

## 論文の内容の要旨

氏名：岡田真治

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：三叉神経損傷に起因する孤束核 - 橋投射ニューロン機能変化の神経障害性疼痛発症への関与

末梢神経損傷に起因する中枢神経系での可塑的变化が、神経障害性疼痛を惹起する可能性が指摘されている。口腔顔面領域の末梢神経から侵害情報が入力する三叉神経脊髄路核中間亜核（trigeminal nucleus subnucleus interpolaris: Vi）・尾側亜核（trigeminal nucleus subnucleus caudalis: Vc）の二次ニューロンは、反対側の視床後腹側内側核（ventral posteromedial thalamic nucleus: VPM）と両側の橋結合腕傍核（parabrachial nucleus: PBN）に軸索を送り、VPM から大脳皮質に投射される侵害情報は、痛みの弁別的側面を担う。一方、PBN は扁桃体、視床下部、中脳水道灰白質（periaqueductal gray: PAG）や延髄腹側外側に軸索を伸ばし、痛みの情動的または自律的な反応を調節している。背側三叉神経傍核（dorsal paratrigeminal nucleus: dPa5）と孤束核（nucleus tractus solitarii: NTS）もまた VPM と PBN に軸索を伸ばしている。これらのデータは、NTS, dPa5, PBN の神経ネットワークが口腔顔面領域の侵害情報の入力の調整に関与している可能性を示している。

三叉神経脊髄路の情報伝達中継部位である dPa5 は、延髄背外側に存在し、呼吸循環器系そして疼痛に関する体性感覚反射の調節に関与している。dPa5 は口腔顔面領域から侵害情報の入力も受ける。dPa5 のニューロンは、PBN と両側の NTS, 対側の VPM, 対側の dPa5, そして Vc の表層に軸索を伸ばす。NTS は PBN と同様に、味覚、内臓感覚のような様々な自律機能の調節にも関与している。NTS の尾側領域は三叉神経節ニューロンからの感覚入力を受け、内臓感覚を統合する領域である。侵害情報の受容をその特徴とする Vc 表層のニューロンが NTS に投射するという事は、NTS も侵害情報伝達に関与していることを示唆している。事実、口腔顔面領域への侵害刺激は dPa5 および NTS ニューロンにおいて extracellular signal - regulated kinase (ERK) のリン酸化を引き起こす。ERK は、分裂促進因子活性化タンパクキナーゼ（mitogen-activated protein kinase: MAPK）経路を担うキナーゼであり、活性化の際にリン酸化を生じる。Vc における phosphorylated ERK (pERK) の発現は神経障害性疼痛発症時に増加することから、ERK のリン酸化は慢性疼痛の発症における重要なキナーゼである可能性が高い。

そこで本研究は、眼窩下神経慢性絞扼（infraorbital nerve chronic constriction injury: ION-CCI）ラットを用いて、ION-CCI 後に dPa5 および NTS から PBN または VPM へ投射するニューロンに誘導される機能変化を免疫組織学的に解析し、口腔顔面領域の神経障害性疼痛におけるこれらの投射ニューロンの機能的役割を明らかにすることを目的とした。

Sprague - Dawley 系雄性ラット（200 - 300 g）を用い、sham または ION-CCI 処置（左側）、逆行性神経トレーサー（fluorogold: FG）の PBN または VPM への注入（右側）を行い、続いて左側上口唇へカプサイシン刺激または侵害機械刺激を加える計 8 群で検討を行った（各群 n = 4）。左側の上口唇における熱および侵害機械刺激に対する頭部引っ込め反射閾値を、処置前と処置 7 日後に測定した。上口唇において熱痛覚過敏および機械アロディニアの発症を確認後、FG を ION-CCI 処置反対側の PBN または VPM に注入した。FG 注入から 3 日後、ION-CCI 処置側の左側上口唇にカプサイシン刺激または侵害機械刺激を与え、ERK のリン酸化を誘導した。カプサイシン刺激または侵害機械刺激の開始から 5 分後に灌流固定を行った。脳切片を作製し、一次抗体に rabbit anti-phospho-p44/42 MAPK (ERK1/2) polyclonal antibody (1:500, #9101, lot #26, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA), 二次抗体に Alexa Fluor 568 anti-rabbit IgG (1:200, A11004, lot#1698376, Invitrogen, Paisley, U.K.) を用い免疫組織化学的染色を行い、蛍光顕微鏡下で解析を行った。

以下に結果を示す。

1. ION-CCI 処置側の上口唇に、熱痛覚過敏および機械アロディニアが発症した。
2. dPa5 および NTS での FG 標識 PBN 投射ニューロン数に、sham 群と ION-CCI 群で違いは認められなかった。
3. カプサイシンおよび侵害機械刺激により誘導される dPa5 の pERK 陽性細胞数に、sham 群と ION-CCI 群で違いは認められなかった。
4. カプサイシン刺激により誘導される NTS の pERK 陽性細胞数および pERK 陽性 FG 標識 - PBN 投射ニューロンの割合は、刺激反対側で、sham 群と比較して ION-CCI 群で有意に増加した。
5. dPa5 および NTS での FG 標識 VPM 投射ニューロンは sham 群および ION-CCI 群ともにわずかであった。

PBN は橋の背外側に位置しており、PBN の外側部の核 (lateral parabrachial nucleus: LPBN) が侵害情報を受け取り、扁桃体中心核 (central amygdaloid nucleus: CeA) に軸索を投射している。すなわち、LPBN-CeA 経路は、侵害情報伝達と疼痛に関係する情動的様相の調節を行っていることから、PBN は痛覚の情動・自律的な側面に強く関与しているといえる。自発痛を伴う神経障害性疼痛や熱痛覚過敏は、カプサイシンによって活性化され、主に細径の A $\delta$  線維や無髄の C 線維に存在する TRPV1 陽性ニューロンによって調節されている。これまでの研究結果と本研究の結果から、カプサイシン刺激によって活性化された NTS の pERK 陽性 - PBN 投射ニューロンは、NTS - PBN 経路によって C 線維を介した侵害情報を統合し、痛覚の情動的な様相と自律神経系応答の増強に関与するものと推察される。

dPa5 ニューロンは両側の NTS 尾側領域および反対側の Vc 第 1 層に投射している。dPa5 から NTS への投射ニューロンは C 線維または A $\delta$  線維刺激により誘発される痛覚の抑制に関与していることが報告されている。さらに著者は、naïve ラットと ION-CCI 処置群 (Okada et al. under review) の Vc 表層における刺激誘発性 ERK のリン酸化を確認している。本研究では、上口唇に対するカプサイシンまたは侵害機械刺激により、両側の NTS と刺激と同側の dPa5 ニューロンにおいて ERK のリン酸化が観察された。上記の結果より、NTS は dPa5 および Vc からの入力と同様に、一次求心性神経線維を含む様々な経路を介して侵害情報の入力を受け取る可能性があると考えられる。PBN は PAG に投射し、吻側延髄腹内側部 (Rostroventromedial medulla: RVM) にも直接または間接的に投射し、侵害情報を伝達する。PBN の外側部の核 (lateral parabrachial nucleus: LPBN) から PAG および RVM への機能的な投射は、脊髄と PBN 間の下行性抑制系の機能を増強すると考えられている。さらに、NTS 尾側領域からの上行性投射もまた、この経路の機能調節に関与するものと推察される。これまで、NTS において、カプサイシン刺激により活性化される pERK 陽性細胞の多くは、GABA を発現することが報告されている。また、侵害情報を伝達する求心性神経線維は、NTS の NK1 陽性 GABA 作動性介在ニューロンを直接または間接的に活性化させる。すなわち、侵害情報の入力が NTS の GABA 作動性の抑制機構を賦活化することを示している。神経障害性疼痛発症時には、脱抑制に基づく中枢感作の結果、GABA 作動性介在ニューロンの長期抑制が起き、脊髄内で TRPV1 チャネルが活性化される。過去の知見と今回の結果から、NTS におけるカプサイシン感受性 C 線維による調節を受ける GABA 作動性の情報伝達は、三叉神経損傷に起因する口腔顔面領域の神経障害性疼痛に深く関与すると考えられる。

本研究の結果から、NTS から PBN に向かう投射ニューロンの機能的変化と、NTS および PBN 間の侵害情報伝達機構を修飾するニューロンは、三叉神経損傷に起因する口腔顔面領域の神経障害性疼痛発症に深く関与している可能性が示された。しかしその一方で、dPa5 および NTS から VPM に至る情報伝達機構は、眼窩下神経慢性絞扼に起因する神経障害性疼痛に関与する可能性は低い。本研究結果と過去の報告から考察すると、NTS および PBN 間の侵害情報伝達機構の機能的変化が三叉神経損傷に起因する口腔顔面領域の慢性疼痛における情動的な側面に対し重要な役割を果たしている可能性が新たに示された。