

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792259

研究課題名(和文) グリアをターゲットとした口腔顔面の神経障害性疼痛治療法の開発を目指した基礎研究

研究課題名(英文) Basic research of orofacial neuropathic pain mechanisms for novel therapy

研究代表者

鈴木 郁子 (SUZUKI, Ikuko)

日本大学・歯学部・研究員

研究者番号：60459906

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：三叉神経第2枝結紮(ION-CCI)ラットを用いて、顎顔面部への機械および熱刺激に対する逃避反射閾値、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)における extracellular signal-regulated kinase(ERK)のリン酸化、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)の神経活動を解析した。ION-CCIにより侵害刺激に対する逃避反射閾値およびVcニューロン活動は有意に低下した。ERKリン酸化阻害薬の髄腔内投与により、その低下は抑制された。しかし非侵害刺激に対するVcニューロン活動は抑制されなかった。ION-CCIにより発症する痛覚過敏はVcニューロンにおけるERKリン酸化が関与している。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the involvement of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade in orofacial neuropathic pain mechanisms. The nocifensive behavior was significantly enhanced in chronic constriction nerve injury of the infraorbital nerve (ION-CCI) rat. ION-CCI rats had an increased number of phosphorylated ERK immunoreactive (pERK-IR) cells. After intrathecal administration of the MEK1 inhibitor PD98059 in ION-CCI rats, the enhanced thermal nocifensive behavior but not the mechanical nocifensive behavior were significantly reduced in ION-CCI rats. The responses of wide dynamic range neurons to noxious mechanical and thermal stimulation in ION-CCI rats were significantly depressed following i.t. administration of PD98059, whereas responses to non-noxious mechanical and thermal stimulation were not altered. The present findings suggest that pERK-IR neurons play a pivotal role in the development of thermal hypersensitivity in the face following trigeminal nerve injury.

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：神経障害性疼痛 機械痛覚過敏 熱痛覚過敏 MAPキナーゼ 三叉神経脊髄路核尾側亜核

### 1. 研究開始当初の背景

歯科臨床において、三叉神経が損傷されると口腔顔面領域に、通常痛みを誘発しないような触刺激により疼痛が惹き起こされるアロデニアや、侵害刺激に対する反応が増強する痛覚過敏などの疼痛異常を発症することが知られている。このような痛みは、末梢神経の切断や挫滅などの損傷が原因となることから、神経障害性疼痛と呼ばれている。この症状は難治性であり、非ステロイド性抗炎症薬やモルヒネのような鎮痛薬はほとんど効かないことから、未だ有効な治療法がなく臨床の場において非常に大きな問題となっている。

### 2. 研究の目的

口腔顔面領域の神経障害性疼痛は、その神経機構が不明であるために適切な治療方法がなく、四肢の領域の治療方法がそのまま用いられている。最近、我々は三叉神経損傷後に三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) の活性化型グリアが神経障害性疼痛の発症に重要な働きをなすことを発見し、グリアをターゲットにした治療法の可能性を提唱した。そこで、本研究では三叉神経第二枝結紮モデルラットを用いて、末梢神経損傷がいかなるメカニズムで Vc 神経細胞活動の増強に関与するかを機能面から解明し、口腔顔面領域の神経障害性疼痛の新たな治療法の開発を目指した基礎研究を推進する。

### 3. 研究の方法

(1) 神経障害性疼痛モデル動物の作製  
本研究には、ION-CCI モデル動物を用いる。体重 250 ~ 350 g の Sprague-Dawley 系雄性ラットを使用し、Imamura ら (Imamura Y et al., 1997) の方法に従って、ION-CCI モデルラットを作製する。ラットを pentobarbital Na (50mg/kg, i.p.) で麻酔し、口腔内からアプローチし、三叉神経第二枝である眼窩下神経を 4.0 クロミックガットによって緩く 2ヶ所結紮し、口腔粘膜を縫合する。また、sham ラットとして眼窩下神経を上記と同様の方法で露出した後、神経結紮を行わず縫合する。

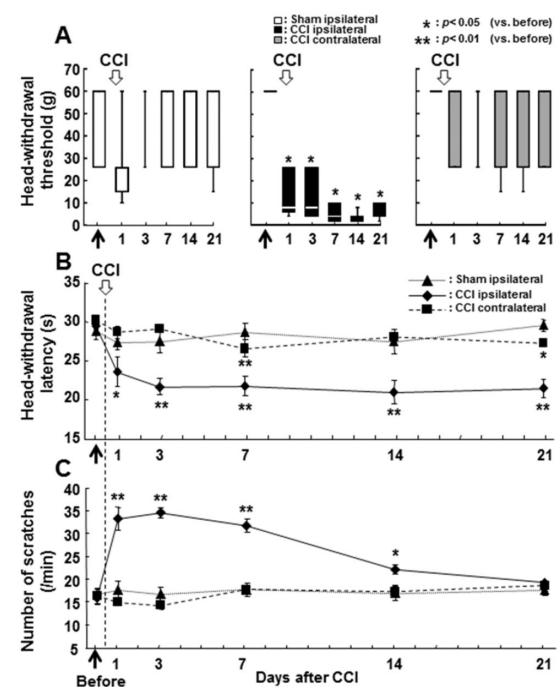
(2) ION-CCI ラットの侵害性行動に対するリン酸化 extracellular signal-regulated kinase (pERK) 阻害薬投与の効果  
本実験に使用する全てのラットに対し、CCI を施す前にラット口ひげ部への機械および輻射熱刺激に対する逃避閾値および潜時を計測する。ラットを測定用ボックスに入れ、壁面に設置されたノーズホールから口ひげ部を突き出せるように調節し、口ひげ部に機械刺激を与え逃避閾値を測定する。機械刺激には von Frey filament (Touch-TestTM

Sensory Evaluator, North Coast Medical Inc, CA) を用いる。各刺激強度について、それぞれ 10 回の試行を行い、初めて逃避行動を示した時の刺激強度を逃避行動閾値とする。また、輻射熱刺激に対する逃避潜時は輻射熱刺激装置を用い、3 回 3 分以上間隔をあけて測定し平均値を逃避潜時とする。本モデル動物に対して、浸透圧ポンプを用いて pERK 阻害薬 (PD98059) を髄腔内に持続投与し逃避行動の変化を観察する。

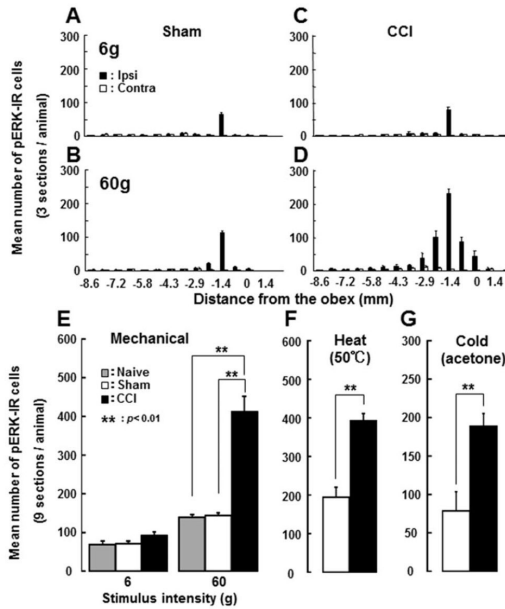
(3) ION-CCI ラットの侵害受容ニューロン活動に対する pERK 阻害薬投与の効果  
免疫組織学的研究により、最もグリアの活性化がみられた時期において、三叉神経脊髄路核から単一ニューロン活動を記録する。ION-CCI ラットおよび sham ラットを同様の方法で麻酔し、気管カニューレおよび大腿静脈に静脈カニューレを挿入する。脳定位固定装置に装着し、三叉神経脊髄路核を露出する。硬膜および軟膜を切除した後、エナメルコートしたタングステン微小電極にて単一ニューロン活動を記録する。顔面皮膚に機械刺激を与え、各ニューロンの受容野を同定する。ついで、受容野に対する侵害刺激、非侵害刺激および温度刺激を与え、各刺激に対する反応性を解析する。その後、延髄表面に PD98059 を投与し、ニューロンの活動性変化について解析する。

### 4. 研究成果

ION-CCI により、顎顔面部への機械および熱刺激に対する逃避反射閾値は有意に低下した。

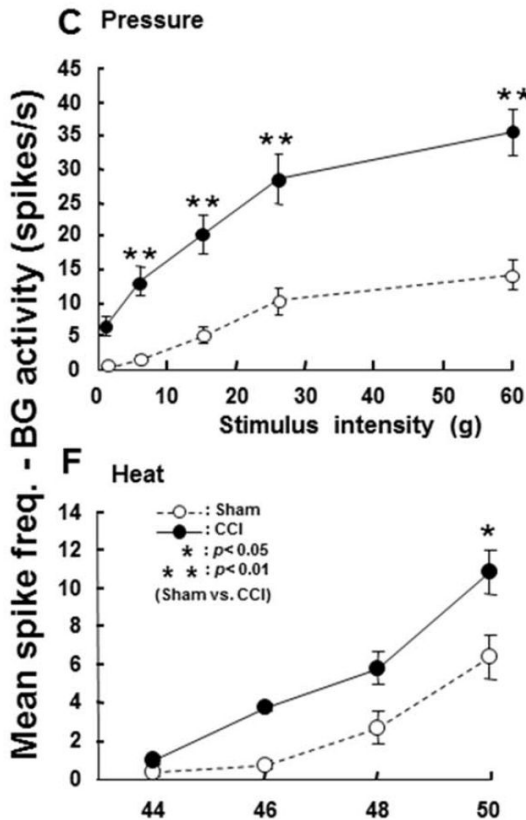


ION-CCI ラットにおいて顎顔面部に対する侵害刺激により、三叉神経脊髄路核尾側亜核において pERK 陽性神経細胞数が有意に増加した。非侵害機械刺激により pERK 陽性

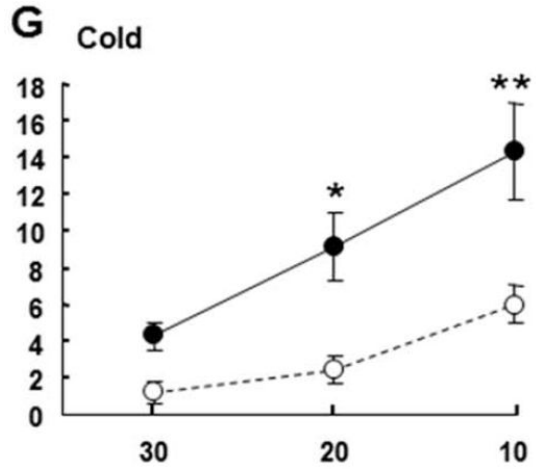


神経細胞数は増加しなかった。

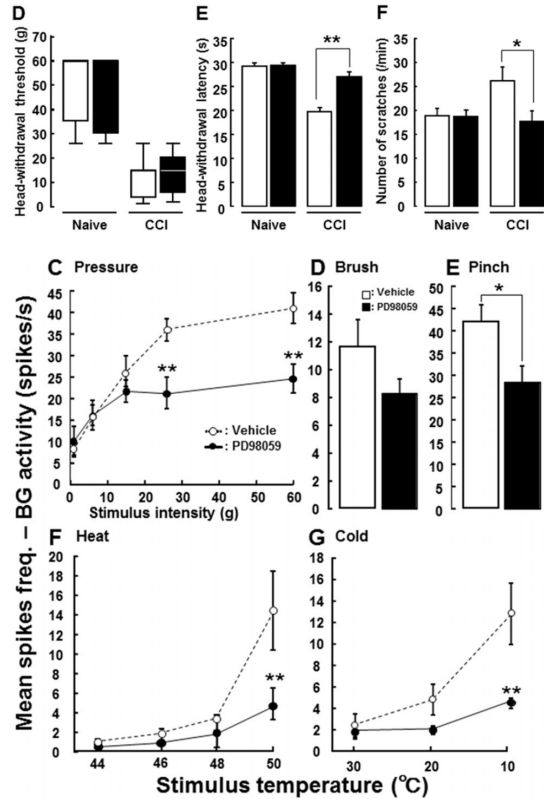
ION-CCI ラットにおいて顎顔面部に対する侵害刺激により、三叉神経脊髄路核尾側亜核の神経活動が有意に増加した。非侵害機



械刺激により神経活動は増加しなかった。



ION-CCI による顎顔面部に対する侵害刺激に対する逃避反射閾値の低下およびニューロン活動の増加は PD98059 の髄腔内投与によって有意に抑制された。非侵害機械刺激



に対しては抑制されなかった。

今後の展望

本研究は、神経障害性疼痛の新たな基礎的知見を提供するものである。今後、ERK のリン酸化を標的にした薬物に着目することにより、三叉神経系に発症する神経障害性疼痛に対する新たな治療法の開発につながる可能性があり、臨床的に非常に新奇性の高い重要な研究テーマである。

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)

研究者番号：

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Suzuki I, Tsuboi Y, Shinoda M, Shibuta K, Honda K, Katagiri A, Kiyomoto M, Sessle BJ, Matsuura S, Ohara K, Urata K, Iwata K. Involvement of ERK phosphorylation of trigeminal spinal subnucleus caudalis neurons in thermal hypersensitivity in rats with infraorbital nerve injury. PLoS One. 査読有 2013;8(2):e57278  
doi: 10.1371/journal.pone.0057278.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

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

鈴木 郁子 (SUZUKI, Ikuko)  
日本大学・歯学部・研究員  
研究者番号：60459906

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )