

(第 12 号様式)

学 位 論 文 の 要 約 (研 究 成 果 の ま と め)

氏 名 西田 賀津子

学位論文名 セロトニンによって誘発されるラット脊髄後角細胞の興奮はスクラッチ刺激で抑制され、スクラッチする部位でその抑制機序は変化する

学位論文の要約

【背景と目的】痒みは不快な感覚であり、その慢性化は生活の質を著しく低下させる。痒みはスクラッチ刺激により抑制されるが、そのメカニズムには脊髄における痒みシグナルへの抑制が関与していることが示唆されている。本研究ではラットの脊髄後角からの細胞外記録法を用いて、スクラッチ刺激が起痒物質 (pruritogen) であるセロトニン、そして発痛物質 (algogen) であるマスタードオイルによって誘発された神経発火を抑制するかどうか、そしてスクラッチ刺激の部位によって神経発火の抑制がどのように影響されるか検討した。

【対象と方法】実験には SD ラット 13 匹を使用した。バルビタール麻酔下でラットの腰髄を露出した後タングステン電極を脊髄後角に刺入し、セロトニン反応神経を同定した。ラットの後肢足蹠に $0.1 \mu\text{l}$ の 1%セロトニン (5-HT) を投与し神経発火頻度の 30%以上の増加を確認した後に、受容野 (on-site) 及び受容野周辺 (off-site) にスクラッチ刺激を加えた。刺激の条件は可動域 3mm, 強度 300mN, 頻度 2Hz, 刺激時間 20 秒とした。その後同様のスクラッチ刺激を生理食塩水皮内注射後、マスタードオイル (AITC) 塗布後及びミネラルオイル塗布後に加えた。活動電位は Spike2 と Chart software で解析した。多群検定には ANOVA を使用し、事後検定にはボンフェローニ法を用い有意水準を 5%とした。記録後の脊髄については、神経発火を得られた個所を電極で焼却し、ホルマリン処理後 $50 \mu\text{m}$ の厚さでスライスし顕微鏡で位置を同定した。

【結果】記録に成功したセロトニン反応ニューロンは 13 単位であった。それらは脊髄表面から $146.4 \pm 33.7 \mu\text{m}$ に位置していた。そのうち 20%は広作動域 (WDR) ニューロンに、80%は特異的侵害受容 (NS) ニューロンに分類された。セロトニン注射により誘発された神経発火は、受容野周辺へのスクラッチ刺激では刺激をしている間のみ抑制

された。受容野へのスクラッチ刺激では、刺激の間に神経発火頻度が増加し、刺激後の発火頻度が刺激前と比較して有意に減少していた。生食投与では神経発火の変化はなかったが、受容野へのスクラッチ刺激で神経発火は増強した。また、セロトニン反応ニューロンの殆どは、マスタードオイル塗布で神経発火頻度が増加した。このマスタードオイルにより誘発された神経発火の増強は受容野周辺へのスクラッチ刺激による影響を受けなかった。また、受容野へのスクラッチ刺激の間は、刺激の間に神経発火頻度を増加させたが、刺激後の発火頻度は刺激前と比較して同程度だった。マスタードオイルのコントロール物質であるミネラルオイル塗布では神経発火の増強はなかったが、受容野へのスクラッチ刺激の間には増強した。

【考察】記録に成功したセロトニン反応ニューロンの殆どがマスタードオイルに反応した。このことは、痒み受容ニューロンは発痛物質にも反応するという過去の知見と一致している。セロトニンやマスタードオイルによって誘発された神経発火へのスクラッチ刺激の影響を観察したところ、スクラッチ刺激はセロトニン反応時にのみ神経発火頻度を減少させた。スクラッチ刺激による痒み反応の抑制を確認するには起痒物質による痒み受容ニューロンの活性化が必要であると考えられる。このような痒み受容ニューロンの活性状態に対するスクラッチ刺激により痒み反応が抑制されることは、サルやマウスでの研究結果と一致している。近年、痒みを抑制する抑制性介在ニューロンが同定されつつある。しかし、これらの抑制性介在ニューロンが、痒み受容時の間だけ痒み受容ニューロンを抑制しているメカニズムは現在のところ明らかになっていない。スクラッチ刺激部位による痒み反応の抑制への影響を検討したところ、受容野周辺については、スクラッチ刺激を行っている間のみセロトニンの反応を抑制した。このことについては、セロトニン反応ニューロンに投射する侵害受容ニューロンを興奮させることなく、痒みの抑制性介在ニューロンを興奮させていることが考えられる。一方、受容野については、スクラッチ終了後にのみ痒みを抑制したことから、スクラッチ刺激によって脊髄内に放出された抑制性伝達物質 GABA、グリシン、タインルフィンなどが間接的に痒み反応を抑えている可能性があるが、今後の詳細な解析が必要である。

【結語】スクラッチ刺激による痒みの抑制には、脊髄での痒み受容ニューロンの活動の抑制が寄与している。この抑制は痒み刺激に対する反応中にのみ生じ、スクラッチの部位によって異なるメカニズムで痒み受容ニューロンの活動を抑制していることが明らかになった。なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文 : Nishida K, Takechi K, Akiyama T, Carstens MI and Carstens E:

Scratching inhibits serotonin-evoked responses of rat dorsal horn neurons in a site- and state-dependent manner. *Neuroscience* 10, 250, 275-281

DOI:10.1016/j.neuroscience.2013.07.012