

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	河内 貴弘
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Pretreatment with high mobility group box-1 monoclonal antibody prevents the onset of trigeminal neuropathy in both female and male mice with distal infraorbital nerve chronic constriction injury (High mobility group box-1モノクローナル中和抗体の前投与は雌雄マウス遠位眼窩下神経慢性絞扼による三叉神経ニューロパチーの発症を予防する)			
論文審査担当者			
主査	教授	寺山 隆司	印
審査委員	教授	津賀 一弘	
審査委員	教授	吾郷 由希夫	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>歯科領域で発生する慢性疼痛として外傷性三叉神経ニューロパチー (Posttraumatic trigeminal neuropathy; PTTN)が挙げられ、これは慢性的な口腔顔面領域の知覚鈍麻、痛覚過敏またはその両方を伴う疾患である。近年の報告から歯科手術または口腔顔面領域の外傷により三叉神経を損傷した患者の3-7%が PTTN を発症することが知られている。PTTN は一般的に使用される鎮痛薬等の治療に抵抗性を示すため発症後の治療は困難である。一方でその発症リスクは手術法や術前レントゲン検査等により予測できるとされるため、予防的戦略が有効となる可能性が予想されるが、未だに有効な予防法は確立されていない。また通常状態でも高い刺激過敏性を持つ顔面領域に関する疼痛評価の困難さから、PTTN モデル動物およびその評価系は構築されていない。</p> <p>末梢の免疫細胞であるマクロファージは白血球の一種で、組織損傷部位に集積し炎症性サイトカインの放出を促進することで局所炎症を惹起する。中枢神経系の免疫細胞であるミクログリアは中枢神経系の恒常性維持に重要な役割を持つが、過剰に活性化することで細胞数および細胞体積を増大させ神経炎症を惹起する。これら免疫細胞の活性化が PTTN を含む慢性疼痛の病理学的所見となっており、その抑制が疼痛抑制効果を示す可能性がある。</p> <p>High mobility group box - 1(HMGB1)は、ほとんどの細胞に発現する核タンパク質であり、損傷した細胞から漏出、もしくは活性化した免疫細胞から放出されることでさらなる免疫細胞の活性化を惹起し炎症の増悪に関与するアラミン/ダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns; DAMPs)として機能する。坐骨神経損傷モデル動物で発症する疼痛様行動に神経損傷部位から漏出した HMGB1 および HMGB1 によって活性化した免疫細胞が重要な役割を果たしていることが報告されている。三叉神経の損傷が発症起因となる PTTN の発症においても、損傷した神経周囲から漏出した HMGB1 が関与していること、またその HMGB1 機能を阻害することで発症を予防できることが考えられる。現在までに PTTN モデル動物 に対し局所 HMGB1 機能を予防的に阻害することで生じる疼痛行動変化および免疫細胞の病理学的変化を検討した研究は少ない。以上より本研究では PTTN モデル動物の確立および HMGB1 に着目した PTTN 予防法の開発を目的とした。</p> <p>方法として三叉神経の枝である眼窩下神経を損傷することでその支配領域である口吻 (whisker pad) において慢性疼痛を発症させる遠位眼窩下神経慢性絞扼 (distal infraorbital nerve chronic constriction injury (dIoN-CCI)) モデルマウスを作製した。次に本モデルマウスが PTTN モデルマウスとして妥当かを検討するため顔面毛繕い時間測定、</p>			

冷刺激に対する過敏性の検討，鎮痛薬ミロガバリンに対する嗜好性の評価を行った。次に損傷神経周囲マクロファージ集積および三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Sp5C) ミクログリアの活性化を免疫組織化学染色にて評価した。さらに dIoN-CCI マウスに対し HMGB1 機能を阻害する HMGB1 中和抗体 (HMGB1 nAb) を神経絞扼直後および 2 日後に局所投与した後，疼痛行動および免疫細胞の活性化を評価することで HMGB1 中和抗体の PTTN 予防効果を検討した。

結果として雄性 dIoN-CCI マウスは疼痛行動変化として術後 7, 14 日における顔面毛繕い時間および術後 13 日における冷刺激に対する過敏性の有意な増加が見られた。また鎮痛薬ミロガバリンに対する嗜好性が有意に増加した。免疫組織化学染色の結果より雄性 dIoN-CCI モデルマウスにおいて術後 3 日より眼窩下神経周囲へのマクロファージ集積および Sp5C におけるミクログリア数・体積の増加が確認され，それは術後 14 日まで継続した。さらに HMGB1 nAb の予防的局所投与により雄性マウスにおいて dIoN-CCI 手術によって生じた疼痛行動および免疫細胞の活性化は有意に減弱した。一方雌性マウスにおいては HMGB1 nAb の投与は冷刺激に対する過敏性のみ減弱させ，顔面毛繕い時間に変化を生じなかったが免疫細胞の活性化は有意に減弱させた。

以上の結果より，dIoN-CCI モデルマウスは PTTN モデル動物として妥当であり，さらに顔面毛繕い時間およびアセトンへの反応時間は PTTN による疼痛の評価に使用できると考えられる。それに加えて PTTN 症状の発症および維持にマクロファージおよびミクログリアが関与しており，これら免疫細胞の活性化が PTTN 発症の評価に使用できることを示唆された。さらに PTTN を模倣した dIoN-CCI マウスで生じた疼痛行動および免疫細胞の活性化は損傷神経である眼窩下神経周囲 HMGB1 機能の阻害により減弱したため，PTTN 発症に損傷神経周囲の HMGB1 が関与することが明らかとなった。またその効果に若干の雌雄差が存在するものの PTTN 高リスク患者の神経損傷前に末梢 HMGB1 機能を阻害することが，予防的観点に基づいた新たな治療戦略になる可能性が示唆された。

本論文は PTTN の発症に神経損傷部位の細胞外 HMGB1 が関与することおよび末梢 HMGB1 機能の阻害が PTTN 発症予防法になりうるという新しい知見を得ており，十分な科学的価値を示したと考えられる。

よって審査委員会委員全員は，本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。