

論文審査の結果の要旨

氏名：松 村 幸 恵

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Substance P-induced activation of presynaptic NK1 receptors suppresses EPSCs via nitric oxide synthesis in the rat insular cortex

（サブスタンス P によるシナプス前 NK1 受容体の活性化はラット島皮質における一酸化窒素合成を介して EPSC を抑制する）

審査委員：（主 査） 教授 篠 田 雅 路

（副 査） 教授 白 川 哲 夫

教授 大 井 良 之

教授 小 林 真 之

タキキニンペプチドに属する神経ペプチドであるサブスタンス P (SP) は、ニューロキニン 1 (NK1) 受容体と高い親和性がある。大脳皮質において NK1 受容体は神経型一酸化窒素合成酵素、ニューロペプチド Y、およびソマトスタチン陽性 GABA 作動性ニューロンに発現している。口腔顔面領域からの侵害情報を処理すると考えられている島皮質 (IC) には NK1 受容体と SP を発現する GABA 作動性ニューロンが豊富に存在していることから、SP が IC での侵害情報処理に関与していることが示唆される。SP は大脳皮質にて GABA_A 受容体を介して抑制性シナプス伝達を調節することが明らかとなっているが、興奮性シナプス伝達への修飾作用はいまだ不明である。そこで本研究は、蛍光顕微鏡観察下で GABA 作動性抑制性ニューロンと興奮性錐体細胞を同定できる VGAT-Venus トランスジェニックラットから IC を含む冠状断の急性脳スライス標本（厚さ 350 μm）を作製し、興奮性錐体細胞からホールセル・パッチクランプ記録を行い、SP がグルタミン酸作動性シナプス伝達をどのように変化させるか、そして SP によって誘発される EPSC の抑制に一酸化窒素 (NO) 合成が関与するかを解明することを目的として実験を行った。まず、単極同心円電極を記録細胞の近傍に設置し、failure を含む刺激強度にて誘発される興奮性シナプス後電流 (eEPSC) に対する SP の修飾作用について検討した。シナプス前ニューロンの神経伝達物質の放出確率の変化を明らかにするため、刺激は 2 連刺激で行い、2 発目の 1 発目に対する振幅比 (paired-pulse ratio; PPR) を算出した。なお、SP による NO 合成については、NO 検出蛍光プローブである DAX-J2Red (10 μM) による NO イメージングを行って検証した。

その結果、以下に示す知見を得た。

1. SP (250 nM) により eEPSC の振幅は有意に減少し、PPR と failure rate は増加した。
2. NK1 受容体拮抗薬の SR140333 (1 μM) の前投与は、SP の eEPSC に対する抑制効果を抑制した。
3. NK1 受容体選択的作用薬の [Sar⁹,Met(O₂)¹¹]-substance P (Sar-Met; 250 nM) により、SP と同様に eEPSC の振幅は有意に減少し、PPR と failure rate は増加した。また、mEPSC と mIPSC の振幅には変化はなかったが発生頻度は減少した。
4. Sar-Met (250 nM) は静止膜電位にほとんど影響を与えず、発火頻度を変化させなかった。
5. SP (1 μM) により GABA 作動性ニューロンで DAX-J2Red の蛍光強度が増加した。
6. NO 合成酵素阻害薬の L-NAME (200 μM) ならびに NO を NO₂ に酸化する PTIO (100 μM) を前投与すると、SP による eEPSC の振幅の変化はみられず、PPR と failure rate も変化しなかった。

以上から、SP は GABA 作動性ニューロンのシナプス前膜に存在する NK1 受容体を活性化し、その NO 合成経路を活性化することにより NO を産生し、その NO がグルタミン酸作動性ニューロンの軸索終末から放出されるグルタミン酸の放出確率を減少させることによって eEPSC の抑制に寄与すると考えられた。IC におけるこのようなメカニズムは口腔領域における疼痛の制御機構に重要な役割を果たしている可能性があることを示している。

本研究結果は、創薬および新たな疼痛治療法の開発に寄与し、歯科医学に貢献すること大である。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 3 年 3 月 1 0 日