

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10192

研究課題名(和文) IFN- γ に焦点をあてた口腔顔面領域における神経障害性疼痛治療法の開発

研究課題名(英文) Development of treatment for neuropathic pain in the orofacial region with a focus on IFN gamma

研究代表者

岡田 明子 (OKADA-OGAWA, Akiko)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：10434078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：神経障害性疼痛モデルラットを用いて、三叉神経の障害により引き起こされる難治性の口腔顔面領域における神経障害性疼痛には、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)において産生されるIFN- γ がアストロサイト上のIFN- γ 受容体と結合しアストロサイトが活性化され、広範囲のVc神経細胞が活性化されることにより神経障害性疼痛を引き起こす可能性を示した。さらに、IFN- γ アンタゴニストのVc投与により、モデルラットの疼痛を抑制することができ、口腔顔面領域における神経障害性疼痛の治療薬の開発につながる発見をした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで神経障害性疼痛に関与する可能性を示唆されてきたIFN- γ の受容体の局在に関しては、様々な報告があるものの統一見解はなかった。さらに、延髄における局在を調べた報告はなかった。本研究では、延髄三叉神経脊髄路核のアストロサイトにIFN- γ 受容体が存在することを初めて報告するものであり、IFN- γ が口腔顔面領域の神経障害性疼痛に関与していることを示した学術的意義のある報告となった。また、IFN- γ アンタゴニストには、QOLを著しく低下させる口腔顔面領域の難治性神経障害性疼痛の新たな治療薬の開発に繋がる可能性を見出した、社会的意義のある成果を得た。

研究成果の概要(英文)：It is well known that trigeminal nerve injury sometimes causes orofacial neuropathic pain in orofacial region. We have shown that the neuropathic pain can be induced by IFN- γ produced in the spinal trigeminal caudal subnucleus (Vc) of neuropathic pain model rat. The IFN- γ binds to IFN- γ receptors on astrocytes and activates astrocytes, which may cause neuropathic pain by activating a wide range of Vc neurons. Furthermore, Vc administration of IFN- γ antagonists suppressed pain in neuropathic pain model rats, a finding that may lead to the development of therapeutic agents for neuropathic pain in the orofacial region.

研究分野：三叉神経における疼痛発症機構

キーワード：神経障害性疼痛 三叉神経脊髄路核 IFN- γ アストロサイト IFN- γ アンタゴニスト

1. 研究開始当初の背景

智歯抜歯などにより三叉神経が傷害され、口腔顔面領域の神経障害性疼痛が引き起こされることがある。その症状は難治性であり、発症機構は明らかにされていない。また、抗炎症薬やモルヒネなどの鎮痛薬が奏効しづらく効果的な治療法もない。近年、ミクログリアやアストロサイトなどのグリア細胞の活性化が、神経障害性疼痛の発症を引き起こすことがわかってきた(引用文献① Tsuda et al, Nature, 2003)。さらに、脊髄ミクログリアの活性化にサイトカイン IFN- γ が関与し、神経障害性疼痛を発症させる可能性が注目された。しかし、IFN- γ によってグリア細胞がどのように活性化され、神経細胞の活性化に係るかは不明な点が多く残されていた。

2. 研究の目的

口腔顔面領域の神経障害性疼痛に IFN- γ がどのように関与しているかを解明するため、ラットの眼窩下神経に障害を引き起こした口腔顔面領域における神経障害性疼痛モデルを作製した。そして、IFN- γ がミクログリアやアストロサイトにどのように関わり、神経障害性疼痛に関与するかを詳細に調べ、本研究の活用により神経障害性疼痛治療法の開発の一端となることを目指した。

3. 研究の方法

【モデル動物の作製】 SD 系雄性ラットに全身麻酔を施した後、左側上顎臼歯部頬側歯肉を切開し、左側眼窩下神経 (ION) を半結紮した (IONI ラット)。また、神経の結紮は行わず、神経の剖出のみを行った (Sham ラット)。

【行動学的観察】 IONI または sham 処置前後で両ラットの顔面三叉神経第2枝領域 (V2) に、フォンフライヘアによる機械刺激を加え、逃避反応行動閾値 (HWT) を測定した。さらに、Naive ラットの三叉神経脊髄路核 (Vc) 領域くも膜下腔に IFN- γ またはアストロサイトのインヒビターであるフルオロクエン酸 (FC) との混合液を投与した。また、IONI ラットの Vc 領域くも膜下腔に IFN- γ アンタゴニストを投与し、投与薬剤による逃避反応行動の経時的変化を観察した。

【免疫組織化学的染色法】 IONI ラット, sham ラット, 上記薬剤を Vc 領域に投与したラットの Vc において、抗 NeuN (神経細胞のマーカー), Iba1 (ミクログリアのマーカー), GFAP (アストロサイトのマーカー), IFN- γ 受容体抗体を用いて、通法の免疫組織化学的染色法に則り免疫反応を施し、2重免疫染色発現様式を調べた。

【Western blot 法】 IONI ラット, sham ラット, 上記薬剤を Vc 領域に投与したラットの Vc において、通法の Western blot 法に則り、抗 IFN- γ 抗体または抗 GFAP 抗体を用いてそれぞれのタンパク質を検出し定量した。

【電気生理学的研究】 IONI ラット, sham ラット, IFN- γ アンタゴニスト投与 IONI ラットを頭蓋固定装置にて固定後 Vc を露出し、単一ニューロン活動を記録した。記録中は2%イソフルラン吸入麻酔にて麻酔状態を維持した。各ラットの V2 領域に機械刺激を与え、刺激に応答する侵害受容ニューロンを同定し、比較検討した。

4. 研究成果

(1) IONI ラットの HWT は、sham ラットと比較して有意に低下した。この減少は IONI 後 14 日

間持続し、21 日目にわずかに回復した。また、IONI3 日目に Vc における IFN- γ タンパク質量は、sham ラットと比較して有意に多かった (図 1)。

(2) Vc における IFN- γ 受容体の発現様式を調べるために、両群ラットの免疫組織化学的解析を行ったところ、IONI ラットの IFN- γ 受容体陽性発現面積は、sham ラットよりも有意に大きかった。さらに、IFN- γ 受容体は GFAP 陽性発現細胞に発現していたが、Iba1 や NeuN 陽性発現細胞には発現していなかったことから、IFN- γ 受容体はアストロサイトに存在し、ミクログリアや神経細胞には存在していないことがわかった (図 2)。

(3) Naive ラットの Vc 領域くも膜下腔に IFN- γ を持続投与したところ、2 日目と 3 日目に HWT が有意に減少した。しかし、その低下は、IFN- γ と FC の同時投与により完全に抑制された。また、IFN- γ 投与により、Vc において多くの GFAP 陽性発現が認められ、GFAP タンパク質量は有意に増加した。一方、FC の同時投与により GFAP の陽性発現、タンパク質量が有意に抑制された。

(4) IONI ラットの Vc 領域くも膜下腔に IFN- γ アンタゴニストを持続投与したところ、HWT の低下は有意に抑制された (図 3)。また、IFN- γ アンタゴニストの持続投与による Vc 神経細胞の興奮性に及ぼす影響を IONI 後 3 日目に調べたところ、IONI ラットの機械刺激に応答する侵害受容ニューロン活動は有意に増加したが、IFN- γ アンタゴニスト投与によりその増加は有意に抑制された。よって、IONI による Vc 侵害受容ニューロンの興奮亢進は、Vc における IFN- γ シグナル伝達に依存していることが示唆された。

以上の結果より、IFN- γ は延髄 Vc のアストロサイトに存在することを新たに発見し、Vc における IFN- γ シグナル伝達が口腔顔面領域の神経障害性疼痛患者に対する治療薬開発のターゲットである可能性を示した。

<引用文献>

- ① Tsuda M et al. P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. Nature. 424, 2003, 778-783.

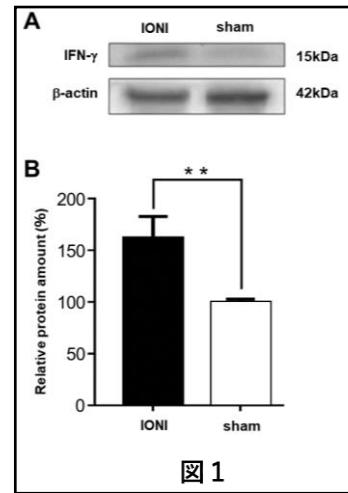


図 1

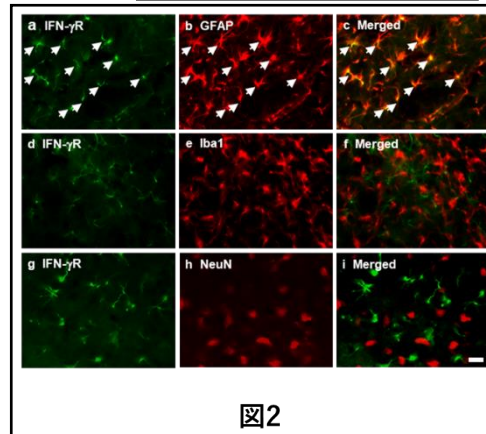


図 2

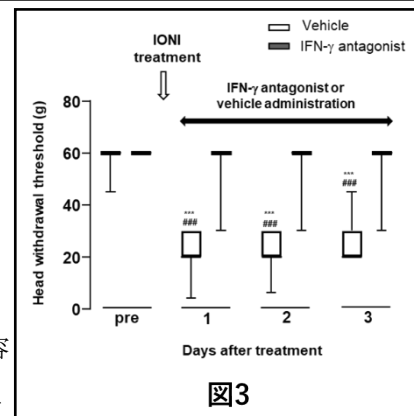


図 3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Takizawa K, Tadokoro S, Ozasa K, Okada-Ogawa A, Young A, Noma N.	4. 巻 66
2. 論文標題 Sixth cranial nerve palsy and trigeminal neuropathic pain due to a space-occupying lesion.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 J Oral Sci.	6. 最初と最後の頁 85-87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2334/josnusd.23-0155. Epub 2023 Oct 19.	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 -
1. 著者名 Asano S, Okada-Ogawa A, Kobayashi M, Yonemoto M, Hojo Y, Shibuta I, Noma N, Iwata K, Hitomi S, Shinoda M.	4. 巻 19
2. 論文標題 Involvement of interferon gamma signaling in spinal trigeminal caudal subnucleus astrocyte in orofacial neuropathic pain in rats with infraorbital nerve injury.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Mol Pain.	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/17448069231222403. PMID: 38073236	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 -
1. 著者名 Tadokoro S, Takizawa K, Ozasa K, Okada-Ogawa A, Kaneko Y, Nakata J, Noma N	4. 巻 15
2. 論文標題 Post-Traumatic Trigeminal Neuropathic Pain after Dental Implant Surgery and the Injustice Experience Questionnaire.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Experience Questionnaire	6. 最初と最後の頁 78-82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/neuroint15010007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shinoda M, Imamura Y, Hayashi Y, Noma N, Okada-Ogawa A, Hitomi S, Iwata K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Orofacial Neuropathic Pain-Basic Research and Their Clinical Relevancies.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Mol Neurosci.	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnmol.2021.691396. eCollection 2021.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sayaka Asano, Yoshinori Hayashi, Koichi Iwata, Akiko Okada-Ogawa, Suzuro Hitomi, Ikuko Shibuta, Yoshiki Imamura and Masamichi Shinoda	4. 巻 21
2. 論文標題 Microglia-Astrocyte Communication via C1q Contributes to Orofacial Neuropathic Pain Associated with Infraorbital Nerve Injury.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21186834.	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 -

1. 著者名 Chen JY, Kubo A, Shinoda M, Okada-Ogawa A, Imamura Y, Iwata K.	4. 巻 62
2. 論文標題 Involvement of TRPV4 ionotropic channel in tongue mechanical hypersensitivity in dry-tongue rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Sci.	6. 最初と最後の頁 13-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2334/josnusd.18-0468.	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12件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 臨床医に必要な歯に原因のない痛みの基礎知識
3. 学会等名 第28回日本口腔顔面痛学会総会・学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 歯科で生じる神経障害性疼痛
3. 学会等名 口腔顔面痛ベーシック WEB セミナー2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 口腔内に生じる原因不明痛の鑑別法
3. 学会等名 第50回歯科麻酔学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 歯科で生じる神経障害性疼痛
3. 学会等名 口腔顔面痛ベーシック WEB セミナー2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林桃代、岡田明子、野間昇、高根沢大樹、今村佳樹、篠田雅路
2. 発表標題 卵巣摘出ラットにおける舌痛覚と末梢神経終末の変化
3. 学会等名 第27回日本口腔顔面痛学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 イントロダクション、舌痛症、一次性二次性BMS、ICOP1におけるBMS
3. 学会等名 第26回日本口腔顔面痛学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okada-Ogawa A
2. 発表標題 Involvement of IFN- in neuropathic pain model rats following infraorbital nerve injury
3. 学会等名 The 20th scientific meeting of The Asian Academy of Orofacial Pain and Temporomandibular Disorders (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 歯科で生じる神経障害性疼痛
3. 学会等名 口腔顔面痛ベーシック WEB セミナー2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 歯科領域の三叉神経痛
3. 学会等名 第50回日本慢性疼痛学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡田 明子, 浅野 早哉香, 篠田 雅路, 林 良憲, 岩田 幸一, 今村 佳樹
2. 発表標題 活性型グリア細胞に発現するIFN- は口腔顔面の神経障害性疼痛を増強する
3. 学会等名 第42回日本疼痛学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 浅野 早哉香, 岡田 明子, 松川 由美子, 小林 あずさ, 阿部 郷, 佃 亜由美, 矢富 香織, 坪井 栄達, 今村 佳樹
2. 発表標題 眼窩下神経結紮による神経障害性仏痛モデルラットにおけるグリア細胞間の相互作用
3. 学会等名 第48回日本歯科麻酔学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡田明子
2. 発表標題 歯科で生じる神経障害性疼痛
3. 学会等名 口腔顔面痛ベーシック WEB セミナー2020 (招待講演)
4. 発表年 2020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	篠田 雅路 (SHINODA Masamichi) (20362238)	日本大学・歯学部・教授 (32665)	
研究分担者	岩田 幸一 (IWATA Koichi) (60160115)	日本大学・歯学部・特任教授 (32665)	
研究分担者	今村 佳樹 (IMAMURA Yoshiki) (90176503)	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
---------	---------