

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	向井 友宏
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
Effects of general anesthetic-related drugs on substance P release in rat spinal cord dorsal horn neurons -Studies using spinal dorsal horn tissue slice and in vivo microdialysis-			
(ラット脊髄後角ニューロンからのサブスタンス P 遊離に及ぼす全身麻酔関連薬物の影響 —脊髄後角組織スライスおよび in vivo マイクロダイアリシス法を用いた研究—)			
論文審査担当者			
主査	教授	寺山 隆司	印
審査委員	教授	岡田 芳幸	
審査委員	教授	森岡 徳光	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>サブスタンス P (SP) は，11 個のアミノ酸からなる神経ペプチドである．SP は一次求心性ニューロン，特に C 線維に多く含まれ，侵害刺激に応じて脊髄後角にある神経終末のシナプス小胞から遊離された後脊髄ニューロンに時間経過の長い脱分極を引き起こし，痛みを二次ニューロンへ伝達する．</p> <p>全身麻酔状態は行動や知覚の要素からなり，鎮静，意識消失，鎮痛，筋弛緩，および侵害刺激による体動の抑制（不動化）などが含まれる．外科手術には通常患者の不動化が必要であり，そのため全身麻酔薬や麻薬性鎮痛薬のような麻酔補助薬が使用される．手術時の持続する機械的・化学的疼痛は，特に C 線維を介して脊髄の二次ニューロンへ伝えられる．したがって，手術時には SP が遅い，持続的な痛みを伝えていると考えられる．我々の研究室では，ラット脊髄後根神経節（DRG）培養細胞を用い，侵害受容器の一つである TRPV1 受容体の作動薬カプサイシンもしくは高濃度 K<sup>+</sup> で刺激したときに SP 遊離量は有意に増加するが，麻薬性鎮痛薬であるモルヒネはこれらの刺激による SP 遊離のいずれにも影響しないことを確認した．これは DRG 培養細胞にモルヒネによる SP 遊離抑制機能がないことを示唆している．そこで，本研究では，全身麻酔関連薬物が脊髄後角神経での SP 遊離にどのような影響を及ぼすか，脊髄後角組織スライス及び free moving 下 in vivo マイクロダイアリシス法を用いて検討し，全身麻酔関連薬による抗侵害刺激作用と SP 遊離作用の関係を解明することを目的とした．</p> <p>脊髄後角組織スライスを用いた実験では，Wistar 系成熟ラットを用いて L4-L5 相当部の脊髄を取り出した後スライスし，このスライスを用いてカプサイシン刺激もしくは高濃度 K<sup>+</sup> 刺激誘発 SP 遊離に及ぼすモルヒネと <math>\alpha_2</math> 受容体作動薬デクスメデトミジンの影響を検討</p>			

した。また、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) 受容体作動薬のプロポフォール、ムシモール、バクロフェン、THIP と抗うつ薬のイミプラミンによる SP 基礎遊離量への影響を調べた。脊髄後角組織スライスから遊離した SP 量はラジオイムノアッセイ法で測定した。

In vivo マイクロダイアリシス法実験では、ラット脊髄 L4-L5 相当部の脊髄後角灰白質 entry zone にプローブを埋入してから 24 時間静置した後、ラット足蹠皮下にカプサイシンを注射し、この侵害刺激による行動変化および SP 遊離に及ぼすモルヒネ、デクスメデトミジン、プロポフォールおよびイミプラミンの影響を同時に観察、定量した。カプサイシン刺激による疼痛の評価は、2 分毎の flinching 回数を記録することにより行った。SP 遊離量測定は脊髄後角組織スライス実験と同様に行った。

実験結果と結論を以下に示す。

1. 脊髄後角組織スライスに対するカプサイシン刺激あるいは高濃度  $K^+$  刺激は SP 遊離量を有意に増加させたが、この増加作用はモルヒネやデクスメデトミジンにより抑制された。また、プロポフォールやイミプラミンにより SP 基礎遊離量は濃度依存性に増加した。GABA 受容体作用薬では、ムシモールで有意な増加を認めた。
2. カプサイシン投与群と比較して、モルヒネ、デクスメデトミジン、イミプラミンの前処置では flinching 回数を有意に減少させた。プロポフォールではカプサイシン投与直後の 2 分間は減少しなかったが、その後は有意に減少させた。
3. In vivo マイクロダイアリシス実験では、カプサイシン刺激により用量依存的に SP 遊離量は増加したが、この増加はモルヒネ、デクスメデトミジンおよびイミプラミンにより有意に抑制された。しかし、プロポフォールでは抑制されなかった。

侵害刺激受容後、視床下部から痛みを制御するよう下位神経へ指令が送られるが、これを下行性疼痛抑制系と呼ぶ。この系を介しオピオイド神経は脊髄後角において一次知覚ニューロンとシナプスを形成し、痛みの伝導路である一次知覚ニューロンから脊髄二次ニューロンへの出力をシナプス前抑制することで、侵害刺激を制御している。モルヒネはこの部位に作用し SP 遊離を抑制することにより、またデクスメデトミジンは脊髄侵害受容ニューロンの  $\alpha_{2A}$  受容体を刺激することで鎮痛作用を引き起こすといわれており、これらのことは今回の in vitro と in vivo の両方の実験で確認された。静脈麻酔薬のプロポフォールは GABA 神経を促進するといわれているが、今回の結果からは、下行性疼痛抑制系を抑制するか、もしくは関与しないことが示唆された。一方、慢性疼痛治療薬のイミプラミンは in vivo 実験において SP 遊離を抑制したことから、下行性疼痛抑制系を介して鎮痛を生じたと考えられる。

以上の結果から本論文は、全身麻酔関連薬による抗侵害効果の少なくとも一部は一次知覚ニューロンからの SP 遊離抑制作用を介していることを示した。また、全身麻酔関連薬物の作用責任部位が下降性疼痛抑制系にあるのか、それとも脊髄後角にあるのか、部分的にはあるが、明らかにすることができた。

よって審査委員会委員全員は、本論文が向井友宏に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。