

亜鉛による痛覚調節機構の解明

研究代表者： 池田 弘（工学研究科・教授）

共同研究者： 村田 哲人（医学部・准教授）

概要	亜鉛は、痛覚過敏を調節していることが報告されているが、そのメカニズムは明らかではない。また最近、長期増強が、痛覚伝達経路の1つである脊髄後角においても起こることが報告され、脊髄後角で起こる長期増強が痛覚過敏のメカニズムの1つではないかと考えられている。本研究では、亜鉛が痛覚過敏にどのような影響を与えるのかを、亜鉛欠乏マウスに痛覚過敏を起こすことなどによって検証し、亜鉛が脊髄後角内の長期増強の形成にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした。実験の結果、亜鉛欠乏食を4週間与えることによってマウスの脊髄内の亜鉛濃度が減少していることがわかった。また、このような亜鉛欠乏状態のマウスの脊髄後角では、NMDA 受容体を介した長期増強が抑制されることがわかった。
関連キーワード	長期増強、脊髄後角、光計測、痛覚過敏、NMDA 受容体

研究の背景および目的

亜鉛は、免疫機能や生殖機能、酵素活性やタンパク合成といった生命活動において重要な役割を果たしている。中枢神経系には亜鉛イオンの形で特に多く局在している。最近、記憶や学習などの脳内メカニズムであると考えられている長期増強の形成に亜鉛イオンが重要であることが報告されている。

痛覚過敏は、以前より激しい痛みを感じる、以前は触覚として感じていた刺激を痛みとして感じるといった痛みで難治性疼痛であるといわれており、現在もそのメカニズムが明らかではない。亜

鉛は、痛覚過敏を調節していることが報告されているが、そのメカニズムは明らかではない。また最近、長期増強が、痛覚伝達経路の1つである脊髄後角においても起こることが報告され、脊髄後角で起こる長期増強が痛覚過敏のメカニズムの1つではないかと考えられている。

本研究では、亜鉛が痛覚過敏にどのような影響を与えるのかを、亜鉛欠乏マウスに痛覚過敏を起こすことなどによって検証し、亜鉛が脊髄後角内の長期増強の形成にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした。

研究の内容および成果

1. 亜鉛染色

1-1 内容

亜鉛を含まない飼料を4週間与えたマウスの脊髄内の亜鉛の量が減少しているかを亜鉛染色によって調べた。

1-2 方法

マウスを、硫化ナトリウムを含んだリン酸緩衝生理食塩水溶液およびホルマリン溶液で灌流固定した後、脊髄を摘出し、ホルマリン溶液で24時間保存後、スクロース溶液で72時間保存した。脊髄をクリオスタットでスライスし、銀増感反応法によって亜鉛を染色した。

1-3 結果

まず、亜鉛染色法によって亜鉛が染まっているのかを確認するために、亜鉛のキレート剤を腹腔注射してから1時間後のマウスと通常のマウスの亜鉛染色の濃度を比較した。実験の結果、通常のマウスで見られる濃褐色の点が、亜鉛をキレートさせたマウスでは見られなかった。したがって、

通常のマウスで見られた反応は、亜鉛を染めていることが確認された。また、亜鉛欠乏食を4週間与えたマウスの脊髄を亜鉛染色したところ、亜鉛の濃度が減少していることがわかった（図1）。このような変化は亜鉛欠乏食を2週間与えたマウスでは見られなかった。

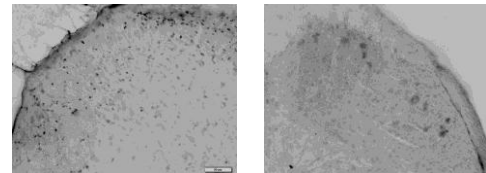


図1：脊髄後角の亜鉛染色

左写真：通常のマウス、右写真：亜鉛欠乏マウス

2. 脊髄後角での長期増強

2-1 内容

後根への低頻度の反復電気刺激（低頻度刺激）

によって、脊髄後角で長期増強が起きるのか、また、その増強は、亜鉛によって調節されるのかを亜鉛キレート剤を腹腔注射したマウスおよび亜鉛欠乏食を4週間与えたマウスから摘出した脊髄スライス標本を用いて検証した。

2-2 方法

マウスより脊髄スライス標本を作成し、膜電位感受性色素で染色した。染色されたスライスを倒立顕微鏡下のチャンパーに乗せ、後根を単発刺激した時の脊髄後角を伝播する神経興奮を高感度、高速フォトダイオードアレイカメラで計測した。長期増強を起こすための条件刺激としては、2Hzの繰り返し電気刺激を2分間後根へ与えた。亜鉛キレート剤を腹腔注射して1時間後のマウスと亜鉛欠乏食を4週間与えたマウスから摘出した脊髄スライス標本でも同様の実験を行い、長期増強に違いが見られるかを検証した。

2-3 結果

後根への単発刺激によって、脊髄後角のI層からIII層の領域に神経興奮が見られた(図2)。条件刺激によって、I層およびII層の外側(IIo)の領域の神経興奮で長期増強が見られた(図2)。一方、II層の内側(IIi)、III層の領域で長期抑圧が見られた(図2)。

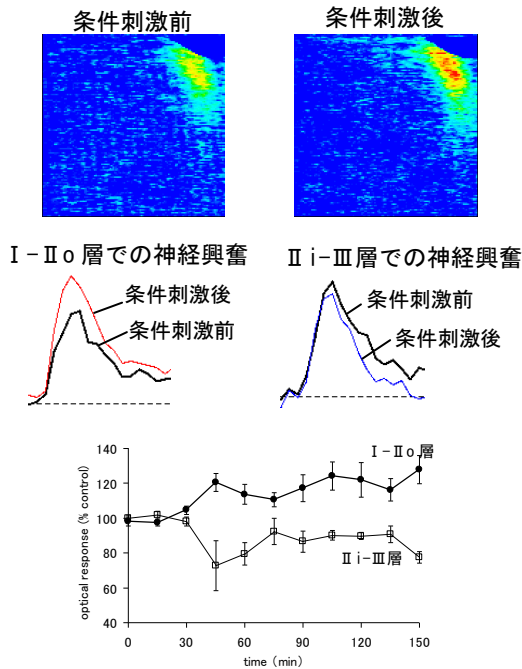


図2: 条件刺激による脊髄後角神経興奮の長期増強と長期抑圧

I-IIo層で起きる長期増強は、NMDA受容体の拮抗薬であるD-AP5投与下で、条件刺激を与えると起きなかった(図3)。一方、IIi-III層で起きる長期抑圧はD-AP5投与下でも影響を受けなかった(図3)。

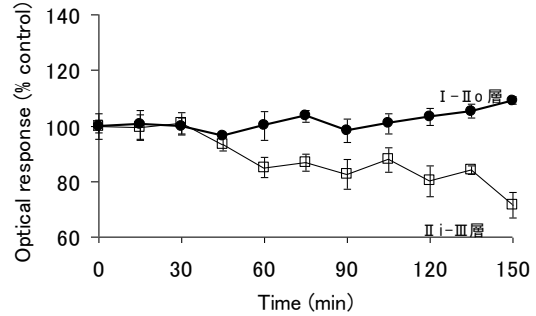


図3: NMDA受容体拮抗薬の効果

次に亜鉛欠乏状態でも、同様の条件刺激によって、脊髄後角で長期増強が起きるのかを調べた。その結果、亜鉛キレート剤を与えたマウス、亜鉛欠乏食を与えたマウスのどちらの脊髄スライスにおいても、I-IIo層での長期増強が起きないことがわかった(図4)。

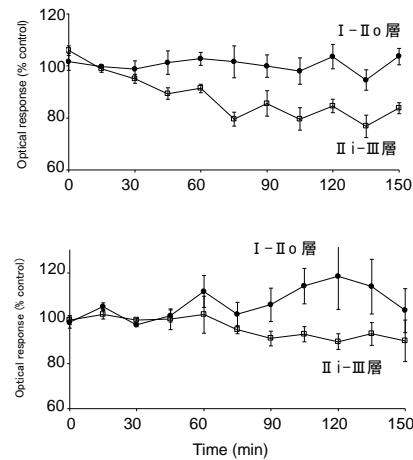


図4: 亜鉛欠乏マウスへの条件刺激

これらの結果より、脊髄内の亜鉛の濃度が少ないと長期増強が起きにくいことがわかった。また、このような調節には、NMDA受容体が関与していると考えられる。これらの結果は、亜鉛による痛覚調節メカニズムを解明するものであるが、今後、詳細な解析が必要である。

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

学会発表予定

K Iwasa, H Ikeda, K Murase, The regulation of

long-term potentiation in the spinal dorsal horn by zinc. Neuroscience2012