

氏 名	やま もと じゅん き 山 本 潤 希
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	薬 博 第 466 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 生 命 薬 科 学 専 攻
学位論文題目	痛覚受容および疼痛関連情動反応における扁桃体の役割に関する行動ならびに分子薬理学的研究

論文調査委員 (主 査)
教 授 佐 藤 公 道 教 授 市 川 厚 教 授 赤 池 昭 紀

論 文 内 容 の 要 旨

臨床において慢性痛等により惹起される不快な情動を軽減することは、痛みそのものを寛解することと同様に重要である。一方、扁桃体は脳辺縁系に属し、外部からの感覚刺激入力に対する情動発現に関与していることが知られており、これらの感覚刺激入力の一つとして痛覚についても扁桃体の関与が示唆されている。しかし、痛覚受容および疼痛関連情動反応における扁桃体の役割を明らかにするためには、扁桃体を構成する個々の亜核の機能差を考慮に入れた厳密な検討が必要となる。これまでの研究により、扁桃体の亜核のなかでも特に基底外側核 (BLA) において μ オピオイド受容体や内因性オピオイドペプチドの強い発現が確認されている。そこで本研究において著者はこの BLA に着目し、BLA への薬物微量投与法を確立すると共に、麻薬性鎮痛薬であるモルヒネの局所微量投与による各種侵害刺激に対する受容閾値の変化を詳細に検討した。また、末梢性の侵害刺激による扁桃体ニューロンの活性化を c-fos mRNA 発現を指標として検討し、さらに侵害受容および疼痛関連情動反応に対する BLA におけるグルタミン酸の関与について検討を行い、以下の新知見を得た。

第一章 扁桃体基底外側核へのモルヒネ微量投与による抗侵害受容作用

ラット BLA へのモルヒネの微量投与による痛覚への影響を、各種鎮痛検定法により行動薬理学的に検討した。BLA 両側へモルヒネを微量投与することにより、ラット後肢への機械的圧刺激に対する侵害受容閾値の有意な上昇、および、ホルマリン後肢足底投与により惹起される疼痛関連行動の有意な抑制が認められ、また、モルヒネによるこれらの作用はいずれも BLA へのナロキソン同時投与によりほぼ完全に拮抗された。一方、tail flick test および hot plate test において熱刺激に対する侵害受容閾値に有意な変化は認められなかった。また、機械的および化学的刺激に対して有意な抗侵害受容作用を示した用量のモルヒネを BLA へ微量投与しても運動活性ならびに運動機能に対しては何ら影響を及ぼさなかった。これらの結果から、モルヒネは BLA に存在するオピオイド受容体を介して抗侵害受容機構を活性化していることが示唆される。

第二章 体性および内臓感覚侵害刺激により活性化される扁桃体亜核の同定

ラットに体性および内臓感覚の侵害刺激を与えた際の扁桃体ニューロンの活性化を c-fos mRNA 発現を指標として、in situ hybridization 法 (ISH) により検討した。後肢足底へのホルマリン投与による体性感覚侵害刺激を与えたラットの扁桃体では、主に BLA を含む基底外側核群で c-fos mRNA 発現誘導が認められたが、中心核や皮質内側核群ではその発現はほとんど観察されなかった。一方、腹腔内への酢酸投与による内臓感覚侵害刺激を与えたラットの扁桃体では、中心核において強い発現誘導が認められた。このことから、体性感覚侵害刺激は主に扁桃体の基底外側核群のニューロンを、内臓感覚侵害刺激は中心核のニューロンを、それぞれ活性化していることが示唆され、扁桃体の亜核がそれぞれ異なった感覚入力を受けその情報を処理していると考えられる。

第三章 侵害受容および疼痛関連情動反応に対する扁桃体基底外側核におけるグルタミン酸の関与

まず、末梢性に侵害刺激を与えた際の BLA における細胞外グルタミン酸量の経時変化を in vivo microdialysis 法により検討した。ラットの片側後肢足底へのホルマリン投与による持続的な侵害刺激により、BLA で投与後60分以上にわたる持

持続的かつ有意な細胞外グルタミン酸量の増加が認められた。一方、腹腔内への酢酸投与により、投与後15分から20分をピークとし、30分以降は元のレベルに戻る一過性の細胞外グルタミン酸量の増加が観察された。次に、ホルマリン足底投与により誘発されたBLAにおける細胞外グルタミン酸量の持続的な増加の意義を検討するために、ホルマリン誘発侵害受容反応に対する各種グルタミン酸受容体アンタゴニストのBLAへの微量投与による影響を検討した。しかしながら、MK-801 (NMDA受容体アンタゴニスト)、CNQX (non-NMDA受容体アンタゴニスト)、AP-3 (代謝型グルタミン酸受容体アンタゴニスト)のBLAへの前投与はいずれもホルマリン誘発侵害受容反応に対して、有意な影響を与えなかった。次に、ホルマリン誘発疼痛関連情動反応に対する影響を検討するために、条件付け場所嫌忌行動 (conditioned place aversion; CPA) テストを行った。まず、ホルマリン足底投与の侵害刺激による条件付けにより、対照群と比較して有意にCPAが惹起されることを確認した。このホルマリン刺激の条件付けにより惹起されるCPAは、MK-801をBLAに両側性に前投与することで完全に抑制されたが、CNQXおよびAP-3の前投与では有意な影響は認められなかった。以上より、ホルマリン足底投与による持続的な侵害刺激により、BLAにおいて細胞外グルタミン酸量が持続的に増加し、BLAにおけるNMDA受容体を介して、侵害刺激により惹起される情動反応の発現に関与していることが示唆される。

以上、著者は、BLAへ微量投与されたモルヒネが、機械的侵害刺激およびホルマリンによる化学的侵害刺激に対して抗侵害受容作用を有することを見だし、扁桃体が痛覚の制御に関与していることを示した。また、体性感覚および内臓感覚侵害刺激は、それぞれ扁桃体の基底外側核群および中心核のニューロンを主に活性化させることを示し、扁桃体の亜核間における機能差を見いだした。さらに、ホルマリン刺激による持続的な侵害刺激により、BLAでの細胞外グルタミン酸量が持続的に増加すること、このグルタミン酸がNMDA受容体を介して、疼痛関連情動反応を惹起するメカニズムに関与していることを示した。本研究の成果は、高次脳における痛覚制御機構および、痛覚情報と情動反応を担う神経機構との相互関係の全容解明のための重要な基礎的知見を供するものである。

論文審査の結果の要旨

痛み、特に慢性痛には不快な情動が伴う。このような情動の高位中枢として大脳辺縁系が知られているが、その中でも扁桃体は外部刺激によって惹起される痛覚を含む感覚情報に対する情動発現に関与することが示唆されてきた。扁桃体には神経線維連絡や機能において違いのある亜核が存在しているので、痛みに関連した扁桃体の役割に関しても、個々の亜核を区別して解析する必要がある。従来の研究により、扁桃体亜核の中でも基底外側核 (BLA) には μ オピオイド受容体や内因性オピオイドペプチドが多く発現していることが確認されている。本研究において著者は、主としてBLAの痛覚受容および疼痛関連情動反応における役割を諸種の方法により検討し、以下の新知見を得た。

第一章 扁桃体基底外側核へのモルヒネ微量投与による抗侵害受容作用

ラットBLAへのモルヒネ微量投与により、後肢への機械的圧刺激に対する侵害受容閾値の有意な上昇、およびホルマリン後肢足底内注射によって惹起される疼痛関連行動の有意な抑制が認められたが、熱刺激を用いるtail flick法やhot plate法においては影響は認められなかった。また上記のモルヒネの作用はBLAへのナロキソンの同時投与により完全に拮抗された。これらの結果から、モルヒネはBLAにあるオピオイド受容体を介して抗侵害受容機構を活性化していることが示唆される。

第二章 体性および内臓感覚侵害刺激により活性化される扁桃体亜核の同定

体性および内臓感覚の侵害刺激を与えたときのラット扁桃体ニューロンの活性化をc-fos mRNA発現を指標としてin situ hybridization法で調べた結果、体性感覚持続的侵害刺激であるホルマリンの後肢足底内注射によって、主としてBLAを含む基底外側核群でc-fos mRNA発現誘導が認められたが、中心核や皮質内側核群ではほとんど発現しなかった。一方、内臓感覚侵害刺激として酢酸を腹腔内注射した場合には、主として中心核においてc-fos mRNAの強い発現誘導が認められた。これらの結果は、扁桃体の亜核がそれぞれ異なる侵害情報入力を受け、情報処理を行っていることを示唆している。

第三章 侵害受容および疼痛関連情動反応に対する扁桃体基底外側核におけるグルタミン酸の関与

ラット末梢組織に侵害刺激を加えたときのBLAにおける細胞外グルタミン酸量の経時的変化をin vivo microdialysis法により検討した結果、片側後肢足底へのホルマリン注射 (持続的体性感覚侵害刺激) によっては注射後60分以上にわたる持

続的且つ有意な増加が観察されたが、酢酸腹腔内注射（内臓感覚侵害刺激）によっては15～20分をピークにする一過性の増加のみが認められた。次に、ホルマリン後肢足底内注射により誘発される BLA 内細胞外グルタミン酸量の持続的増加の意義を、各種グルタミン酸拮抗薬を BLA 内に微量注射して検討した結果、ホルマリン誘発侵害受容反応に対しては影響しないが、条件付け場所嫌忌行動テストで調べたホルマリン誘発疼痛関連情動反応を NMDA 受容体拮抗薬が抑制することを見いだした。すなわち、ホルマリン後肢足底注射による持続的侵害刺激によって BLA 内で増加した細胞外グルタミン酸は、BLA 内の NMDA 受容体を介して、侵害刺激に対する情動反応の発現に寄与することを明らかにした。

以上著者は、扁桃体の亜核である BLA が、オピオイド系による痛覚制御およびグルタミン酸（NMDA 受容体）による疼痛関連情動反応の惹起に深く関与していることを明らかにし、また、BLA と中心核では、それぞれ異なる侵害情報入力・情報処理が行われている可能性を指摘した。これらの成果は、高次脳における痛覚情報伝達・制御と情動反応に関与する神経機構の相互関係解明への基礎的知見を提供するものである。

よって、本論文を博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

さらに、平成13年2月26日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。