

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09823

研究課題名(和文)オートファジーを基軸とした下歯槽神経障害に対する新規薬物療法の開発

研究課題名(英文) Development of new drug therapy for inferior alveolar nerve neuropathy based on autophagy.

研究代表者

代田 達夫 (Shirota, Tatsuo)

昭和大学・歯学部・教授

研究者番号：60235760

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：下顎枝矢状分割術は術後合併症として高い頻度で口唇の周囲に麻痺などの神経障害が発症するが、有効な治療法は未だ確立されておらず、既存の薬物治療(ビタミンB複合体など)に代わる新たな作用機序を有した治療薬の導入が望まれている。生体の自浄作用であるオートファジーを活性化することで、神経再生が促進されると報告されている。今回、神経を切断したラットにオートファジーを活性化する薬剤であるラパマイシンを投与した際の神経障害に対する治療効果について研究を行った。その結果、ラパマイシンは神経損傷後の末梢神経の再生を促進してオトガイ神経支配領域に生じる感覚鈍麻の治療に有効であることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

下顎枝矢状分割術は口腔外科領域で顎変形症の患者に対して一般的に行われる手術であるが、術後合併症として高い頻度で口唇の周囲に麻痺などの神経障害が発症する。しかし、神経障害に対する有効な治療法は未だ確立されておらず、顎変形症が改善したとしても、術後合併症の治療に苦慮する症例が多い。そのため、既存の薬物治療に代わる新たな作用機序を有した治療薬の導入が望まれている。本研究において、オートファジー活性作用があるラパマイシンの投与が神経損傷後に生じる麻痺に対して有効であった。本研究結果は、術後合併症である神経障害の治療において、新たな選択肢を提示し、社会的意義のあるものであるといえる。

研究成果の概要(英文)：Sagittal splitting of the mandibular branch frequently causes neuropathy such as paralysis around the lips as a postoperative complication. However, an effective treatment method has not yet been established, and it is desired to introduce a therapeutic drug having a new mechanism of action to replace the existing drug treatment.

It has been reported that nerve regeneration is promoted by activating autophagy, which is a self-cleaning action of cells. We investigated the therapeutic effect of rapamycin, a drug that activates autophagy, on neuropathy in rats with severed nerves. As a result, it was found that rapamycin promotes the regeneration of peripheral nerves after nerve injury and is effective in treating the paralysis that occurs around the lips.

研究分野：口腔外科学

キーワード：オートファジー ラパマイシン

1. 研究開始当初の背景

下顎枝矢状分割術は顎変形症の治療において一般的に行われる手術法である。下顎枝矢状分割術の歴史は長く、1955年に Obwegeser と Trauner によって報告されてから、より安全に手術を行うために様々な工夫が行われてきた。現在、術式はほぼ確立されているが、下顎神経の周囲を骨削除した後に骨片を移動するという術式の性質上、たとえ手術を正確に行ったとしても、術後合併症として高い頻度で口唇の周囲に麻痺などの神経障害が発症する。

術後の神経障害に対しては、ビタミン B 複合体、副腎皮質ステロイドおよび ATP 製剤の投与が行われるが、その治療効果については不明な点も多く、治療に苦慮する症例は多い。有効な治療法は未だ確立されておらず、既存の薬物治療に代わる新たな作用機序を有した治療薬の導入が望まれている。

2. 研究の目的

現在、国内外で下歯槽神経損傷後の知覚異常に対する治療メカニズムについて様々な観点から研究が進められており、その一つにシュワン細胞の細胞内自浄作用(オートファジー)が挙げられる。シュワン細胞のオートファジーは末梢神経損傷後のワーラー変性により生じる断片化したミエリン(神経再生阻害因子)の効率的な除去に参与することが知られている。細胞内には mTOR と呼ばれるオートファジー阻害タンパクが存在し、mTOR 阻害剤であるラパマイシンを投与することによりオートファジーが活性化され、神経再生が促進されることが報告されている。

本研究は下歯槽神経を損傷させたラットにラパマイシンを投与し、シュワン細胞のオートファジーを活性化することで下歯槽神経損傷後の知覚異常に対して与える影響を明らかにし、その臨床効果を予測・検討することを目的に行われた。

3. 研究の方法

SD 系雄性ラット(6週齢)の顔面部皮膚に 15mm の切開を加え、下顎骨を削除し、三叉神経第三枝の枝である下歯槽神経を剖出させ、下歯槽神経を 5mm 切除し、止血確認後に切開部を縫合することで下歯槽神経切除モデルを作製した。

切除部に Rapamycin を切除翌日から連日投与し、下歯槽神経支配領域の下唇に機械刺激装置(デジタルフォンフライ)を使用して、下歯槽神経の末枝であるオトガイ神経の支配領域(口唇)に機械刺激を加えた際の頭部逃避反射閾値を経時的に測定した。

実験開始から 3 日目に逆行性トレーサー(Fluoro-Gold; FG)をオトガイ神経支配領域の皮下に注入する。14 日目に灌流固定を行い、三叉神経節を摘出し、免疫組織学的に三叉神経節での FG の局在を解析する。

三叉神経節の摘出と同時に下歯槽神経切除部位に形成された軟組織の摘出を行い、免疫組織学的に下歯槽神経切除部位での LC3-2 や Beclin-1、MBP、MPZ の局在を解析する。神経切除部における LC3 や Beclin-1、MBP、MPZ の発現量を Western Blotting 法を用いて測定した。

4. 研究成果

ラパマイシンを局所投与すると、術後に生じる感覚鈍麻が vehicle 投与群と比較して、有意に改善した。

ラパマイシン投与群は、下歯槽神経切断部において、オートファジー活性マーカーである LC3-2 および Beclin 1 の発現が vehicle 群と比べて有意に上昇し、Beclin 1 はシュワン細胞のマーカーである GFAP と共発現を示していた。

下歯槽神経切断部において、ミエリンデブリスのマーカーである MBP および MPZ の発現がラパマイシン投与群は vehicle 群と比べて有意に低下した。

下歯槽神経切断後 3 日目にオトガイ神経支配領域である下唇に逆行性トレーサーである FG を注入し、3 日後に三叉神経節を摘出したところ、ラパマイシン投与群は、FG の発現が vehicle 群と比べて有意に上昇した。

ラパマイシンは、下歯槽神経損傷後のシュワン細胞のオートファジーを活性化することで、ワーラー変性により生じるミエリンデブリスの分解と末梢神経の再生を促進し、オトガイ神経支配領域に生じる感覚鈍麻の治療に有効であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Inada Takanobu, Sato Hitoshi, Hayashi Yoshinori, Hitomi Suzuro, Furukawa Akihiko, Ando Masatoshi, Oshima Eri, Otsuji Jo, Taguchi Naoto, Shibuta Ikuko, Tsuda Hiromasa, Iwata Koichi, Shirota Tatsuo, Shinoda Masamichi | 4. 巻 468 |
| 2. 論文標題 Rapamycin Accelerates Axon Regeneration Through Schwann Cell-mediated Autophagy Following Inferior Alveolar Nerve Transection in Rats | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 43～52 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2021.05.033 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 稲田大佳暢, 大島絵莉, 田口直渡, 佐藤仁, 代田達夫 |
| 2. 発表標題 Rapamycinによるオートファジーの活性化と下歯槽神経損傷後の早期神経再生誘導 |
| 3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会・学術総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|----------------------------|----|
| 研究分担者 | 佐藤 仁 (Sato Hitoshi) (00594954) | 昭和大学・歯学部・講師 (32622) | |
| 研究分担者 | 椋代 義樹 (Mukudai Yoshiki) (50325099) | 昭和大学・歯学部・助教 (32622) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|--------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 岩田 幸一 (Iwata Koichi) (60160115) | 日本大学・歯学部・特任教授 (32665) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |