

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792337

研究課題名(和文) オトガイ神経領域の炎症性疼痛および神経因性疼痛におけるグリア細胞の役割と動態

研究課題名(英文) The role of glial cells in inflammatory pain and neuropathic pain of mental nerve area.

研究代表者

河野 彰代 (KAWANO, AKIYO)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：10570294

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：オトガイ神経を結紮した神経因性疼痛モデルラットと、切断した知覚麻痺モデルラットを作成し、三叉神経節におけるIba1陽性細胞とサテライト細胞の動態を観察した。両モデルにおいて神経損傷後にIba1陽性細胞の増加と、サテライト細胞の変性や突起の伸延などの形態学的変化が認められた。またニューロンとサテライト細胞の間に空隙が形成され、4週経過しても神経因性疼痛モデルではこの変化が持続、知覚麻痺モデルではこの変化に加えさらにニューロンとサテライト細胞の細胞死が認められた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we used the neuropathic pain model rat which mental nerve was loosely ligated and the hypoalgesia model rat which mental nerve was transected. The behavior of Iba1 immunoreactive cells and satellite cells in the trigeminal ganglion was observed. In both models, the number of Iba1 immunoreactive cells was increased and morphological alteration of satellite cells was observed that was represented by degeneration of cytoplasm and extended spines. After nerve injury the wide space between neuron and satellite cells was observed. Four weeks after injury, this change was sustained in both models, and in addition the cell death of neurons and satellite cells was observed in the hypoalgesia model rat.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学

キーワード：ミクログリア サテライト細胞 オトガイ神経 神経因性疼痛 Iba1

1. 研究開始当初の背景

歯科領域において患者が最も悩まされる症状の一つが疼痛である。疼痛はその発生機序から、大きく炎症性疼痛と神経因性疼痛の2種類に分類される。歯髄炎や智歯周囲炎などの炎症性疼痛の発症には、プロスタグランジンやブラジキニン等の様々な炎症性メディエーターが関与しており、これらが局所の炎症症状を誘発するとともに、末梢痛覚神経を活性化し、その刺激が脳へと伝達されることが疼痛発症のメカニズムであると考えられている。一方、三叉神経損傷後等の神経因性疼痛の発症メカニズムは完全には解明されていないが、主に末梢性の原因と中枢性の原因の2つに分類される。そのどちらにおいても、近年疼痛との関係が明らかになり注目されているのがミクログリアやサテライト細胞等のグリア細胞である。

ミクログリアは中枢神経系における免疫担当細胞とも呼ばれ、変性に陥った神経細胞由来の分子によって活性化することが知られている。活性化ミクログリアは変性した細胞の修復や貪食に関与するほか、サイトカインを放出することでニューロンの興奮性を増大させ痛覚過敏を強めることが明らかになっている。

一方サテライト細胞は一次感覚神経節内でニューロンの周囲を取り囲んで、その環境を維持している。損傷を受けた神経細胞由来のシグナルによってイオンの交換が変化し、病的疼痛発現に関与すると報告があるが、未だ不明な点が多い。

以上の学術的背景より、中枢神経系および末梢神経系における、グリア細胞の疼痛発症機序への関与を検討するため、本研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

本研究では疼痛の異なる発症機序によって、中枢神経系および末梢神経系におけるグリア細胞の動態が異なるのかどうかを検討するため、オトガイ神経領域の神経因性疼痛と炎症性疼痛のモデルを用いて比較を行う。

3. 研究の方法

神経因性疼痛モデルとして痛覚過敏を発症したモデルを作成するのに加え、知覚麻痺モデルも作成し、比較を行う。ラットの片側のオトガイ神経を剖出し、痛覚過敏モデルでは神経を緩く結紮、知覚麻痺モデルでは神経を切断する。

炎症性疼痛モデルは、フロイドアジュバンド(CFA)を片側のオトガイ中央部に注射することによって作成する。

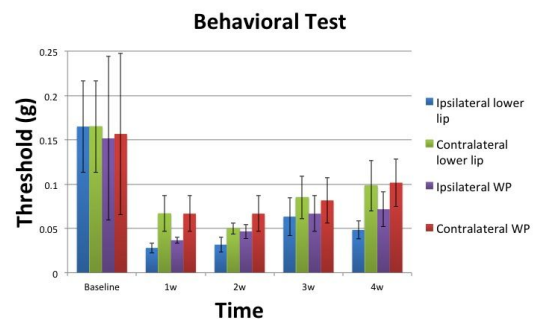
それぞれのモデルに対し以下の実験を行う。(1) von Frey filament を用いた機械刺激に対する疼痛閾値の測定 (2) 三叉神経節において Iba1 (脳内ミクログリアの特異的マーカー)、SK3 (サテライト細胞の特異的マーカー) を用いてグリア細胞の動態を免疫組織化

学的に観察 (3) 延髄の三叉神経尾側亜核において Iba1 を用いてミクログリアの動態を免疫組織化学的に観察

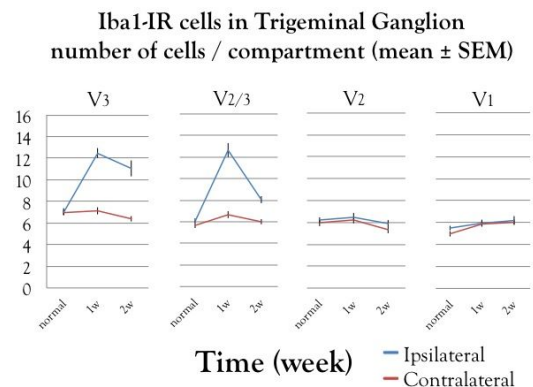
4. 研究成果

現在までに、痛覚過敏モデルにおける機械刺激に対する疼痛閾値の測定、痛覚過敏モデルおよび知覚麻痺モデルの三叉神経節におけるグリア細胞の動態を観察した。

痛覚過敏モデルの術側の逃避閾値は結紮後1~2週にかけて低下し、その後次第に回復した。また術側の三叉神経第2枝領域における逃避閾値についても、同様の変化を示した。反対側 (sham ope 実施) でも同様に逃避閾値の低下を認めたが、術側に比べ軽度であった。以下に術後の逃避閾値の経過を示す。図中 WP は whisker pad を指す。

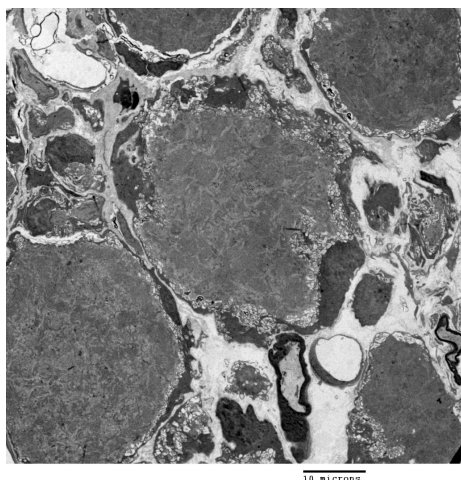


また、痛覚過敏モデルの三叉神経節における Iba1 陽性細胞数の変化を測定した。術側および反対側の三叉神経第1、2、3枝支配ニューロン領域および第2、3枝支配ニューロン混合領域のそれぞれにおいて細胞数を測定し、術後2週まで経過を観察した。

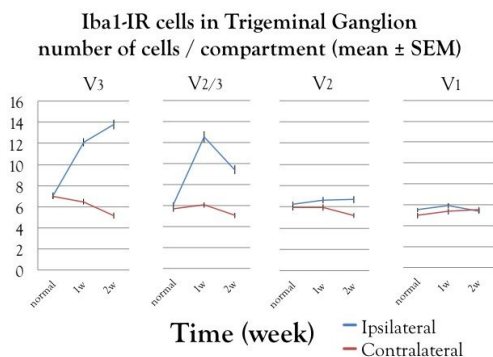


術後1週では三叉神経第3枝支配ニューロン領域と第2、3枝支配ニューロン混合領域において Iba1 陽性細胞の増加を認め、術後2週では正常より多いが、1週より減少していた。その他の領域では変化が認められなかった。

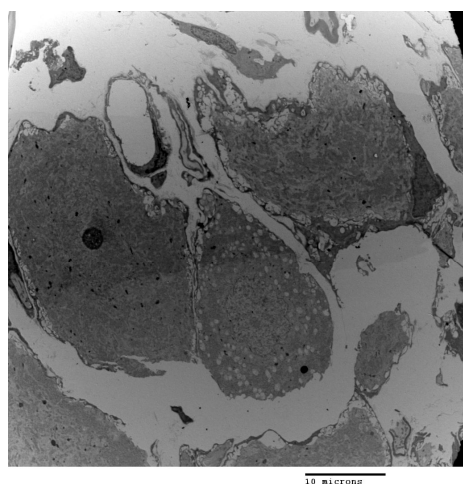
また術後2週での三叉神経第3枝支配ニューロン領域を電子顕微鏡下で観察したところ、サテライト細胞とニューロンとの間に間隙を認め、そこにサテライト細胞が突起を伸ばしていた。以下に電子顕微鏡像を示す。



一方、知覚麻痺モデルの三叉神経節における Iba1 陽性細胞数の変化を測定したところ、術後 1 週では痛覚過敏モデルと同様の変化が認められたが、術後 2 週では第 3 枝支配ニューロン領域において Iba1 陽性細胞のさらなる増加を認めた。



また術後 2 週での三叉神経第 3 枝支配ニューロン領域を電子顕微鏡下で観察したところ、サテライト細胞とニューロンとの間に広い間隙を認め、一部でニューロンとサテライト細胞の変性が認められた。以下に電子顕微鏡像を示す。



以上の結果より Iba1 陽性細胞は神経損傷後に活性化して集積し、損傷を受けた細胞の貪食に参与している可能性が示唆された。また神経損傷の影響がニューロンからサテライト細胞に波及し、両者間に間隙が生じることで分子の漏出が起こり、近接するニューロン周囲の環境が変化し疼痛過敏の発症につながると考えられる。一方損傷が重度でニューロンやサテライト細胞が細胞死に至る場合、知覚麻痺を発症すると考えられる。

今後は炎症性疼痛モデルを作成し、神経因性疼痛モデルとの比較を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

(1)角野公紀、河野彰代、丹羽均、本間志保、脇坂聡、オトガイ神経結紮モデルラットにおける三叉神経節での Iba1 陽性細胞の動態、第 115 回大阪大学歯学会例会、2013 年 1 月 10 日、大阪大学大学院口腔科学研究棟

(2)角野公紀、河野彰代、丹羽均、永谷俊介、本間志保、脇坂聡、オトガイ神経結紮モデルラットにおける三叉神経節での Iba1 陽性細胞の動態、第 118 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2013 年 3 月 28 日～30 日、サンプォートホール高松・かがわ国際会議場

(3)Kohki Kadono, Akiyo Kawano, Hitoshi Niwa, Shiho Honma, Satoshi Wakisaka / Ultrastructure of injured trigeminal ganglion neurons ; the comparison between crush injury and loose ligation / XXIII International Symposium on Morphological Sciences / 10-13 September 2013 / Niigata

(4)Kohki Kadono, Akiyo Kawano, Hitoshi Niwa, Shiho Honma, Satoshi Wakisaka / Behavior of Iba1-immunoreactive cells in the trigeminal ganglion of the rat with mental nerve ligation / 8th Congress of the European Federation of IASP® Chapters / 9-12 October 2013 / Florence, Italy

(5)角野公紀、河野彰代、本間志保、脇坂聡、神経損傷の程度が三叉神経節サテライト細胞の微細構造に及ぼす影響、第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014 年 3 月 27 日～29 日、自治医科大学キャンパス

6 . 研究組織
研究代表者
河野 彰代 (KAWANO AKIYO)
大阪大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：10570294
