

最終試験の結果の要旨

報 告 番 号	総 研 第 629 号		学位申請者	比嘉 憂理奈
審 査 委 員	主 査	山崎 要一	学 位	博士 (歯学)
	副 査	後藤 哲哉	副 査	中村 典史
	副 査	松永 明	副 査	宮田 篤郎

主査および副査の5名は、令和3年12月13日、学位申請者 比嘉 憂理奈 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問 1) リナロールの濃度は上げることが可能か、リナロールの効果は濃度依存性なのか。

(回答) 純度 96%以上の原液を使用しているため濃縮は難しく、引火性もあり熱も加えられない。これ以上濃度を上げることは難しいが、香気チャンバーに入れるリナロールの量を増やすことで濃度が上がる可能性はある。

質問 2) リナロールを人へ応用するにあたりどのくらいの濃度が至適か。

(回答) 人を対象に行っていないため、人に対してどの濃度が至適かは現時点では分からないが、臨床応用を考えると必ず必要なデータのため今後の研究課題としたい。

質問 3) リナロール以外に鎮痛効果のある成分はあるか。

(回答) シネオールは Tail flick test、Hot plate test において鎮痛効果があることが分かっている。

質問 4) 局所麻酔薬や鎮痛薬と比較し、リナロールの鎮痛効果はどのくらいなのか。

(回答) 検証していないため推測ではあるが、局所麻酔薬ほどの鎮痛効果は認められないと考えている。また、麻薬性鎮痛薬投与後に熱性疼痛試験を行ったが、全ての群でカットオフ値になった。リナロール香気群においてカットオフ値になった個体はいなかったため、麻薬性鎮痛薬と同程度の鎮痛効果はないと考えている。今後は NSAIDs を投与した状態で同様の疼痛試験を行い、結果を比較することで鎮痛効果の強さを推測したいと考えている。

質問 5) リナロールによる5分間の鎮痛効果にはオレキシン神経の活性化を意味するのか。

(回答) リナロール香気誘発性鎮痛はオレキシン神経が活性化することで生じるため、オレキシン神経の活性化を意味すると考えている。

質問 6) 人とマウスの嗅覚の違いはどうか。マウスでは不快に感じているのではないか。

(回答) 嗅覚受容体数は人では約 350、マウスでは約 1000-1200 あると言われ嗅覚は人より優れている。また、嗅覚経路は酷似していることが知られている。香気暴露後に血中コルチコステロンを測定し、有意な増加がないことからリナロールがマウスにとって不快なストレスになっていないと考えられる。

質問 7) 行動実験の3種類の侵害刺激は全て脊髄反射なのか。

(回答) Tail pincher test、Tail capsaicin test は刺激部位以外の反応が認められ、脊髄反射ではないと考えられる。Tail immersion test の Tail flick は脊髄反射の可能性が否定できない。しかし、今回は Struggling も疼痛反応として認められたため今回の Tail immersion test の全ての反応が脊髄反射とは言い切れないと考えている。

質問 8) 香気暴露時間を変化させると鎮痛効果はどうなるのか。リナロール持続吸入による臨床応用は可能か。

(回答) 長く香気暴露すると匂いに慣れが生じ、嗅細胞の活性化が抑制され鎮痛効果が弱くなる可能性が考えられる。短い場合でも香気暴露で嗅細胞が活性化すれば鎮痛効果は得られると考えている。従って、間欠的に香気暴露することで臨床では効果的に鎮痛効果が得られると考えている。

質問 9) どのくらいのオレキシンを想定して濃度を設定したのか。

(回答) 先行研究で脳内に微量投与したオレキシン受容体拮抗薬の量を参考に決定した。

質問 10) リナロールとエアアの暴露は盲検で実施したのか。

(回答) 全ての実験を私一人で行っており、盲検にはなっていない。

最終試験の結果の要旨

質問 11) 熱性疼痛試験において香気暴露前のコントロール値がリナロール群、エアー群で差があるのはなぜか。

(回答) 有意差はないが、エアー群の方が値が大きい傾向がある。1 タイムポイント辺り 1 試行のため誤差が大きくなったと考えられた。

質問 12) カプサイシンの投与部位により疼痛反応の出方は異なるのか。また、先端から 1/3 に投与した理由は何か。

(回答) 機械性疼痛試験では先端が疼痛閾値が低く、根元で疼痛閾値が高いことから Tail capsaicin test に関しても先端で疼痛反応が大きく根元で疼痛反応が小さいことが予想される。投与部位は機械性疼痛試験の刺激部位と近いところを選んだ。

質問 13) エア群一とリナロール香気暴露群では、行動に差はなかったのか。

(回答) 先行研究での両群の総移動距離、立ち上がり回数、協調運動に有意差は認められず、行動には差がなかった。

質問 14) Tail Pincher test において最大値と最小値を割愛しているが、データが偏ることはなかったのか。

(回答) 割愛した最大値の値、最小値の値で F 検定を実施し、群間には有意なばらつきの差がなかった。また、最大値と最小値を含めた全ての計測データによる解析を行っても結論は変わらなかった。

質問 15) カプサイシンの投与で急激に疼痛閾値が低下しているのはなぜか。また、時間経過してもベースラインに戻っていないのはなぜか。

(回答) 急激に低下した理由に関しては、カプサイシン投与による受容体の飽和、もしくは一度活性化した受容体が不活化したため、急激に疼痛閾値が低下したと考えている。ベースライン値に戻っていないのは、しっぽが硬い組織のため、カプサイシンを打つ際に圧がかかり、その圧による痛みの持続の可能性が考えられる。

質問 16) Olfactory habituation / dishabituation test においても最初のリナロール群とエアー群で差があるのはなぜか。

(回答) 有意差はないがリナロール群のアプローチ回数が多い傾向がある。しかし、DDW に 3 回暴露することで両群共にアプローチ回数は漸減しており、本実験の解析において影響はないと考えている。

質問 17) 口腔領域でリナロール香気誘発性鎮痛は応用できるのか。

(回答) 口腔顎顔面領域は疼痛刺激が入力する三叉神経脊髄路尾側亜核にオレキシン神経が投射しているという論文があり、今回の結果を踏まえると原理的には口腔領域にも応用できると考えている。

質問 18) リナロール香気誘発性鎮痛は軸索移動によるのか。

(回答) 抗オレキシン抗体で染色すると軸索中にシグナルが観察されることから、オレキシンペプチドは軸索輸送により軸索末端まで輸送されると考えている。

質問 19) リナロールのどのような特性がオレキシン神経を活性化するか。

(回答) 現時点では、リナロール香気はオレキシン神経を活性化する生物学的意義は明らかになっていない。鎮痛を引き起こすオレキシン性下行性疼痛抑制系を賦活化する神経回路が元々備わっていることが予想される。

質問 20) 匂いに先に反応するのはオレキシン産生細胞なのか。それとも青斑核が先ではないのか。

(回答) どちらが先に応答するかは検証していないため不明である。電気生理学実験またはイメージング実験により検討は可能であり、今後の研究課題としたい。

質問 21) 抑制性の介在ニューロンが関与するのだろうか。抑制性の介在ニューロンの神経終末にオレキシン 1 型受容体が発現しているなら、c-Fos により識別できたのではないか。

(回答) オレキシン性シナプス伝達は、シナプス後細胞に興奮性の作用を持つため、オレキシンが鎮痛を生むには抑制性の介在ニューロンが必要である。当初、オレキシン入力により抑制性介在ニューロンが c-Fos を発現すると予想していたが、実験により否定された。一般的にシナプスは細胞体、樹状突起以外にも神経終末にシナプスが形成されることが知られている。軸索末端に興奮性シナプス入力があると、軸索終末でカルシウム濃度が上昇し、シナプス伝達を増強することが知られている。この場合、シナプス伝達の影響は細胞体には及ばないため c-Fos の発現も誘導されない。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士（歯学）の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。