

## 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	今戸 瑛二
学位授与の条件	学位規則第 4 条第① 2 項該当		
論文題目 Prenatal exposure to valproic acid causes allodynia associated with spinal microglial activation (胎生期のバルプロ酸曝露は脊髄のミクログリア活性化と関連するアロディニアを引き起こす)			
論文審査担当者			
主 査	教授	寺山 隆司	印
審査委員	教授	杉田 誠	
審査委員	教授	岡田 芳幸	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>【背景と目的】 自閉スペクトラム症（autism spectrum disorder: ASD）は，社会性やコミュニケーションの障害等を中核症状とする神経発達障害の一つであるが，感覚刺激に対する反応亢進または低反応といった症状から，痛覚感受性の変化がみられる．特に痛覚過敏や非侵害性刺激による痛み（アロディニア）は，ASD 患者の QOL を著しく損なう要因であるが，その病態分子基盤の詳細は不明である．近年の研究から，中枢神経系グリア細胞の一種であるミクログリアが神経回路の形成やシナプスの刈り込みに重要な役割を担っており，神経可塑性や体性感覚情報の伝達に寄与していることがわかってきた．そこで本研究では，ASD の病態メカニズムの解明を目指して，ASD モデル動物の触覚感受性変化とミクログリアの関与について検討を行った．</p>			
<p>【方法】 妊娠 12.5 日目の ICR (CD1)マウスに生理食塩水またはバルプロ酸ナトリウム (500 mg/kg) を腹腔内投与し，得られたオスの出生仔を実験に供した．フォン・フライ試験により機械的触刺激に対して逃避反応を示す痛覚閾値を計測した．抗 Iba1 抗体，抗 CD11b 抗体，抗 CD68 抗体を用いた免疫組織化学染色によりミクログリアの増殖と活性化を評価した．ミクログリアの形態学的解析は Neurolucida/NeuroExplorer ソフトウェア (MBF Bioscience) を用いて，抗 Iba1 抗体で標識されたミクログリアの細胞体と細胞突起を手動でトレースし定量した．さらに，痛覚感受性変化に対するミクログリアの役割を明らかにするため，ミクログリアの増殖・分化を制御するコロニー刺激因子 1 受容体の選択的阻害薬である PLX3397，ならびにミクログリアの選択的毒素である Macl-saporin を用いて，脊髄ミクログリアの発現と疼痛行動に対する影響を解析した．</p>			
<p>【結果と考察】 胎生期バルプロ酸投与マウスは，社会性行動の低下や認知機能の障害，行動柔軟性（認知的柔軟性）の障害といった行動学的異常を示し，ASD のモデル動物として広く利用されている．フォン・フライ試験において胎生期バルプロ酸投与マウスは，コントロールマウスと比較して，4 週齢ならびに 8 週齢においてともに，機械性非侵害刺激に対するアロディニアを示した．本マウスの脊髄後角において，Iba1 陽性細胞の数や蛍光強度，細胞面積が増加しており，また CD11b の蛍光強度も増加した．さらに胎生期バルプロ酸投与マウスの脊髄ミクログリアでは CD68 の発現が増加していた．これらの結果よりミクログリアの活性化が示唆された．形態学的解析により，胎生期のバルプロ酸投与マウスのミクログリアは，細胞面積や細胞突起の長さが増加した hyper-ramification の形態を示しており，また CD11b の免疫反応性を示したことから，炎症反応に関わっていることが示唆された．胎生期バルプロ酸投与マウスに対し</p>			

て、混餌により PLX3397 を 10 日間投与したところ、脊髄でのミクログリア数が減少し、機械的アロディニアの改善がみられた。さらに、Mac1-saporin の髄腔内急性投与によっても、脊髄ミクログリアの数が減少し、アロディニアが改善された。以上の結果から、胎生期のバルプロ酸投与が幼若期から持続的なアロディニアを引き起こすこと、またその反応には、少なくとも脊髄ミクログリアの活性化が関与していることが示唆された。

本研究の結果は、ASD でみられる痛覚感受性変化のメカニズムの一端を示す重要な新知見である。今後より詳細な分子機序が明らかになることによって、ASD の症状を緩和あるいは治癒できる新しい治療法の開発につながることを期待される。

よって、審査委員会委員全員は、本論文が今戸瑛二氏に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値のあるものと認めた。