

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (薬学)	氏名	張 芳芳
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
論 文 題 目			
The role of connexin43-gap junction in rat spinal astrocytes for the regulation of neuropathic pain (神経因性疼痛に対する脊髄アストロサイト connexin43-gap junction の役割に関する研究)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	高野 幹久	
審査委員	教 授	酒井 規雄	
審査委員	講 師	細井 徹	
〔論文審査の要旨〕			
<p>癌や神経損傷などにより生じる神経因性疼痛は慢性化することがほとんどであり、患者の QOL (quality of life: 生活の質) を著しく低下させる。一方で、神経因性疼痛はモルヒネや非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) など既存の鎮痛薬が奏功しにくい。それ故、神経因性疼痛発症メカニズムを明らかにし、新たな作用機序を有する治療薬の開発が重要である。痛みの伝達において重要な役割を担う脊髄アストロサイトには、connexin43 (Cx43) タンパクで構成された gap junction ネットワークが存在し、隣接する細胞を連結させ、細胞間情報伝達を行い、神経ネットワークに影響を及ぼしている。最近、アストロサイトの Cx43-gap junction 機能障害が、様々な中枢神経系疾患と関連していることが示唆されてきた。一方で、慢性疼痛に対する Cx43-gap junction 機能変化の関与はほとんど明らかにされていない。そこで、慢性疼痛における脊髄アストロサイト Cx43-gap junction 機能の役割及び Cx43-gap junction 発現機能制御について、坐骨神経損傷による神経因性疼痛モデルマウスを用いた in vivo 系及び培養細胞を用いた in vitro 系を用いて以下の検討を行った。</p> <p>神経因性疼痛モデルマウスの脊髄後角 (神経損傷側) のアストロサイトにおける Cx43 発現量は、偽手術群に比べて有意に低下していることが明らかとなった。さらに RNA 干渉法を用いて、健常マウスの脊髄後角での Cx43 発現を強制的にノックダウンすることにより、疼痛閾値の著明な低下が認められた。次に脊髄後角における Cx43 発現低下に関与する生体内因子を検討したところ、神経因性疼痛マウスの脊髄くも膜下腔内へ TNF 阻害薬である etanercept を</p>			

投与することにより Cx43 発現低下並びに疼痛閾値の低下が有意に拮抗された。また健常マウスに recombinant mouse TNF を同様に投与することにより Cx43 発現が低下することも認められた。これらの結果より、疼痛誘発因子の一つである腫瘍壊死因子 (TNF- α) が Cx43 発現制御に関与していることが明らかとなった。次に、Cx43 発現低下により疼痛閾値が低下するメカニズムを検討した。Cx43 siRNA 脊髄くも膜下腔内投与により誘導された疼痛閾値の低下は、グルタミン酸受容体拮抗薬を投与することにより著明に改善されることが明らかとなった。さらに神経因性疼痛及び Cx43 siRNA 脊髄くも膜下腔内投与マウスの脊髄後角において、グルタミントランスポーターの1つである GLT-1 の発現低下が誘導されていることが認められた。以上の結果から、Cx43 は GLT-1 の発現制御に対して重要な役割を担っており、さらに神経因性疼痛時には Cx43 発現低下を介してグルタミン酸神経伝達を亢進することにより、疼痛閾値の低下を惹起していることが示唆された。

次に、Cx43-gap junction の発現低下メカニズムを解明する目的で、培養脊髄アストロサイトの Cx43-gap junction 発現及び機能に対する炎症性サイトカイン TNF- α 及び IFN- γ の効果を検討した。その結果、TNF- α と IFN- γ の単独及び併用処置により Cx43 発現及び gap junction 機能が有意に抑制された。さらに、これらの反応は c-jun N-terminal kinase (JNK) 阻害剤である SP600125 前処置により抑制された。培養脊髄アストロサイトに対して TNF- α と IFN- γ を併用処置することにより、Cx43 タンパクの分解が促進していることが認められた。また TNF- α と IFN- γ の併用処置による Cx43 発現低下は proteasome 阻害剤を前処置することにより抑制された。さらに培養脊髄アストロサイトに対して TNF- α と IFN- γ を併用処置することにより、20S proteasome 活性が有意に上昇しており、この反応は JNK 阻害剤 SP600125 により抑制された。

以上の結果から、本論文は坐骨神経損傷による神経因性疼痛時において脊髄後角で産生される TNF- α がアストロサイトの Cx43 発現を低下させ、この反応が GLT-1 発現低下を介したグルタミン酸神経伝達を亢進させることにより疼痛閾値が低下する可能性が示唆された。また、培養脊髄アストロサイトにおいて炎症性サイトカインは JNK 経路を介して proteasome を活性化することにより Cx43-gap junction 発現量を低下させることが示唆された。

これらの研究成果は、薬理学を始め薬学の発展に寄与するところが大きいものと高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (薬学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

