

氏名	吉田明弘
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第 1448 号
学位授与の日付	平成8年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	末梢神経損傷に起因する脊髄後角感覚性ニューロンの侵害刺激に対する過剰応答の成立に関する実験的研究
論文審査委員	教授 杉本朋貞 教授 足立 明 教授 西嶋克巳

学位論文内容の要旨

末梢受容野への侵害刺激が、脊髄後角侵害受容性2次ニューロンの細胞性癌遺伝子c-fosを活性化し、c-Fos蛋白が合成されることが知られている。このc-Fos応答を2次ニューロンの脱分極の組織化学的なマーカーとして2次ニューロンの体性局在が研究され、ラットの足趾を支配する坐骨神経からの侵害入力を受ける2次ニューロンは、同側の第4、5腰髄(L4、L5)第I/II層の内側3/4(坐骨神経領域)に、そのうち足底を支配する脛骨神経からの入力に応答するものは坐骨神経領域の内側半(脛骨神経領域)に、また足背と足の外側縁を支配する総腓骨神経からの侵害入力に応答するものは坐骨神経領域の外側半(腓骨神経領域)に局在することが知られている。この2次ニューロンの体性局在は、それぞれの神経の1次ニューロンの脊髄後角内終末域と極めてよく一致する。最近の研究で、ラットの脛骨神経を慢性的に切断結紮しておく、上記の体性局在が崩壊し、総腓骨神経の刺激に対し脛骨神経領域の2次ニューロンが異所性の応答を示し、腓骨神経領域の2次ニューロンも適所性ではあるが過剰の応答を示すことが明らかとなってきた。本研究では、これらの過剰反応性獲得機序を理解するため、L5後根切断あるいは脛骨神経挫滅を行った。

SD系雄性ラット(体重:200-250g)45匹を用いた。全ての手術および刺激は、ウレタン・ネンブタール腹腔内投与の全身麻酔下で行った。慢性的に片側のL5後根切断あるいは脛骨神経挫滅を行った後、両側足趾皮下に5%ホルマリン水溶液を注射して侵害刺激を行いc-Fosを誘発した。慢性の生存期間は、後根切断では3または33週、神経挫滅では2または3週とした。実験の対照は、同一個体の反対側に求めた。後根切断の対照側は実験側と同じL5後根切断を、神経挫滅の対照側には脛骨神経切断を、刺激の2~3日前に行った。なお、脛骨神経挫滅の実験では、対照側の脛骨神経切断と同時に実験側の脛骨神経も切断し、再生軸索による脊髄への入力を遮断した。刺激の2時間後、灌流固定し通法に従い、腰髄の50 μ m厚の凍結切片を作製後、PAP法でc-Fosの免疫組織化学的検出を行った。なお、数種類の予備実験により、ホルマリン刺激や神経損傷が反対側に及ぼす影響が僅少であることを確かめた。神経再生の確認は、脛骨神経を挫滅後、12日または19日目に同側の総腓骨神経と伏在神経を切断し、直後に足趾皮内にWGA-HRPを注入し、この2日後に灌流固定、

TMBを用いた組織化学染色で再生神経線維を介した越神経節性輸送の有無を判定した。

足趾刺激によりc-Fosを誘発されるニューロン (fosニューロン) は、正常動物の場合、L4、5の後角第I/II層の坐骨神経領域に集中しており、外側1/4には少なかった。さらに深層にもfosニューロンがみられたが、その数は少なく、内外側的な体性局在配列はみられなかった。後根切断の対照側ではfosニューロンの数は減少したが、特定の領域に強い減少傾向はみられなかった。3週および33週の慢性後根切断側では、それぞれの対照側と比較し、第I/II層において1.5倍のfosニューロンの増加がみられた ($p < 0.01$) が、深層では有意差は検出されなかった。神経挫滅の対照側 (脛骨神経の急性切断) では脛骨神経領域のfosニューロンはほとんどみられなくなり、腓骨神経領域や深層でも、fosニューロンの数が減少傾向を示した。2週の慢性挫滅側では、脛骨神経領域にfosニューロンがみられるようになり (対照側の2.5倍、 $p < 0.05$)、腓骨神経領域や深層でも対照側と比較してfosニューロンが増加する傾向がみられた。3週の慢性挫滅では、2週間でいったん増加したfosニューロンが再び減少し、全ての領域で対照側との間に差がみられなくなった。なお、3週の神経挫滅で、急性切断を付加せずに侵害刺激を加えたところ、脛骨神経領域に再生軸索を介したと思われるfosニューロンが多数観察された。また、WGA-HRPの越神経節性輸送は挫滅の3週間後に初めて観察された。

末梢軸索を切断された1次ニューロンには、一部の機能の亢進と他の機能の低下が報告されている。本研究で行った後根切断では、損傷を受けた1次ニューロンから脊髄への入力全てが失われるにもかかわらず、fosニューロンの増加がみられた。このことから2次ニューロンの過剰反応性の獲得には受傷1次ニューロンの機能低下が関与していると考えられる。さらに、受傷1次ニューロンの軸索が再生する場合、再生軸索が皮膚受容野に到達した時点で、過剰反応が消失することから、皮膚で合成され軸索輸送される化学物質が過剰反応性を抑制する可能性が示唆される。正常動物では、侵害刺激でc-Fos発現が誘導される2次ニューロンには投射ニューロンと介在ニューロンが含まれ、さらに抑制性のニューロンもc-Fosの誘発を受ける。したがって本研究で観察された2次ニューロンの過剰反応がただちに病的疼痛の機構であると解釈できる証拠はないが、この過剰反応自体またはその失調のいずれかが、外傷や外科手術の後遺症としてみられる幻肢痛など、痛みを伴う知覚障害の成立に関与していると考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究は、第5腰髄後根切断あるいは脛骨神経挫滅後、後足足蹠皮下にホルマリンを注入し、c-Fosタンパクの免疫組織化学染色を用いてラット第4、5腰髄後角の侵害受容性2次ニューロンのシナプス性応答を検索したものである。その結果、いずれの神経損傷においてもその慢性期に、侵害性感覚入力（侵害入力）を部分的に遮断された後角ニューロンが、残された第4腰髄後根あるいは総腓骨神経を介した侵害入力に対して過剰な応答を示すことが明らかとなった。この過剰応答は、神経線維の再生の起こらない後根切断の場合には33週間以上にわたって持続するが、神経挫滅の場合には再生線維が受容野である足蹠皮膚に到達する時期にほぼ一致して消滅する。この実験結果は口腔外科臨床において遭遇する外傷性の神経損傷、あるいは外科手術に伴う神経損傷の後遺症としての病的疼痛の発症機構を理解する上で重要な手掛かりとなるばかりでなく、それら疼痛の予防・治療に関する基礎的研究の方向性を示すものである。

よって本研究者は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。