

論文要旨等報告書

氏名	熊田 愛
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博 甲 第 4 3 4 7 号
学位授与の日付	平成 2 3 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	改良A型ボツリヌス毒素の末梢投与による三叉神経障害性疼痛に対する鎮痛効果
論文審査委員	教授 杉本 朋貞 教授 大原 直也 教授 窪木 拓男

学位論文内容の要旨

【緒言】

三叉神経障害性疼痛は、三叉神経領域に生じる慢性的な疼痛であり、治療に用いられる抗てんかん薬や抗うつ薬などはめまいやふらつきなどの中枢性副作用のため、継続服用困難であることが多い。そこで、中枢性副作用を誘発しない薬剤の開発が望まれており、末梢知覚神経節での神経伝達物質の遊離を抑制することは新しい治療法となる可能性がある。本研究では三叉神経の枝である眼窩下神経 (infraorbital nerve: IoN) 結紮により温熱刺激に対する痛覚過敏が誘発されるのか、ならびに神経伝達物質遊離を抑制する改良 A 型ボツリヌス毒素 (BoNT/A) 投与により痛覚過敏が軽減されるのかを検討した。

【方法】

1. 三叉神経障害性疼痛モデルの作製

本研究は、岡山大学動物実験委員会承認のもとに行った。6 週齢雄性 Sprague-Dawley 系ラット (200-300g) の両側 IoN を剖出し、2 本の絹糸 (4-0) にて緩く結紮し、皮膚をナイロン糸 (4-0) にて縫合した。比較対照群として IoN の剖出、疑似手術を行い、結紮は行わず皮膚を縫合した。

2. 温熱刺激に対する疼痛閾値の測定

本実験ではラット自由行動下での反応を観察した。実験用 BOX は底面がアルミ箔により裏打ちされたアクリル製のケージを使用し、ウォータポンプに接続した金属チューブへ温水 (45℃) が循環するように設定した。本システムではラットがボトルからミルクを飲む時に除毛された皮膚の表面が金属チューブに接触し、閉回路が形成されることにより、オンラインで接触時間と接触回数を記録できる。測定前 24 時間は絶飲絶食とした。また同時にミルクの消費量を測定した。

3. BoNT/A の末梢皮内投与

温熱刺激に対するラットの逃避反応確認後に BoNT/A をラット両側頬髭部中央の皮内に注射した (両側での BoNT/A 総量は 0, 2, 100 または 200pg)。また対照群として BoNT/A 100pg とともに抗 BoNT/A 抗体を投与した。温度刺激によるテストは手術 14 日後 (注射 7 日後) に実施した。

4. 統計解析

結果は平均値±標準偏差を用いて示した。平均値の差は対応のある t 検定、一元配置分散分析、または繰り返しのある二元配置分散分析により評価した。統計解析には Sigma Stat 3.11 を用いた。

【結果】

1. IoN 結紮における疼痛行動の変化

IoN 結紮群（手術 7 日後）の接触回数は増加傾向を示し、1 回あたりの接触時間は有意に減少した。ミルク摂取量は日数経過により増加し、IoN 結紮群と疑似手術群間に差は認めなかった。

2. IoN 結紮ラットの疼痛行動に対する BoNT/A 末梢皮内投与の効果

温熱刺激に対する IoN 結紮後の総接触時間は BoNT/A 投与により変化しなかったが、接触回数は減少した。さらに BoNT/A 効果は用量依存的であり、BoNT/A 投与後 100 および 200 の pg 投与量では 1 回あたりの接触時間が増加した。一方、疑似手術群では BoNT/A 投与による効果は認めず、BoNT/A 100pg 抗 BoNT/A 抗体を同時に投与した群では BoNT/A の効果は観察されなかった。また、BoNT/A の末梢皮内への投与によるミルク摂取量に変化は観察されなかった。

【考察】

本研究では IoN 結紮により温熱性痛覚過敏が誘発されることが示された。Kitamura らは IoN 結紮による接触性アロディニアを測定し、IoN 支配領域への 100pg BoNT/A 投与がアロディニア症状を 44%以下に抑制することを確認している。今回の温熱刺激性痛覚過敏データは、片側あたり 50 および 100pg の BoNT/A を投与した場合、それぞれ 80 および 100%抑制されたことが確認された。このことから BoNT/A は接触性アロディニアと比較して、温熱性痛覚過敏に対する方がより効果的であると考えられる。

BoNT/A の温熱刺激性痛覚過敏に対する効果の詳細なメカニズムは知られていないが、Kitamura らが報告したように三叉神経節細胞からの神経伝達物質の遊離を抑制することで温熱性痛覚過敏の症状を低下することが考えられる。また TRPV1 は直径が小～中等度の末梢知覚神経節細胞に多く発現し、温熱刺激により活性化されることが示されていることから、BoNT/A が TRPV1 の活性を抑制した可能性も考えられる。

他の研究者は BoNT が神経内を逆行性に輸送されると報告している。今回の研究では、BoNT/A の輸送については間接的な証拠を認めるのみであるが、今後、標識した BoNT/A を使用することでこの問題は解決されるものと考えている。また、BoNT/A による神経障害性疼痛症状の緩和に関する長期的な変化を解明することも重要である。

【結論】

今回、ラットの両側 IoN を結紮することにより、自由行動ラットにおける持続的な温熱性痛覚過敏が発現され、BoNT/A の末梢投与が温熱性痛覚過敏の疼痛症状を軽減することを証明した。以上から、本研究結果は、神経障害性疼痛の発症メカニズムの解明に大きく貢献するとともに、BoNT/A の末梢投与は、神経障害性疼痛患者に対して中枢性作動薬を用いる治療法に取って代わる有意義な治療法となる可能性を示唆するものである。