは発現が認められなかった受容体が10種類であった。

(3) 神経因性疼痛モデルでのセロトニン受容体発現変化

作成した下歯槽神経結紮による神経因性疼痛モデルラットの結紮側ならびにコントロール側から、手術10から12日後に下歯槽神経を摘出し、RNAを抽出、セロトニン受容体のプライマーを用いてRT-PCRにより受容体mRNA発現の変化を検討した。

内部コントロールとしてGAPDHを用いて結紮側とコントロール側での発現量を比較しようと試みたが、両者に有意な差を認めなかった。

また、ウェスタンブロットによる受容体タンパクの発現量変化をみようとしたが、実験条件が整わず、結果を得られるに至らなかった。

ラット下歯槽神経を結紮して神経の末梢におけるセロトニンとその受容体の働きを解明するため研究を行ったが、末梢神経線維(シュワン細胞)においてなんらかの変化が期待できたが、残念ながら証明することができなかった。

5. 主な発表論文等

(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0件)

〔学会発表〕(計1件)

- ① 弦巻立 他2名、ラット下歯槽神経におけるセロトニン受容体サブタイプmRNA発現の検討、第38回日本歯科麻酔学会学術集会、2010、

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

弦巻 立 (Tsurumaki Tatsuru)
新潟大学・医歯学系・助教
研究者番号：10345522

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：