

論文審査の結果の要旨

氏名：浅野 早哉香

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：C1q-mediated astrocytic activation is required for infraorbital nerve injury-induced orofacial neuropathic pain

（C1qを介したアストロサイトの活性化は眼窩下神経損傷による口腔顔面領域の神経障害性疼痛に関与する）

審査委員：（主査） 教授 小林 真之

（副査） 教授 今村 佳樹

教授 浅野 正岳

教授 篠田 雅路

抜歯や外科的矯正治療などの口腔外科処置により三叉神経が損傷されると、口腔粘膜や顔面皮膚に神経障害性疼痛が惹き起こされることがある。神経障害性疼痛は、持続的あるいは間欠的な自発痛や非侵害刺激で誘発される痛みや侵害刺激に対する過剰な反応を特徴とする。その多くは難治性で、治療に苦慮することが多い。これは、神経障害性疼痛の発症メカニズムが十分に解明されていないことに起因する。そのため、神経障害性疼痛の発症メカニズムを解明することは新たな治療法を確立する上で重要であると考えられる。多くの研究において、神経障害性疼痛の動物モデルとして末梢神経の損傷モデルが使用されており、侵害情報を中継する二次ニューロンが存在する脊髄後角や三叉神経脊髄路核尾側亜核において、末梢神経障害によりミクログリアおよびアストロサイトが活性化される。末梢神経損傷後、ミクログリアは1-3日、アストロサイトは1-2週間で活性化される。また、それぞれのグリア細胞の活性化阻害により異なる時期の神経障害性疼痛を抑制できることから、ミクログリア活性化は痛みの発症期に、アストロサイト活性化は痛みの維持期にそれぞれ寄与しているという概念が一般的になりつつある。しかし、これらのグリア細胞の活性化様式が神経障害性疼痛の発症期から維持期に渡って変化する原因は未だ明らかではない。近年同定されつつあるミクログリア-アストロサイト間の相互作用を担う分子群は、神経障害性疼痛発症時に生じるそれぞれの活性化の時間的差異を生み出す原因となっている可能性が考えられる。本研究では、口腔顔面領域の神経障害性疼痛におけるミクログリア-アストロサイト間の相互作用の役割、さらにその役割を担う分子の解明を目的とした。

口腔内よりラットの左側眼窩下神経を剖出し、滅菌済み5-0絹糸で半結紮を行うことで三叉神経障害性疼痛モデルを作製し、IONI (infraorbital nerve injury) 群とした。また、神経結紮を行わない群を sham 群とした。大槽内へカテーテルを留置し、IONIの前日から浸透圧ポンプを用いて大槽内へ持続的に薬物投与を行った。また、三叉神経第2枝領域に von Frey フィラメントを用いて、機械刺激に対する頭部逃避反射閾値 (MHWT) を経目的に測定した。IONI 後 MHWT が有意に低下したが、その低下はミクログリア活性化阻害薬である minocycline の大槽内持続投与により、有意に抑制された。一方で、minocycline の溶媒である saline の大槽内持続投与では、MHWT 低下に変化は認められなかった。また、神経の活動性マーカーである c-Fos を用いて、IONI 後の三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) に存在する神経の活動性変化を免疫組織化学的に解析した。IONI 後 7 日目、Vc における c-Fos 陽性細胞数は IONI 前と比較して有意に増加し、その増加は minocycline 大槽内持続投与により有意に抑制された。さらに、minocycline 大槽内持続投与は、IONI 後の Vc で生じるミクログリア活性化を有意に抑制した。この際に minocycline はアストロサイト活性化も有意に抑制した。アストロサイト活性化阻害薬である fluorocitrate の大槽内持続投与により、IONI 後の MHWT の低下および Vc における c-Fos 陽性細胞数の増加は有意に抑制され、アストロサイト活性化の抑制も認められた。

アストロサイトを活性化させるミクログリア由来の分子として補体 C1q が知られていることから、IONI 後に活性化したミクログリアにおける C1q の発現を免疫組織化学的に解析した。IONI 後 7 日目、Vc において C1q 陽性ミクログリアが認められた。一方で、sham 群の Vc では陽性ミクログリアは認められなかった。

Vc における C1q が MHWT 低下に関与するか否かを解析するために、recombinant C1q を正常ラット

の大槽内に単回投与したところ、アストロサイト活性化、MHWT の有意な低下と Vc における c-Fos 陽性細胞数の増加が認められた。さらに、recombinant C1q の大槽内への単回投与により生じるアストロサイト活性化、MHWT の低下、c-Fos 陽性細胞数の増加は、アストロサイト活性化阻害薬である fluorocitrate の大槽内への単回投与により有意に抑制された。

これらの結果から以下に示す結論を得た。

1. IONI 後、Vc において c-Fos 陽性細胞数の増加、ミクログリアおよびアストロサイトの活性化が認められ、それらは minocycline 大槽内投与により抑制された。
2. Fluorocitrate 大槽内持続投与により、IONI 後に Vc において増加した c-Fos 陽性細胞数やアストロサイトの活性化は抑制された。
3. 正常ラットへの C1q 投与により MHWT の低下およびアストロサイトの活性化が認められ、それらは fluorocitrate 大槽内投与により抑制された。

以上により、IONI 後に Vc において活性化したミクログリアから放出された C1q がアストロサイトの活性化を促し、そのアストロサイト活性化を介して Vc における神経の活動性が增大することにより MHWT が低下する可能性が示唆された。

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10日