

論文の内容の要旨

氏名：越前谷 澄 典

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：痒み刺激により延髄および上部頸髄ニューロンに誘導される extracellular signal-regulated kinase のリン酸化

これまでの多くの研究により、痒みの発症には C-線維の末梢端を形成している自由神経終末の膜上に存在する histamine 受容体が関与することが報告されている。しかし最近、histamine の刺激に対して特異的に反応する C-線維が同定され、痛みと痒みの情報処理は異なる末梢神経機構による可能性が考えられるようになってきた。脊髄レベルにおいては、ネコ足底への histamine 投与にのみ応答し、機械および温度侵害刺激には応答しない視床投射ニューロンが存在することが報告され、脊髄レベルにおいても histamine に特異的な応答を示すニューロンの存在が確かめられた。このようなニューロンは受容野が不明瞭で、histamine の投与のみに反応することから、histamine 特異ニューロンとして分類されている。また、c-Fos タンパクを調べた研究では、結合腕傍核に軸索を送る三叉神経脊髄路核の投射ニューロンにおいて、histamine、chloroquine および capsaicin を顔面皮下に注入することによって、侵害刺激と痒み刺激とが同一ニューロンを活性化する可能性も示されている。これらの報告から、痒みの情報処理において、三叉神経脊髄路核ニューロンは痒み特異的な応答を示すものと、侵害情報と痒み情報の両方の情報処理に関係したものが存在する可能性があると考えられる。本研究では、痒み刺激によって早期に活動するニューロンを視覚化する手段の一つとして、リン酸化 extracellular signal-regulated kinase (pERK) を指標とし、痒みを誘発することが知られている histamine を顔面皮下に投与することによって発現する pERK 陽性細胞の三叉神経脊髄路核および上部頸髄における分布様式を検索し、痒み感覚情報処理機構の一端を明らかにした。

麻酔ラットの左側口ひげ部皮下に histamine 溶液 (10 μ l, 5 μ g/ μ l) を投与し、trigeminal subnucleus caudalis (Vc) を含む延髄および upper cervical cord (C1-C2) 領域のニューロンにおける ERK のリン酸化について検索した。コントロール群は左側口ひげ部皮下に vehicle として 0.9%生理食塩水を投与した。各群とも、投与 5 分後に 4% paraformaldehyde 溶液を用いて灌流固定を行った。延髄および上部頸髄を摘出し、後固定の後、凍結切片を作製した。一次抗体に rabbit anti-phospho-p44/42 MAP kinase antibody を用い DAB 染色を施した。pERK 陽性細胞は細胞質および核が共に黒色に濃染された小型の円形を呈する介在ニューロンと推察される細胞と、線維状の構造物を有し比較的大型の楕円形の細胞体を有する投射ニューロンと推察される細胞が観察された。細胞質および核が黒色に濃染された細胞を免疫陽性細胞と判断して顕微鏡下で検出し、obex から吻側 300 μ m、尾側 3300 μ m の範囲で 300 μ m 毎に pERK 陽性細胞の分布様式を解析した。その結果、口ひげ部皮下に histamine を投与して 5 分経過したラットの延髄において、Vc および孤束核 (Nucleus tractus solitarii: NTS) で多くの pERK 陽性細胞が検出された。さらに pERK 陽性細胞は Reticular formation (RF) でも観察されたが、他の領域においては少数であった。Histamine および vehicle 投与ラットともに、Vc において pERK 陽性細胞は両側性に分布していたが、投与の同側においてより多くの pERK 陽性細胞を認めた。それに対し、NTS および Vc 腹側部の RF においては投与の対側でやや多い傾向を認めたが有意な左右差はなかった。pERK 陽性細胞は histamine 投与群で投与と同側において、obex から 1800 μ m 尾側の部位にかけてピークを示す分布を示していた。また、特に obex の 600 μ m 尾側からその 1800 μ m 尾側においては、histamine 投与群の方が vehicle 投与群に比べ有意に多くの pERK 陽性細胞を認めた。Obex の吻側 300 μ m から 600 μ m 尾側の範囲および、obex の尾側 2400 μ m から 3300 μ m の範囲では左右差は認められなかった。Vc および C1-C2 領域において検出された pERK 陽性細胞数を加算した結果、histamine 投与の同側および対側ともに、histamine 投与群の方が vehicle 投与群より有意に多かった (同側 : $p < 0.01$, 対側 : $p < 0.05$)。

Vc および C1-C2 領域には口腔顔面領域からの侵害情報を含む様々な感覚情報が投射する。これらの領域は細胞が層構造をなして配列しており、表層部には無髄の C-線維が深層には有髄の A β -線維が投射している。本研究では histamine の口ひげ部皮下への投与によって検出された pERK 陽性細胞は Vc および C1-C2 領域の表層のみから検出された。従って、histamine 投与によって興奮する Vc および C1-C2 ニューロンは主に顔面皮膚の C-線維入力を受ける可能性があると考えられる。また、本研究で検出された pERK 陽性細胞の形態より、histamine 投与によって発現した pERK 陽性細胞には投射ニューロンと介在ニューロンの両方が含まれると考えられる。これより、histamine 投与に反応する広作動域ニューロン（侵害刺激と非侵害刺激の両方に反応）は C-線維の入力だけでなく、有髄の A-線維入力を受けた介在ニューロンから間接的に入力を受ける可能性が高い。さらに、NTS や RF においても口ひげ部皮下への histamine 投与によって pERK 陽性細胞発現を認めたことより、histamine 刺激によって活性化し pERK を発現したニューロンは痒みの感覚情報処理だけでなく、痒み感覚に随伴した自律神経系の調節にも関与する可能性が考えられる。

以上の結果から、顔面領域の痒み情報処理は三叉神経脊髄路核の obex からやや尾側部の Vc および C1-C2 の表層に分布するニューロンによって行われ、その中でも投射ニューロンと推定される大型のニューロンは上位中枢へ痒み情報を送るのに対し、小型の介在ニューロンは局所回路を形成して痒み情報調節に関与している可能性が示された。