

論文審査の結果の要旨

氏名：古 宮 宏 記

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Involvement of neuron-satellite glial cell interaction mediated by IL-1 β in development of ectopic tooth pain following tooth pulp inflammation

(歯髄炎に伴う異所性歯痛発症における IL-1 β を介したニューロン-衛星細胞連関の関与)

審査委員：(主 査) 教授 小 林 真 之

(副 査) 教授 小木曾 文 内

教授 今 村 佳 樹

教授 岩 田 幸 一

歯髄炎発症により生じた「歯痛錯誤」は「誤診」や「誤治療」の原因になる可能性がある一方、その発症メカニズムには未だ不明な点が多く残されている。歯髄に炎症が起こると、三叉神経節ニューロンの興奮性が長期間持続することにより、三叉神経節において炎症性サイトカインやケミカルメディエーター等が合成される。それらは三叉神経節内に放出され、周辺に存在する衛星細胞を活性化する。活性化した衛星細胞は細胞体が膨化し、三叉神経節ニューロンと同様に様々な分子を合成して三叉神経節内に放出する。衛星細胞は connexin 43 (Cx43)などで構成されるギャップ結合を介して、衛星細胞相互間の情報伝達を行う一方で、活性化した衛星細胞や遊走した貪食細胞は種々のサイトカインを放出する。特にインターロイキン-1 β (IL-1 β) は、三叉神経節ニューロンに存在する interleukin-1 receptor type I (IL-1RI) に結合し、その興奮性を増強させると考えられている。これら一連の細胞内情報伝達は最終的に transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 発現を増加させ、結果として隣在歯を支配する三叉神経節ニューロンの興奮性を増大させる可能性があると考えられる。これらの仮説に基づき、本研究では、歯髄炎に伴って発現する異所性痛覚過敏の神経機構解明を目的として以下に示す一連の実験を行った。

実験 1 では、ラット歯髄炎発症後の隣在歯における侵害受容の変化に対する三叉神経節内でのタンパク合成の関与を検討した。ラットの右側上顎第一臼歯 (M1)の髄腔に 50% complete Freund's adjuvant (CFA)あるいはその溶媒 (vehicle)に浸漬したペーパーポイントを挿入し、それぞれ CFA 群と vehicle 群とした。3日後、同側上顎第二臼歯 (M2)の髄腔にペーパーポイントに浸漬した 3.0 μ M capsaicin を挿入し、投与前後の反射性顎二腹筋活動 (D-EMG)を経時的に計測し、EMG の area under the curve (AUC) の変化について解析を行った。次に M2 を支配する三叉神経節ニューロンと衛星細胞の空間的位置関係を明らかにするため、ペーパーポイントに浸漬した逆行性トレーサーである 10% Fluorogold (FG)を M2 に投与した。3日後、衛星細胞のマーカーである glial fibrillary acidic protein (GFAP)および Cx43 の発現変化を免疫組織学的に検出した。

実験 2 では、ラット歯髄炎発症により亢進した隣在歯の侵害受容性増大に対するギャップ結合阻害薬の効果について検討を加えた。ラットの頭蓋にカニューレを設置し、三叉神経節第 2 枝領域へギャップ結合を構成する Cx43 の特異的阻害薬である Gap26 を経日的に前投与した群を Gap26 群、Gap26 の溶媒を投与した群 (vehicle 群)をコントロールとした。Gap26 投与開始より 3 日後、M1 に CFA を投与した。さらにその 3 日後、M2 に capsaicin を投与し、D-EMG を経時的に計測して EMG の AUC の変化について解析を行った。また Gap26 による三叉神経節内のタンパク合成の変化を明らかにするため、M1 に CFA、M2 に FG を投与し、三叉神経節における FG 陽性ニューロン周囲の GFAP および Cx43 の発現変化を免疫組織学的に解析した。

実験 3 では、歯髄炎発症後の三叉神経節内における IL-1 β 、IL-1RI、TRPV1 の発現変化を免疫組織学的に検討した。

実験 4 では、ラット歯髄炎発症による隣在歯の侵害受容性亢進および三叉神経節内でのタンパク合成の変化に対する IL-1RI の拮抗薬の効果を検索した。ラットの頭蓋にカニューレを設置し、三叉神経節第 2 枝領域へ interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra)を経日的に前投与した群を IL-1ra 群、IL-1ra の溶媒を投与した群 (vehicle 群)をコントロールとした。IL-1ra 投与後、M1 に CFA を投与した。さらに、

その3日後にM2にcapsaicinを投与し、D-EMGを経時的に計測し、AUCの変化を解析した。またIL-1ra投与による三叉神経節内のタンパク合成変化を検索するため、M1にCFA、M2にFGを投与後、三叉神経節におけるFG陽性ニューロンでのTRPV1の発現変化を免疫組織学的に解析した。

実験5では、歯髄炎発症後の三叉神経節内における貪食細胞のマーカであるionized calcium binding adapter molecule 1 (Iba-1)およびIL-1 β の発現変化を免疫組織学的に検索した。

その結果、以下の結論を得た。

1. CFA誘導性歯髄炎ラット群におけるD-EMGは、歯髄炎発症後3日目でコントロール群と比較し有意に上昇していた。また三叉神経節内では、Cx43と共発現を示したGFAP陽性細胞によって囲まれたFG陽性ニューロン数がvehicle群に比べて歯髄炎群において有意に増加していた。
2. 三叉神経節内へのGap26投与により、D-EMGのAUCは、vehicle群と比較してGap26群で有意に抑制された。また三叉神経節内では、Cx43と共発現するGFAP陽性細胞によって囲まれたFG陽性ニューロン数の有意な減少が認められた。
3. IL-1 β と共発現するGFAP陽性細胞によって囲まれたFG陽性ニューロン数、IL-1RI陽性かつFG陽性ニューロン数、およびTRPV1陽性かつFG陽性ニューロン数の有意な増加が認められた。
4. 三叉神経節内へのIL-1ra投与により、D-EMGのAUCは、vehicle群と比較してIL-1ra群で有意な抑制が確認された。また三叉神経節内では、TRPV1陽性かつFG陽性ニューロン数の有意な減少が認められた。
5. Iba-1陽性かつIL-1 β 陽性細胞によって囲まれたFG陽性ニューロン数の有意な増加が見られた。

以上のことから、衛星細胞の活性化に伴うCx43の発現増強、炎症により活性化した衛星細胞および貪食細胞でのIL-1 β の合成および放出、発現増加したIL-1RIへのIL-1 β 結合、そしてニューロン上でのTRPV1の発現増加が、口腔顔面領域での異所性痛覚過敏発症に深く関与している可能性が明らかになった。本研究は歯髄炎に伴って発現する異所性痛覚過敏の神経機構の一端を解明したものであり、歯科保存学ならびに関連歯科臨床分野に寄与すること大であると考えられた。

よって本論文は、博士(歯学)の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成30年3月7日