

# 舌乾燥ラットの延髄に出現する活性型アストロサイトの分布様式

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻

小野瀬 弘記

(指導：岩田 幸一 教授, 篠田 雅路 准教授)

## 緒言

口腔は食物摂取、発話あるいは呼吸など、他の臓器にはない複数の特殊な機能を有している。このような口腔の機能を正常に維持するためには、口腔粘膜が湿潤な状態である必要がある。口腔粘膜は乾燥状態に置かれると損傷を受ける。口腔粘膜の乾燥は、粘膜の損傷だけでなく、乾燥した口腔粘膜を支配する神経線維に対しても障害を与える可能性がある。

過去の多くの研究により、神経が損傷を受けると、損傷神経には高頻度スパイク発射を示す損傷電位が誘導されることが報告されている<sup>6,7,25,26</sup>。損傷電位に引き続き一次ニューロンには高頻度の自発活動が引き起こされ、ニューロンの活動性はさらに亢進する。このような損傷神経の過興奮が長期間にわたって持続すると、神経節細胞においてサイトカインや神経ペプチドの合成が進む<sup>5,16,23,27</sup>。神経節細胞における様々な物質の合成亢進は末梢神経系の感作を誘導し、神経興奮はさらに亢進する。末梢神経系の興奮性の増加は中枢神経系に伝えられ、中枢神経系の興奮性の増大を引き起こすことが知られている<sup>15</sup>。

口腔顔面領域における侵害情報は三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) および上部頸髄である C1/C2 領域、あるいは孤束核 (NTS) へと送られる<sup>11,12,14,19</sup>。Vc および C1/C2 に存在する侵害受容ニューロンは活動性を増強させ、それに従って様々な分子の合成が進み、やがて感作される<sup>24</sup>。このような Vc および C1/C2 の侵害受容ニューロンの興奮性の増強は、結果的に口腔顔面領域にアロディニアや痛覚過敏を引き起こす<sup>12,13</sup>。侵害受容ニューロンが感作される過程で、周辺領域に存在するミクログリアやアストログリアも活性化され、侵害受容ニューロンに対して興奮性変化を及ぼすことが報告されている<sup>20,22</sup>。活性化されたグリア細胞はサイトカインを初めとする様々な物質を

合成し、放出することが知られている<sup>4)</sup>。活性型グリア細胞から放出された物質は、NTS に存在するニューロンにも活動性変化を誘導することが報告されているが、その詳細は明らかにされていない。

また、Nakaya らは舌乾燥ラットにおいて、舌への機械あるいは熱刺激に対する頭部ひっこめ反射閾値を測定し、機械刺激に対する閾値の低下はみられるものの、熱刺激に対する閾値の低下はないと報告している<sup>18)</sup>。この結果は、舌乾燥によって機械受容器の興奮性の亢進、それに引き続く Vc および C1/C2 ニューロン活動の活動性増強が引き起こされる可能性を示している。しかしながら、このような舌乾燥によって Vc および C1/C2 領域に誘導される一連の変化がグリア細胞活性化亢進に関与するか否かについては全く不明である。そこで、本研究では Vc および C1/C2 領域に存在する侵害受容ニューロン活動の変調に大きな影響を及ぼすと考えられるアストロサイトに注目し、Vc および C1/C2 におけるアストロサイトの舌乾燥に伴う活性化様式を明らかにすることを目的とした。

## 材料および方法

本研究は、日本大学実験動物委員会の許可を得（承認番号：AP18DEN014-1）、同指針および国際疼痛学会の基準に従って行われた<sup>28)</sup>。

### 1. 舌乾燥モデルラットの作製および頭部ひっこめ反射閾値の測定

実験には Sprague-Dawley 系雄性ラット 20 頭を用いた。動物を 2% isoflurane にて麻酔した状態で仰臥位にし、毎日 1 時間、舌を口腔外に牽引して舌を乾燥させた。乾燥を 7 日間継続させ、舌乾燥モデルラット（乾燥群）を作製した (n = 10)。一方、シャムラットは舌を牽引せず乾燥させることなく毎日 2% isoflurane にて麻酔した状態で 1 時間仰臥位にし、これを 7 日間継続した（シャム群）(n = 10)。舌乾燥あるいはシャム処置後 7 日目に isoflurane 浅麻酔下で、舌の左側辺縁部に先端の表面積が 4 mm<sup>2</sup> のデジタルピンセット (Panlab, S.L., Barcelona, Spain) を用いて機械刺激 (0–150 g, 10 g/s, cut off: 150 g) を与え、頭部ひっこめ反射閾値 (HWRT) を測定し、舌に機械痛覚過敏が起きているか否かを判定した。

### 2. 脳標本の取り出しおよび抗 GFAP 抗体による Vc, C1/C2 および NTS の免疫染色

舌乾燥あるいはシャム処置を 7 日間施したラットを sodium pentobarbital (80 mg/kg, i.p.) で深く麻酔し、500 ml 生理食塩液にて脱血後、0.1 M phosphate buffer にて希釈した 4% paraformaldehyde 溶液 (pH 7.4, 4°C) 500 ml を用いて灌流固定を行った。灌流固定終了後に延髄を含む全脳部位を摘出し、同じ固定液を用い 4°C で 2 日間、後固定を行った。取り出した脳脊髄標本を 0.01 M phosphate buffered saline (PBS) にて希釈した 20% スクロース溶液 (w/v) に移し換え、2 日間、4°C に保存した。

24 時間 4°C で保存した脳標本をドライアイスで凍結し、ミクロトームを用いて三叉神経脊髄路核を含む延髄の連続切片標本（厚さ 50  $\mu\text{m}$ ）を作製して 3 切片毎に 1 切片を取り出し、以下の方法によって nickel-cobalt 加 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB, 東京化成) 染色を施した。まず、厚さ 50  $\mu\text{m}$  の切片を、0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  に 30 分間浸漬し、内因性ペルオキシダーゼを不活性化した後、0.01 M PBS にて 5 分間の洗浄を 3 回行った。洗浄終了後、0.3% Triton X-100 / 5% normal goat serum (NGS)-PBS に 1 時間浸漬し、ブロッキングを行った。その後、4°C で一次抗体である rabbit anti-rat glial fibrillary acidic protein (GFAP, 1: 1000; Merck Millipore) に 3 日間浸漬し、0.01 M PBS にて 10 分間の洗浄を 3 回行った。次いで切片を二次抗体である biotinylated goat anti-rabbit IgG (H+L) (1: 600; Vector laboratories) に室温で 2 時間浸漬した。その後 ABC kit (Vector laboratories) を用いて室温で 1 時間、酵素抗体反応を行った。0.01 M PBS で 10 分間の洗浄を 3 回繰り返した後、DAB を用いて反応産物を可視化した。次いで、切片を 0.01 M PBS にて洗浄し、MAS-GP でコートしたスライドガラス (Matsunami) に貼り付け、室温にて乾燥させた後、アルコールとキシレンにより脱水・透徹を行い、封入剤 (Thermo Scientific) を用いて封入した。また、DAB 反応させた GFAP 陽性細胞を光学顕微鏡下で観察し、Vc, C1/C2 領域および NTS の顕微鏡写真を撮影して image J software (Research Services Branch) を用いて GFAP 陽性細胞密度の解析を行った。

### 3. 統計学的解析

データは平均  $\pm$  標準誤差で表し、有意差検定には Student's *t*-test を用いた。また、 $p < 0.05$  を有意ありと判定した。

## 結果

### 1. 舌の機械刺激に対する HWRT

7日間、舌乾燥あるいはシャム処置を施したラットの舌に対して isoflurane 浅麻酔下で機械刺激を与え、HWRT を測定した。Fig. 1 に示したように、舌の機械刺激に対する HWRT は、シャム群に比べ乾燥群の方が有意に低い値を示した。

### 2. 延髄における GFAP 陽性細胞の分布

Fig. 2 に乾燥群の延髄における GFAP 陽性細胞の組織標本写真を示す。GFAP 陽性細胞は細胞体が黒色に染まった点状の構造物と細胞体から突出する複数の突起からなる形態を有していた。Vc においては多くの GFAP 陽性細胞が広く分布している様子が観察された (Fig. 2A)。特に Vc においては、深層部に比較して表層部により多くの GFAP 陽性細胞が観察された。また、GFAP 陽性細胞の背腹側的な分布をみると、腹側部領域では密度がやや低く (Fig. 2A および B の矢印)、中央部から背側部においてより高密度の分布を示していた (Fig. 2B, C および D)。さらに、NTS においても中心管の背側部で両側性に多くの GFAP 陽性細胞を認めた (Fig. 2E および F)。一方、シャム群では Vc 全体に少数の GFAP 陽性細胞が認められた (Fig. 2G, H, I および J)。一方、NTS においては乾燥群と同様、シャム群においても多くの GFAP 陽性細胞が見られた (Fig. 2K および L)。

### 3. 三叉神経第 I 枝支配 Vc および C1/C2 領域における GFAP 陽性細胞の吻尾的広がり

Fig. 3 は三叉神経第 I 枝支配領域における GFAP 陽性細胞の吻尾的広がりを示している。本研究では、三叉神経の投射領域である obex から尾側へ 5040  $\mu\text{m}$  までの領域

を Vc および C1/C2 として解析を行った。Fig. 3 に示したように obex から尾側へ 5,040  $\mu\text{m}$  までのどの領域においても多くの GFAP 陽性細胞を認めた。乾燥群において GFAP 陽性細胞は obex から 2,160  $\mu\text{m}$  尾側領域においてピークを示しそれより尾側に行くにしたがって出現量は減少していた。一方、シャム群においても GFAP 陽性細胞が見られたが、シャム群では乾燥群よりやや尾側の obex より -3,600  $\mu\text{m}$  にピークを示す分布を示していた。また、GFAP 陽性細胞の出現量を比較すると、乾燥群とシャム群では、obex から 2,160  $\mu\text{m}$  尾側部において乾燥群で有意に多くの GFAP 陽性細胞を認めた。

#### 4. 三叉神経第Ⅱ枝支配領域における GFAP 陽性細胞の吻尾的広がり

Fig. 4 は三叉神経第Ⅱ枝支配領域における GFAP 陽性細胞の吻尾的広がりを示している。乾燥群においては obex から 1,440  $\mu\text{m}$  尾側部領域にピークを有する分布を示していた (Fig. 4)。一方で、シャム群においては、明らかなピークは認められず、obex レベルから尾側 5,040  $\mu\text{m}$  まで、ほぼ均一な分布を示していた。また、乾燥群においてピークを認めた obex から尾側へ 1,440  $\mu\text{m}$  のレベルにおいては乾燥群の方がシャム群に比べ GFAP 陽性細胞が有意に多く認められた。

#### 5. 三叉神経第Ⅲ枝支配領域における GFAP 陽性細胞の吻尾的広がり

三叉神経第Ⅲ枝支配領域における GFAP 陽性細胞は、乾燥群において obex から尾側へ 2,160  $\mu\text{m}$  のレベルにピークを示していた (Fig. 5)。一方で、シャム群においては obex レベルが最も少なく、それより尾側部ではほぼ均一な分布を示していた。また、obex より 2,160  $\mu\text{m}$  から 3,600  $\mu\text{m}$  のレベルにおいては、シャム群に比べ乾燥群の方が有意に多くの GFAP 陽性細胞を認めた。

## 6. NTS における GFAP 陽性細胞の吻尾的分布

本研究では NTS においても多くの GFAP 陽性細胞を認めた (Fig.1 および Fig. 6)。NTS における分布様式は Vc および C1/C2 領域とは異なり、吻側から尾側にかけて、ほぼ均一な出現パターンを示していた。また、乾燥群とシャム群を比較しても、出現量に有意な違いが認められなかった。



## 考察

従来の研究から、唾液腺の損傷、唾石あるいは腫瘍、またはシェーグレン症候群によって唾液分泌が障害されると、口腔粘膜は乾燥し、口腔感覚障害、咀嚼障害あるいは嚥下障害など様々な口腔機能障害が引き起こされることが報告されている<sup>19)</sup>。口腔粘膜の乾燥は粘膜を支配する神経を損傷し、感覚障害だけでなく神経障害性疼痛を発症する。しかし、口腔乾燥による口腔粘膜の痛みがどのようなメカニズムで起こされるかについては不明な点が多く残されている。本研究では、舌乾燥モデルラットを作製し、舌乾燥に伴う舌痛発症の神経機構の一端を解明した。

### 1. 舌乾燥と舌の痛覚

本研究では舌乾燥7日目に、舌の機械刺激に対してHWRTの有意な低下が認められ、またその値は約75gであり過去の研究結果とほぼ同様であった。さらに、機械刺激だけでなく熱刺激に対するHWRTについても報告があり、舌乾燥では熱刺激に対する痛覚過敏は起こされないとされている<sup>18)</sup>。これらのことから、舌を乾燥すると、熱に対してではなく機械刺激に対してのみ痛覚過敏が発症すると考えられる。

### 2. Vcにおける活性型アストロサイトの出現分布様式

これまでの研究ではアストロサイトを初めとする様々なグリア細胞はニューロンの形態維持や栄養供給などの役割を担っており、ニューロンの興奮性には大きな作用を示さない細胞であると考えられてきた<sup>10)</sup>。しかし、近年、アストロサイトやミクログリアは、ニューロン活動の変調に直接関与することが明かにされてきた<sup>3)</sup>。本研究では、Vcの表層部領域に多くのGFAP陽性細胞を認めた。形態学的解析によりVc

表層部には無髄の C 線維および細径の有髄神経線維である A $\delta$ 線維が投射すると報告されている<sup>8)</sup>。C 線維や A $\delta$ 線維を介して入力を受ける Vc 表層ニューロンは、その多くが特異的侵害受容 (NS) ニューロンであると報告されている<sup>13)</sup>。このことから、本研究で観察された多くの GFAP 陽性細胞、すなわち活性型アストロサイトは、NS ニューロンの活動性変調に関与すると考えられる。

また、三叉神経第 I 枝、II 枝および III 枝支配領域における GFAP 陽性細胞の分布をみると、第 III 枝支配領域においてやや高い出現を認めるものの、どの三叉神経枝支配領域においても Vc 表層部で多く観察された。この結果から、アストロサイトの活性化領域が口腔顔面の侵害情報を強く受ける Vc の表層部を中心に拡大するものと推定される。すなわち、アストロサイトの活性化には明らかな体部位局在性が存在しないと考えられる。

### 3. Vc ニューロンとアストロサイトの関係

これまでの研究から、末梢組織に侵害刺激が加えられると、興奮した神経節細胞において、神経ペプチド、サイトカインあるいは神経成長因子など様々な物質の合成が亢進し、放出されることが報告されている<sup>4)</sup>。これらの物質は神経節細胞周囲に存在するアストロサイトを活性化し、神経節細胞の活動性はさらに増強する。一次ニューロンの活動性の増強が長く続くと、一次ニューロンは感作され、二次ニューロンである Vc や C1/C2 ニューロンの活動性の増強を引き起こす<sup>12,13)</sup>。二次ニューロンの活動が増強するとニューロンとグリア細胞との機能的な連絡によって、アストロサイトやミクログリアが活性化するといわれている<sup>20,22)</sup>。本研究で、Vc において観察された多くの活性型アストロサイトも、上述のメカニズムによって活性化されたものと考え

られる。特に、最近の研究で、アストログリアの活性化亢進によって、一次ニューロンから放出されるグルタミン酸の量が増加して二次ニューロン活動が亢進されることが明らかにされ、シナプス伝達に変調をかけると報告されている<sup>4)</sup>。本研究においても多くの GFAP 陽性細胞が Vc 表層において検出されていることから、この領域における一次ニューロンと二次ニューロンのシナプス伝達がアストロサイトのグルタミン酸を介した経路によって調節されている可能性がある。

#### 4. NTS に出現した活性型アストロサイトの働き

NTS は様々な自律神経系応答に関与するといわれているが、強く侵害情報も受けており、非常に複雑な機能を有する領域として知られている<sup>2,17,21)</sup>。本研究ではこの領域に多くの GFAP 陽性細胞を認めたが、活性型アストロサイトがニューロン活動の変調に強く関与すると報告されていることから勘案すると、舌の乾燥によって、活性型アストロサイトを介して NTS ニューロン活動が増強している可能性がある。おそらく、舌乾燥によって NTS ニューロン活動が亢進し、様々な自律神経系応答の変調が誘導されているものと推定される。しかし、著者の研究ではシャム群においても多くの GFAP 陽性細胞を観察していることから、NTS におけるニューロン活動の変調には舌乾燥以外の入力に関与も考えられる。今後はこの点を解明するため、さらなる研究が必要である。

## 結 論

麻酔ラットの舌を乾燥させ作製した舌乾燥モデルラットを用いて、延髄における GFAP 陽性細胞分布について解析を行い、以下の知見を得た。

1. 7日間、舌乾燥あるいはシャム処置を施したラットの舌に対して isoflurane 浅麻酔下で機械刺激を与え、HWRT を測定した結果、舌の機械刺激に対する HWRT は、シャム群のに比べ乾燥群の方が、有意に低い値を示した。
2. Vc においては、深層部に比較して表層部により多くの GFAP 陽性細胞が観察された。
3. NTS においては、乾燥群およびシャム群共に中心管の背側部に両側性に出現した。
4. 三叉神経第 I 枝領域においては、obex から尾側へ 5,040  $\mu\text{m}$  までのどの領域においても多くの GFAP 陽性細胞を認めた。乾燥群において GFAP 陽性細胞は obex から 2160  $\mu\text{m}$  尾側領域でピークを示しそれより尾側に行くにしたがって減少していた。
5. 三叉神経第 II 枝領域では GFAP 陽性細胞は obex から 1,440  $\mu\text{m}$  尾側部領域にピークを示していた。
6. 三叉神経第 III 枝領域における GFAP 陽性細胞は、obex から尾側へ 2,160  $\mu\text{m}$  のレベルにおいてピークを示していた。
7. NTS における出現様式は Vc および C1/C2 領域とは異なり、吻側から尾側にかけてほぼ均一な出現パターンを示していた。

以上から、Vc に出現した活性型アストロサイトは舌乾燥によって引き起こされる舌の機械痛覚過敏発症に関与するのに対し、NTS の活性型アストロサイトは舌乾燥に関連する様々な自律神経系応答に関与する可能性が示された。

## 文 献

- 1) Al Hamad A, Lodi G, Porter S, Fedele S, Mercadante V (2019) Interventions for dry mouth and hyposalivation in Sjogren's syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis* 25, 1027-1047.
- 2) Baude A, Strube C, Tell F, Kessler JP (2009) Glutamatergic neurotransmission in the nucleus tractus solitarii: structural and functional characteristics. *J Chem Neuroanat* 38, 145-153.
- 3) Brekke E, Morken TS, Sonnewald U (2015) Glucose metabolism and astrocyte-neuron interactions in the neonatal brain. *Neurochem Int* 82, 33-41.
- 4) Chiang CY, Dostrovsky JO, Iwata K, Sessle BJ (2011) Role of glia in orofacial pain. *Neuroscientist* 17, 303-320.
- 5) De AK, Ghosh JJ (1990) Inflammatory responses induced by substance P in rat paw. *Indian J Exp Biol* 28, 946-948.
- 6) Devor M, Govrin-Lippmann R, Raber P (1985) Corticosteroids suppress ectopic neural discharge originating in experimental neuromas. *Pain* 22, 127-137.
- 7) Devor M, Raber P (1983) Autotomy after nerve injury and its relation to spontaneous discharge originating in nerve-end neuromas. *Behav Neural Biol* 37, 276-283.
- 8) Dubner R, Bennett GJ (1983) Spinal and trigeminal mechanisms of nociception. *Annu Rev Neurosci* 6, 381-418.
- 9) Field EA, Rostron JL, Longman LP, Bowman SJ, Lowe D, Rogers SN (2003) The development and initial validation of the Liverpool sicca index to assess symptoms and dysfunction in patients with primary Sjogren's syndrome. *J Oral Pathol Med* 32, 154-162.
- 10) Herculano-Houzel S (2014) The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain

- structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia* 62, 1377-1391.
- 11) Hu JW (1990) Response properties of nociceptive and non-nociceptive neurons in the rat's trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) related to cutaneous and deep craniofacial afferent stimulation and modulation by diffuse noxious inhibitory controls. *Pain* 41, 331-345.
  - 12) Iwata K, Takahashi O, Tsuboi Y, Ochiai H, Hibiya J, Sakaki T, Yamaguchi Y, Sumino R (1998) Fos protein induction in the medullary dorsal horn and first segment of the spinal cord by tooth-pulp stimulation in cats. *Pain* 75, 27-36.
  - 13) Iwata K, Tashiro A, Tsuboi Y, Imai T, Sumino R, Morimoto T, Dubner R, Ren K (1999) Medullary dorsal horn neuronal activity in rats with persistent temporomandibular joint and perioral inflammation. *J Neurophysiol* 82, 1244-1253.
  - 14) Kawabata A, Itoh H, Kawao N, Kuroda R, Sekiguchi F, Masuko T, Iwata K, Ogawa A (2004) Activation of trigeminal nociceptive neurons by parotid PAR-2 activation in rats. *Neuroreport* 15, 1617-1621.
  - 15) Latremoliere A, Woolf CJ (2009) Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 10, 895-926.
  - 16) Lees JG, Fivelman B, Duffy SS, Makker PG, Perera CJ, Moalem-Taylor G (2015) Cytokines in Neuropathic Pain and Associated Depression. *Mod Trends Pharmacopsychiatry* 30, 51-66.
  - 17) Machado BH, Mauad H, Chianca Junior DA, Haibara AS, Colombari E (1997) Autonomic processing of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitarii. *Braz J Med Biol Res* 30, 533-543.
  - 18) Nakaya Y, Tsuboi Y, Okada-Ogawa A, Shinoda M, Kubo A, Chen JY, Noma N, Batbold D, Imamura Y, Sessle BJ, Iwata K (2016) ERK-GluR1 phosphorylation in trigeminal

spinal subnucleus caudalis neurons is involved in pain associated with dry tongue.

Mol Pain 12, Apr 26;12. pii: 1744806916641680.

- 19) Noma N, Tsuboi Y, Kondo M, Matsumoto M, Sessle BJ, Kitagawa J, Saito K, Iwata K (2008) Organization of pERK-immunoreactive cells in trigeminal spinal nucleus caudalis and upper cervical cord following capsaicin injection into oral and craniofacial regions in rats. *J Comp Neurol* 507, 1428-1440.
- 20) Okada-Ogawa A, Suzuki I, Sessle BJ, Chiang CY, Salter MW, Dostrovsky JO, Tsuboi Y, Kondo M, Kitagawa J, Kobayashi A, Noma N, Imamura Y, Iwata K (2009) Astroglia in medullary dorsal horn (trigeminal spinal subnucleus caudalis) are involved in trigeminal neuropathic pain mechanisms. *J Neurosci* 29, 11161-11171.
- 21) Sevoz-Couche C, Brouillard C (2017) Key role of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the nucleus tractus solitarii in cardiovagal stress reactivity. *Neurosci Biobehav Rev* 74, 423-432.
- 22) Shibuta K, Suzuki I, Shinoda M, Tsuboi Y, Honda K, Shimizu N, Sessle BJ, Iwata K (2012) Organization of hyperactive microglial cells in trigeminal spinal subnucleus caudalis and upper cervical spinal cord associated with orofacial neuropathic pain. *Brain Res* 1451, 74-86.
- 23) Sulaiman W, Nguyen DH (2016) Transforming growth factor beta 1, a cytokine with regenerative functions. *Neural Regen Res* 11, 1549-1552.
- 24) Suzuki I, Tsuboi Y, Shinoda M, Shibuta K, Honda K, Katagiri A, Kiyomoto M, Sessle BJ, Matsuura S, Ohara K, Urata K, Iwata K (2013) Involvement of ERK phosphorylation of trigeminal spinal subnucleus caudalis neurons in thermal hypersensitivity in rats with infraorbital nerve injury. *PLoS One* 8, e57278.
- 25) Wall PD, Waxman S, Basbaum AI (1974) Ongoing activity in peripheral nerve: injury discharge. *Exp Neurol* 45, 576-589.
- 26) Wiesenfeld Z, Lindblom U (1980) Behavioral and electrophysiological effects of various

types of peripheral nerve lesions in the rat: a comparison of possible models for chronic pain. *Pain* 8, 285-298.

27) Zhang ZJ, Jiang BC, Gao YJ (2017) Chemokines in neuron-glia cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain. *Cell Mol Life Sci* 74, 3275-3291.

28) Zimmermann M (1983) Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16, 109-110.



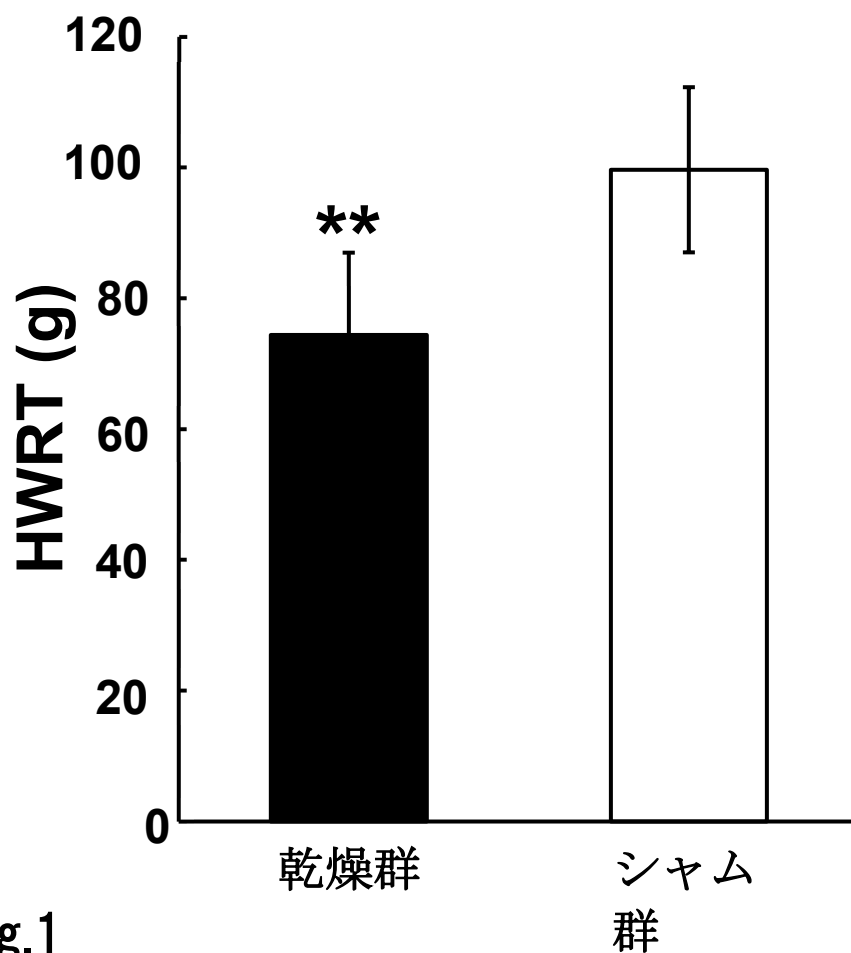


Fig.1  
乾燥群およびシヤム群の舌に対する機械刺激  
によって引き起こされる HWRT, \*\*  $p < 0.01$

乾燥群

シヤム群

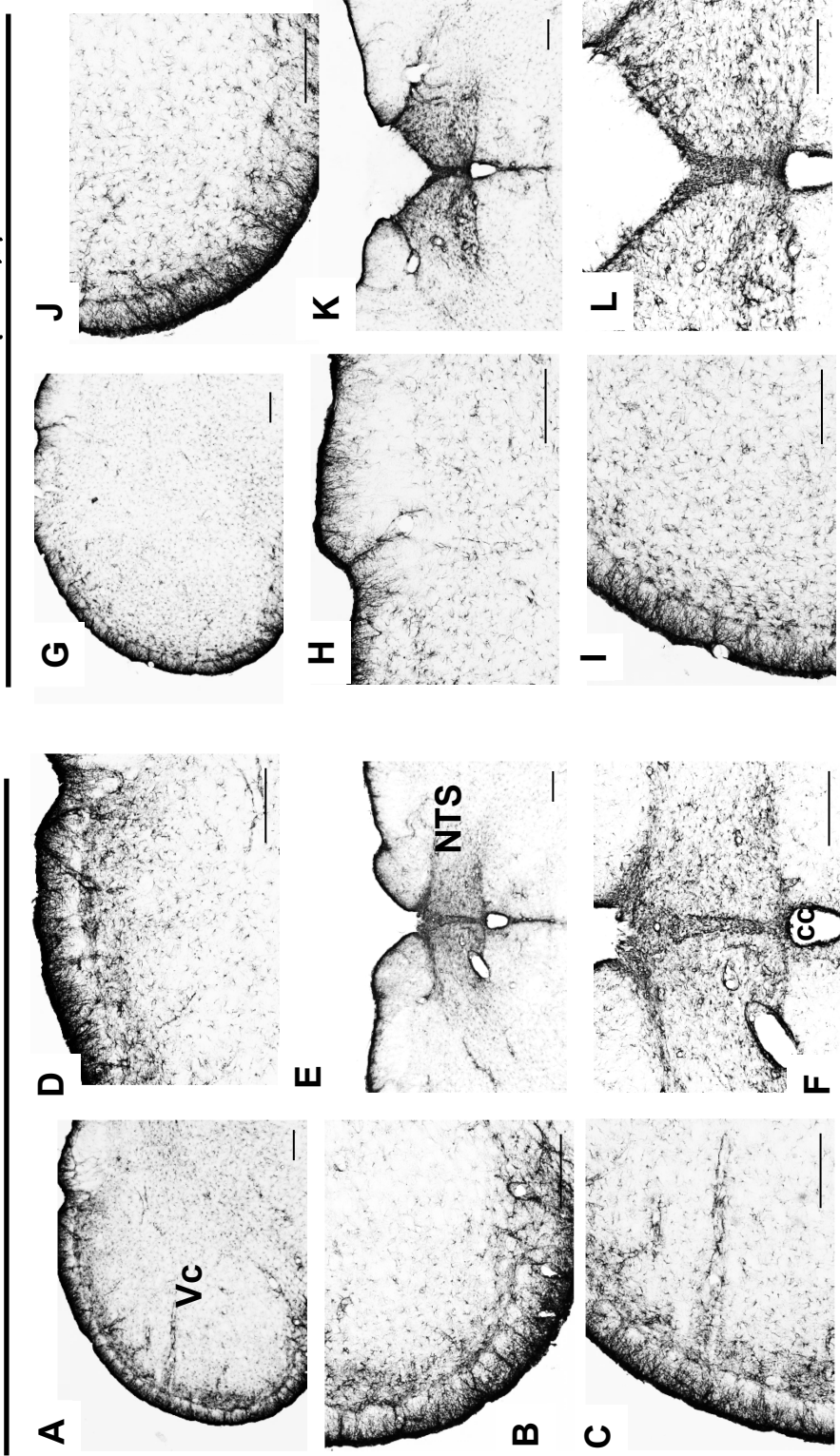


Fig.2

乾燥群の延髄におけるGFAP陽性細胞の組織標本写真

A: 三叉神経脊髄路核尾側亜核, B: 第I枝領域, C: 第II枝領域, D: 第III枝領域, E: NTSの弱拡大写真, F: NTSの強拡大写真, cc: 中心管, スケールバー: 200  $\mu$ m

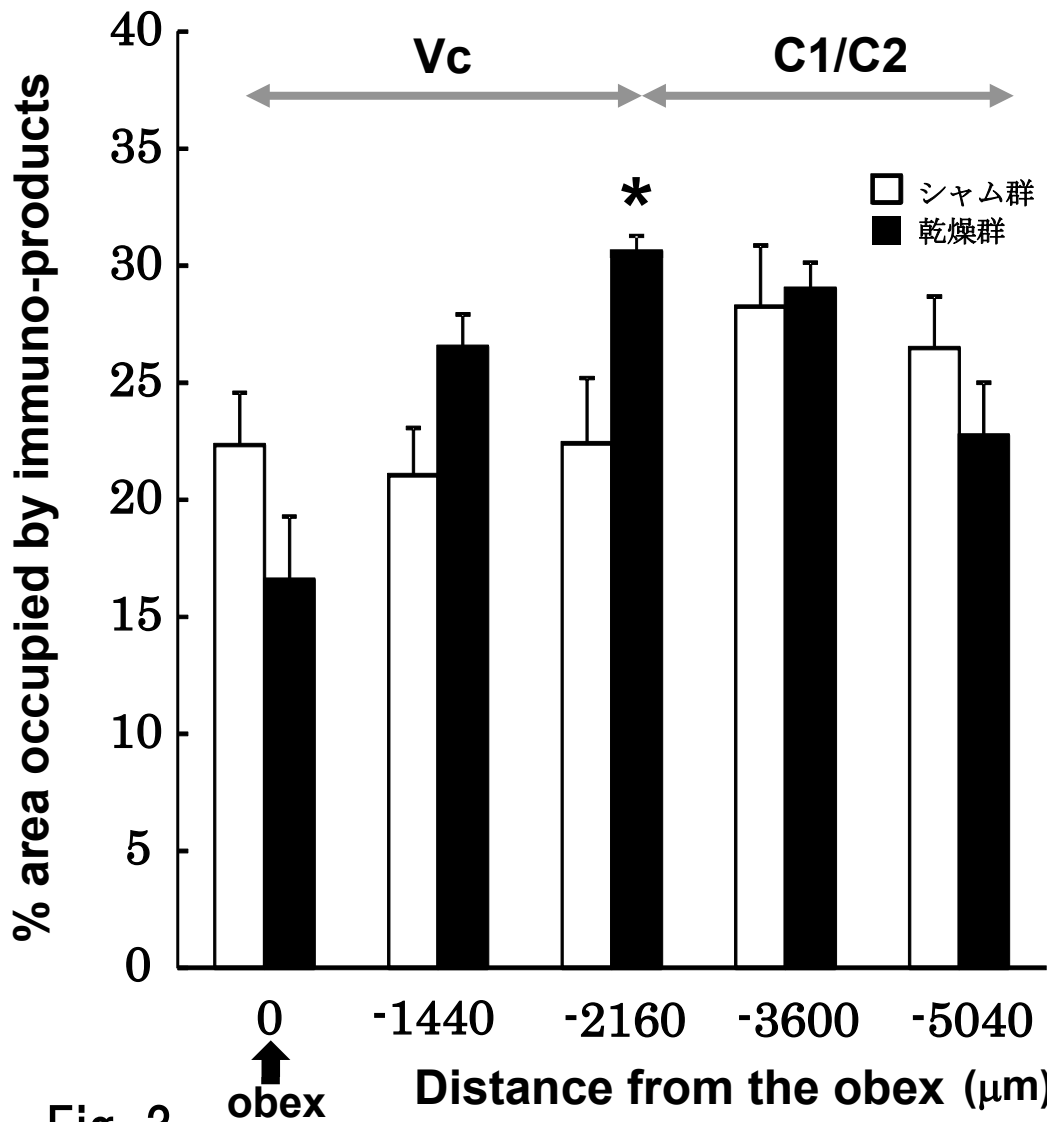


Fig. 3

舌乾燥ラットの第 I 枝の Vc および C1/C2 領域における GFAP 陽性細胞の割合, \*:  $p < 0.05$

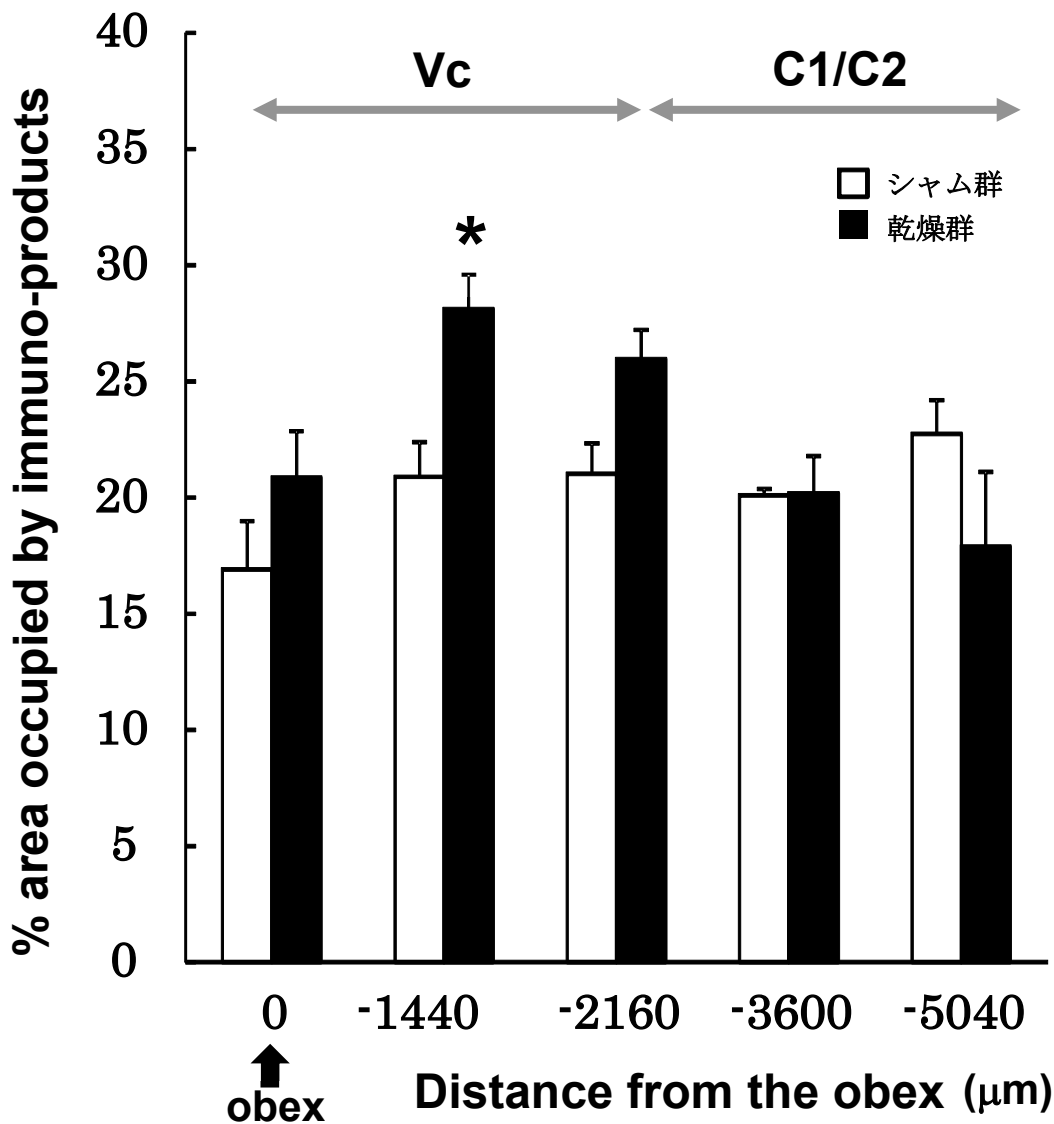


Fig. 4

舌乾燥ラットの第Ⅱ枝のVcおよびC1/C2領域におけるGFAP陽性細胞の割合, \*:  $p < 0.05$

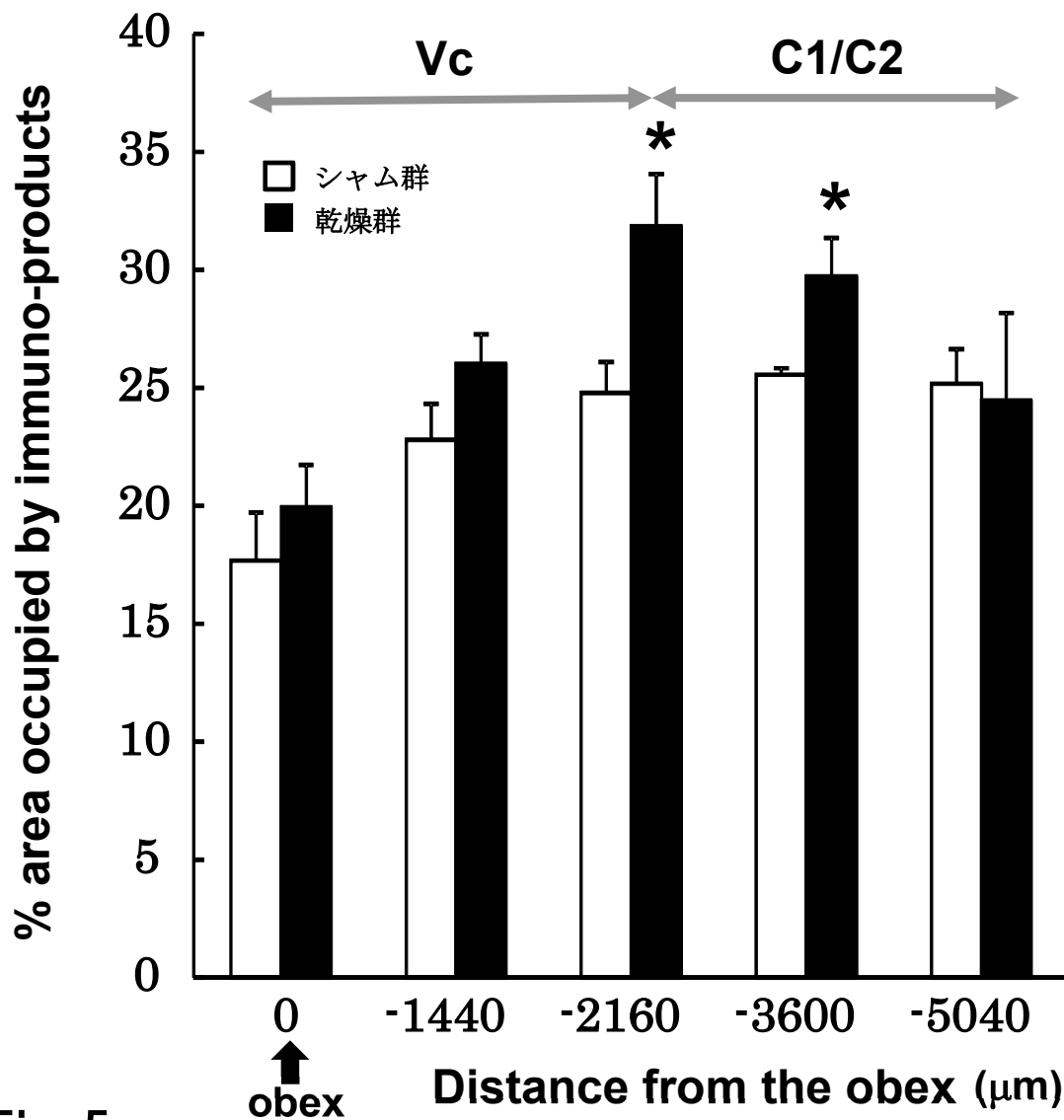


Fig. 5

舌乾燥ラットの第Ⅲ枝支配 Vc および C1/C2 支配領域における GFAP 陽性細胞発現の割合, \*:  $p < 0.05$

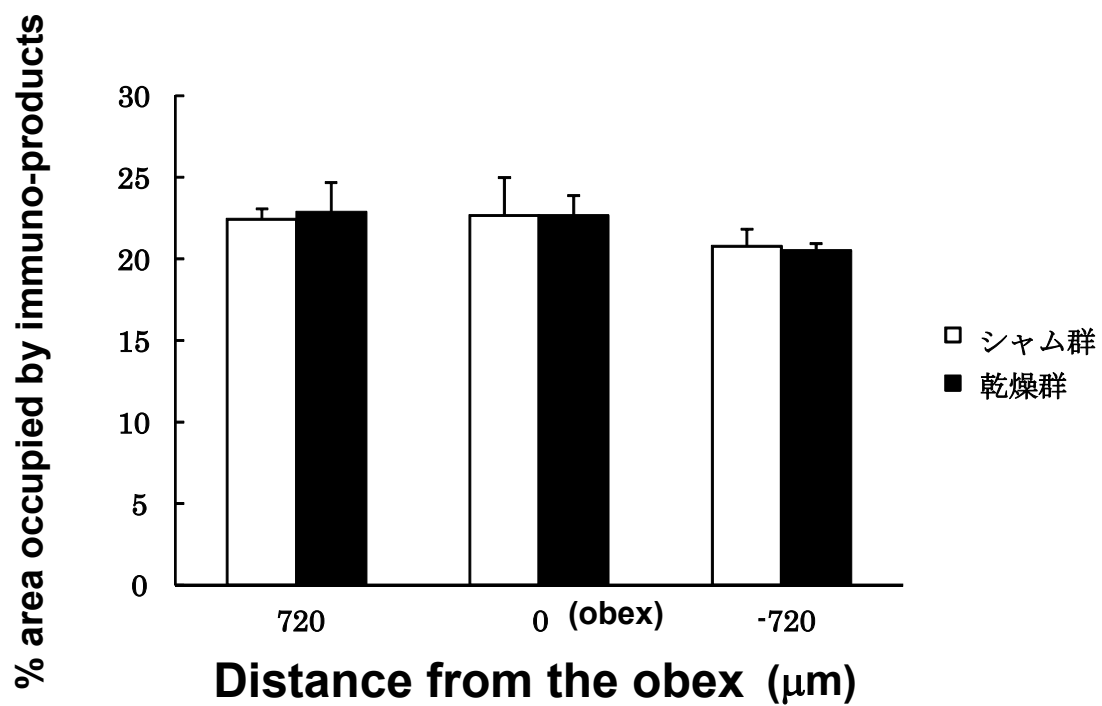


Fig. 6

舌乾燥ラットのNTSにおけるGFAP陽性細胞の割合