


# 学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 <b>1680</b> 号	氏 名	森田 元樹
論文審査担当者	(主査) 教授 中原 努 (副査) 教授 小林 義典 (副査) 教授 尾鳥 勝也 (副査) 教授 田辺 光男		
〔論文題目〕  「スフィンゴ糖脂質による疼痛調節に関する研究」  〔論文審査結果の要旨〕 痛みは危険を察知し回避するために必要であるが、慢性的な痛みや強い痛みは日常生活に支障をきたすため治療対象となる。痛み刺激は、末梢の自由神経終末により感知され、脊髄で二次ニューロンへ伝達された後、上位中枢 (脳) において痛みとして認識される。また、末梢神経の周囲に炎症が生じると脊髄においてアストロサイトやミクログリアが活性化し、炎症性サイトカインや一酸化窒素 (NO) を放出し、痛みの感受性を調節することが知られている。病態時における脊髄の疼痛伝達を理解することは重要であり、グリア細胞の活性化機構などについても、さらなる研究が求められている。このような背景のもと、森田氏はスフィンゴ糖脂質による疼痛調節に注目した。 スフィンゴ糖脂質は生体膜に存在し、細胞間接着分子や受容体などの膜タンパク質の機能調節を介して、様々な細胞機能に関与している。基本骨格であるセラミドに対し、糖転移酵素が糖を付加していくことにより、ガングリオシドやスルファチドなど、多くの分子種が合成される。これまでの研究で b-シリーズガングリオシドが、痛覚過敏や触刺激を痛覚として認識する機械的アロディニアを引き起こすことが示されているが、内在性の糖脂質が疼痛時にどのような調節を受け、痛みに関与しているかについてはほとんど明らかになっていなかった。そこで、森田氏は、脊髄内のスフィンゴ糖脂質の変化が痛みに関与すると仮説を立て、まず炎症性疼痛モデルマウスの脊髄におけるスフィンゴ糖脂質合成酵素の遺伝子発現量変化について検討を行なった。その結果を踏まえ、スルファチドに注目し、スルファチドの疼痛における役割の解明に取り組んだ。 <u>研究 1: スフィンゴ糖脂質合成酵素の遺伝子発現解析</u> 起炎物質である complete Freund's adjuvant (CFA) をマウス後肢片側足底皮下に投与し、その 1 日後を早期、15 日後を慢性炎症期として、スフィンゴ糖脂質合成に関わる 6 種類の			

酵素 (UGT8A、GAL3ST1、UGCG、ST3GAL5、ST8SIA1、B4GALNT1) の mRNA 発現量について検討し、CFA 投与 1 日後に投与後肢同側の脊髄において UGCG、B4GALNT1、ST8SIA1、GAL3ST1 の mRNA 発現量が増加し、CFA 投与15 日後には UGCG、B4GALNT1、ST3GAL5、GAL3ST1 の mRNA 発現量が減少することを見出した。森田氏は、スフィンゴ糖脂質の生合成経路から、炎症早期にはガングリオシド (特に b-シリーズガングリオシド) とスルファチドが増加し、慢性炎症期にはガングリオシドとスルファチドが全般的に減少していると考え、b-シリーズガングリオシド、又はスルファチドを未処置マウスの脊髄に投与したところアロディニアが生じること、一方、慢性期に減少すると予想される a-シリーズガングリオシドやスルファチドを慢性炎症マウスの脊髄に反復投与することでアロディニアが減弱することを見出した。これらの結果から、森田氏は早期の炎症性疼痛には b-シリーズガングリオシドとスルファチドが関与していること、一方、慢性炎症期には、ガングリオシドやスルファチドの減少が疼痛を促進していると結論づけた。

#### 研究 2：スルファチドの疼痛時における役割

早期の炎症性疼痛にはスルファチドの増加が痛みを引き起こし、慢性期には逆にスルファチドの減少が痛みを引き起こすことが示唆されたことから、森田氏は、炎症早期に着目し、スルファチドがアロディニアを引き起こす機序について検討した。まず、アストロサイト及びミクログリアの活性化をそれぞれ抑制する L-aminoadipic acid (L-AA) とミノサイクリンを前投与した後、スルファチドを投与して von Frey test を行い、スルファチドにより引き起こされるアロディニアが L-AA で強く抑制されることを見出した。加えてアストロサイトマーカーである GFAP タンパク質の発現量がスルファチドにより増加することも見出されたことから、スルファチドがアストロサイトの活性化を介してアロディニアを惹起すると結論づけた。また TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及び NO 合成酵素、可溶性グアニル酸シクラーゼの抑制/阻害薬のいずれもがスルファチドによるアロディニアを抑制すること、スルファチド投与後に NO<sub>x</sub> 量や TNF- $\alpha$  及び IL-1 $\beta$  の発現量が増加することを見出し、NO や炎症性サイトカインがスルファチドによるアロディニアに関与することも示した。さらにスルファチドが直接結合するセレクチンの阻害薬 bimosiamose (BIMO) の効果についても検討を行い、スルファチドがセレクチンと結合することによりアロディニアを引き起こすこと、BIMO が CFA 足底皮下投与 7 日後のマウスにおいても鎮痛効果を示すことから、炎症性疼痛にもセレクチンが関与している可能性を示した。

これらの本研究成果は、炎症性疼痛において、脊髄における糖脂質生合成酵素群の発現量の変動し、痛みにおいて種々の糖脂質が関与していることを示唆するものである。またミエリン鞘に多量に存在するスフィンゴ糖脂質であるスルファチドが、グリア細胞の活性化や炎症性サイトカインの発現亢進を介し、痛みを引き起こすという知見は炎症性疼痛に対する新規治療薬開発への応用を期待させるものである。

以上のように、森田氏による本研究は、新規性及び独創性が高く、博士 (薬科学) の学位に十分値するものと判断し、学位審査を合格と判定した。