

論文審査の要旨

報告番号	総研第 375 号		学位申請者	用 皆 正 文
審査委員	主 査	武田 泰生	学 位	博士 (医学) 歯学・学術)
	副 査	桑木 共之	副 査	乾 明夫
	副 査	古川 龍彦	副 査	有田 和徳

Involvement of PACAP-PAC₁ receptor signaling system in spinal pain transmission
(脊髄疼痛伝達における PACAP-PAC₁ 受容体シグナル伝達系の関与)

神経ペプチドである pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) は、末梢神経障害モデル等において痛覚伝達・調節物質としての役割が示唆されている。しかし、脊髄レベルでの疼痛に関連するシグナル伝達に関しては未だ不明な点が多い。そこで学位申請者らは PACAP 特異的 PAC₁-R に注目し、脊髄疼痛伝達における PACAP-PAC₁-R シグナル伝達系の関与について検討した。成熟雄性 ddY マウスを使用し、PACAP、maxadilan (Max, PAC₁-R 選択的作動薬)、max.d.4 (PAC₁-R 選択的拮抗薬) を単回、髄腔内投与 (i.t.) 後、自発性疼痛様行動 (マウス下半身の舂め、噛みつき、引っ掻き行動) や機械的アロディニア (von Frey テストにおける有意な機械的逃避閾値の低下) を評価した。さらに、神経細胞やアストロサイト内のシグナル活性の指標として ERK、JNK、そしてアストロサイト活性化の指標として glial fibrillary acidic protein (GFAP) に対するウェスタンブロット解析、GFAP および PAC₁-R に対する蛍光免疫組織学的解析を行った。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) PACAP (100 pmol) / Max (50 pmol) をマウスに単回 i.t. 投与すると、30 分以上持続する自発性疼痛様行動や 84 日以上続く機械的アロディニアが誘発された。
- 2) PACAP/Max 誘発疼痛様行動や機械的アロディニアは、max.d.4 (100 pmol) により顕著に抑制された。
- 3) Max は、i.t. 投与後 5 分から ERK を、30 分で JNK を活性化 (リン酸化 ERK および JNK の有意な発現上昇) し、MEK 阻害薬 (PD98059, 2 nmol)、および JNK 阻害薬 (SP600125, 2 nmol) は Max 誘発疼痛様行動や機械的アロディニアを抑制した。また、PD98059 は Max による ERK だけでなく JNK の活性化も有意に抑制した。
- 4) PACAP/Max は、i.t. 投与後少なくとも 84 日間、GFAP の発現を著明に上昇させ、アストロサイト活性化阻害薬 L- α -amino adipate (L- α -AA, 0.3 - 1 nmol) により PACAP/Max 誘発疼痛様行動はほぼ完全に抑制された。また、L- α -AA と SP600125 は、Max による ERK の活性化 (単回 i.t. 投与後 30 分) を有意に抑制した。

以上の結果より、PACAP は、PAC₁-R を介して脊髄後角ニューロンを早期に活性化し、その後、ニューロンとアストロサイトの相互作用により、自発性疼痛様行動の発症やその後の長期機械的アロディニアの発症と維持に関与することが示唆された。

脊髄 PACAP-PAC₁-R シグナル伝達活性化により誘発される自発性疼痛様行動や機械的アロディニア慢性化のメカニズムを明らかにした本研究の成果は、難治性疼痛のメカニズム解明や克服に貢献することが期待される。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。