

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 渡部 達範
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 655 号
学位授与の日付 平成 27 年 9 月 24 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 Spinal mechanisms underlying potentiation of hindpaw responses observed after transient hindpaw ischemia in mice
(一過性血流遮断後のしびれのマウスモデルにおける脊髄機序)

論文審査委員 主査 教授 遠藤 直人
副査 教授 馬場 洋
副査 教授 長谷川 功

博士論文の要旨

【背景】

一過性の血流遮断は遮断肢のしびれを起こす。これは血流遮断中の末梢神経伝導遮断からの回復過程で異常興奮が生じることが原因と考えられてきた。一方末梢神経の伝導遮断は脊髄の可塑的变化を引き起こし、触覚を痛覚と感ずる異痛症をおこす。従って血流遮断も何らかの脊髄メカニズムによってしびれを起こすかも知れない。本研究はこの可能性を検証したものである。特に末梢神経の伝導遮断が異痛症を生じるメカニズムとして、脊髄後角細胞の抑制性 Group II 代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) が活性化されなくなることが原因であるといわれている。もし、血流遮断後のしびれも同様のメカニズムで生じるならば、Group II mGluR アゴニストの脊髄投与によってしびれは起きなくなるはずである。本研究では、この点に着目して、仮説の検証を行った。

【方法】

血流遮断後のしびれを再現するため、7~9 週の C57BL/6 マウスを 1%イソフルランで麻酔し、左後肢周囲のカフに 250 mmHg の空気圧を加えて血流を 30 分間遮断した。しびれが生じると、四肢の触覚刺激に対する逃避行動の閾値が低下する。逃避行動の閾値を計測するため、種々の太さのフィラメントで一定の力を四肢に与え、逃避行動の有無を観察する von Frey 試験を麻酔回復後に行った。さらに血流遮断後に生じる脊髄と体性感覚野の変化を解析するため、フラビン蛋白蛍光イメージング法を用いた。この方法は神経活動に依存する酸素代謝亢進が、ミトコンドリア電子伝達系フラビン蛋白由来の緑色自家内因性蛍光変化を起こすことを利用したものである。イメージング実験では、ウレタン麻酔 (1.65 g/kg、腹腔内投与) を用い、気管切開下の自発呼吸で動物の状態を維持した。この状態で左後肢の血流遮断を 30 分間行い、解放後に様々な時間間隔で左後肢掌側をブラシ刺激し (50 Hz, 600 ms)、脊髄と体性感覚野の応答、さらに血流遮断によって生じる応答変化を解析した。

【結果】

von Frey 試験では血流再開後に遮断側で逃避行動の閾値が低下し、血流遮断2時間後に閾値の低下は最も顕著に表れた。次に体性感覚野及び脊髄でのフラビン蛋白蛍光応答を解析した。左後肢に振動刺激を与えると、同側脊髄背面、及び対側体性感覚野に蛍光応答を認めた。これらの応答が血流遮断によって消失したことから、末梢神経の伝導遮断が生じていることを確認した。血流再開後は、遮断前に比較し、脊髄応答と体性感覚野応答の両者が増強され、2時間以上増強が維持された。さらに脊髄 Group II mGluR の関与を証明するため、脊髄に Group II mGluR アゴニストの LY354740 (10 nM, 5 μ l) を投与し、血流遮断の効果が阻害されるかどうかを検証した。逃避行動の閾値低下、脊髄応答の増強、体性感覚野応答の増強の全てが LY354740 によって阻害された。

単に脊髄応答や体性感覚野応答の増強を観察しても、異痛症やしびれのような感覚の質的変化が生じているかどうかは判らない。そこで、触覚は同側脊髄後索を上行し、侵害刺激は対側脊髄視床路を上行するという点に着目した。左側の後索を破壊すると左後肢の振動刺激に対する体性感覚野応答は消失した。しかし、血流遮断操作を加えると、体性感覚野応答が再度出現した。即ち、血流遮断が触覚から痛覚やしびれのような異常感覚への質的変化を起こすことが判った。

【考察】

血流遮断後の末梢神経の異常興奮は5分以内に終了するが、本研究のマウスモデルでは、2時間以上維持される異常感覚が観察された。また脊髄に投与した Group II mGluR アゴニストが異常感覚の発生を阻害した。従って、血流遮断後のしびれには、神経切断後の異痛症と同様に Group II mGluR を介する脊髄機序が関与すると考えられる。

これらの現象の背景にある分子・細胞メカニズムは以下のように想定される。まず脊髄神経細胞にある Group II mGluR は末梢感覚神経の自発発火により常に活性化され、抑制的な影響を与えることで異常感覚の発生を阻止している。伝導遮断によって Group II mGluR が活性化されなくなると、興奮が増加や Ca²⁺スパイクが起りやすくなることで細胞内 Ca²⁺濃度が増加する。これによって神経細胞特異的な塩素イオン・カリウムイオン共輸送体の機能が抑制され、細胞膜内外の塩素イオン濃度勾配が減少する。この変化によって、本来抑制的なシナプス入力が増加へと変化する。最終的には、脊髄の侵害受容性ニューロンが触覚によって駆動される結果となり、異痛症やしびれのような異常感覚が生じると考えられる。

【結語】

血流遮断後のしびれを研究するためのマウスモデルの開発に成功し、しびれには脊髄 Group II mGluR を介する長期的な成分が存在することを示した。

審査結果の要旨

血流遮断が何らかの脊髄メカニズムによってしびれを生じる可能性を検証した。

C57BL/6 マウス左後肢のカフに空気圧 250 mmHg を加え 30 分間血流遮断し、しびれを再現し解析した。その結果、1) von Frey 試験では血流再開後の逃避行動の閾値低下、特に血流遮断2時間後の閾値低下を最も顕著に認めた。左後肢への振動刺激により同側脊髄背面と対側体性感覚野に蛍光応答を認め、これらの応答は血流遮断によって消失し、末梢神経の伝導遮断が生じていた。2) 脊髄への Group II mGluR アゴニスト投与により、逃避行動の閾値低下、脊髄応答の増強、体性感覚野応答増強の阻害がみられた。3) 左側後索の破壊では左後肢の振動刺激に対する体性感覚野応答は消失した。血流遮断操作で体性感覚野応答が再度出現した。

以上のことより血流遮断後のしびれには、神経切断後の異痛症と同様に Group II mGluR を介する脊髄機

序が関与すると考えられ、脊髄の侵害受容性ニューロンが触覚によって駆動される結果となり、異痛症やしびれのような異常感覚が生じると考えられた。

本研究では血流遮断後のしびれを研究するためのマウスモデルの開発し、しびれには脊髄 Group II mGluR を介する長期的な成分が存在することを示したことに学位論文としての価値を認める。