

## 論文審査の結果の要旨

氏名：菅野 浩平

博士の専攻分野の名称：博士 (歯学)

論文題名：Macrophage-mediated Toll-like receptor 4–interleukin-1R signaling via p38 phosphorylation contributes to the ectopic tongue pain following tooth pulp inflammation  
(歯髄炎に起因する舌痛覚過敏発症に対する p38 のリン酸化を介した三叉神経節内 TLR4–IL-1R シグナル伝達へのマクロファージの関与)

審査委員：(主査) 教授 小林 真之  
(副査) 教授 武市 収 教授 佐藤 秀一  
教授 篠田 雅路

三叉神経の損傷や口腔顔面領域の炎症に起因する慢性痛は、口腔顔面領域の感覚のみならず、咀嚼や嚥下などの様々な運動にも影響し、機能障害を引き起こす。この要因として、病変部を支配する三叉神経節ニューロンの長期感作と興奮性の増強、それに引き続く非病変部を支配する三叉神経節ニューロンと三叉神経脊髄路核ニューロンの可塑的变化が考えられている。歯髄に炎症が起こると、歯髄だけでなく口腔顔面の広い領域に異所性疼痛が引き起こされることが知られており、歯科臨床において、口腔顔面に発症した異所性疼痛は誤診や誤治療など様々な問題を引き起こす要因となる。三叉神経節には衛星細胞、マクロファージ、リンパ球等の非神経細胞が存在し、さまざまなシグナル伝達を介して三叉神経節ニューロンの興奮性調節に関与する。しかし、三叉神経節において、歯髄炎に起因して三叉神経節に集積するマクロファージと三叉神経節ニューロン間の相互作用がいかなるメカニズムで疼痛発症に関与するかは明らかにされていない。そこで、三叉神経節内のマクロファージとニューロン間の機能連関が、いかなるメカニズムで歯髄炎に起因した舌痛覚過敏を発症するかを解明することを目的とし、本研究を行った。

実験には、Sprague-Dawley 系雄性ラットを用いた。左側下顎の第一臼歯 (M1) 咬合面のエナメル質と象牙質全体を切削して露髄させることによって歯髄炎モデルラットを作製した。露髄群または sham 群について、歯髄のヘマトキシリン–エオジン染色、浅麻酔下での舌へ熱あるいは機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値 (HWT) の測定、逆行性トレーサー (Fluorogold; FG) の舌縁部投与によって標識された各種細胞数の解析、選択的マクロファージ枯渇薬 (LCCA) の三叉神経節内注入による HWT と三叉神経節における Iba1, toll-like receptor 4 (TLR4), および interleukin-1 receptor type I (IL-1RI) の発現変化、選択的 TLR4 アンタゴニスト (LPS-RS) の三叉神経節内注入による HWT, IL-1RI 陽性細胞数の解析を行った。また、選択的 TLR4 アゴニスト (recombinant heat shock protein 70: Hsp70) の三叉神経節内注入による HWT と IL-1RI 陽性細胞数への影響を解析するとともに、三叉神経節への recombinant interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 投与後の HWT 測定および FG 標識 transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 陽性三叉神経節ニューロン数を解析した。最後に、TLR4 アンタゴニスト (LPS-RS) を三叉神経節に注入したラットにおける HWT の計測、三叉神経節第三枝領域における FG 標識リン酸化 p38 陽性かつ IL-1RI 陽性細胞数を解析し、以下の結果を得た。

1. 露髄後 1 日目における M1 では、冠部歯髄に多数の炎症性細胞浸潤が認められたが、根尖部歯髄には認められなかった。また HWT は、露髄後 1-3 日目において有意に低下した。
2. 露髄後 1 日目における、FG 標識 TLR4 陽性細胞数、FG 標識 IL-1RI 陽性細胞数、および IL-1 $\beta$  陽性マクロファージは露髄群において有意に増加した。
3. M1 露髄 1 日後、LCCA 投与により HWT 低下が有意に抑制された。LCCA 投与により FG 標識 TLR4 陽性かつ IL-1RI 陽性細胞数に変化は認められなかった。
4. LPS-RS を投与して M1 露髄 1 日後において、HWT 低下が有意に抑制され、FG 標識 IL-1RI 陽性

細胞数の増加が有意に抑制された。

5. recombinant Hsp70 投与 1 日後, HWT が有意に低下し, FG 標識 IL-1RI 陽性三叉神経節ニューロン数が有意に増加した。
6. recombinant IL-1 $\beta$  を TG に投与して 1 日後において HWT が有意に低下し, FG 標識 TRPV1 陽性ニューロン数が有意に増加した。
7. LPS-RS の投与と M1 露髄 1 日後において, HWT 低下が有意に抑制され, FG 標識リン酸化 p38 陽性かつ IL-1RI 陽性細胞数の増加が有意に抑制された。

本研究の結果から, M1 歯髄炎により, 三叉神経節第三枝領域におけるマクロファージの集積およびマクロファージにおける IL-1 $\beta$  の産生亢進, 三叉神経節ニューロンでの Hsp70-TLR4 シグナル増強による p38 リン酸化を介した IL-1RI の増加, および IL-1 $\beta$  シグナル増強による舌を支配する TRPV1 陽性三叉神経節ニューロンの増加により, 舌痛覚過敏が誘導されることが明らかになった。本研究により得られた知見は, 歯内療法学ならびに関連歯科臨床分野に寄与するところが大きいものと考えられた。

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

令和 3 年 3 月 1 0 日