

学 位 論 文 要 旨

氏 名 藤 卷 寿 子



論 文 題 目

「Elevation of Microglial Basic Fibroblast Growth Factor
Contributes to Development of Neuropathic Pain after
Spinal Nerve Ligation in Rats」

(ラット神経障害性疼痛モデルにおいてミクログリア由来 bFGF は
神経障害性疼痛の発現に関与する)

指 導 教 授 承 認 印

高 桐 淑 士



「Elevation of Microglial Basic Fibroblast Growth
Factor Contributes to Development of Neuropathic
Pain after Spinal Nerve Ligation in Rats」

(ラット神経障害性疼痛モデルにおいてミクログリア

由来 bFGF は神経障害性疼痛の発現に關与する)

氏名 藤巻 寿子

【はじめに】 神経障害性疼痛は帯状疱疹後神経痛や糖尿病性神経障害に代表される神経損傷、機能障害によって生じる痛みであるが、その発症維持メカニズムは依然として不明であり治療に難渋する。

近年、脊髄におけるミクログリア細胞と神経栄養因子が、神経障害性疼痛の発症に関わることが明らかにされている。すでに、神経栄養因子の1つである塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) が脊髄アストロサイトの活性化を通して慢性期の神経障害性疼痛の発現に關与することが報告され、神経障害慢性期において重要な役割を持つことが明らかになった。しかし脊髄ミクログリアにおけるその役割は明らかにされていない。本研究の目的は、ラット脊髄神経結紮モデルにおける bFGF のミクログリア細胞活性を介する神経障害性疼痛発現機構を明らかにすることである。

【方法】

動物モデル作製：脊髄神経を結紮して神経障害性疼痛モデル (Chung モデル) を作製した。麻酔下に6週齢 SD ラットの左第5腰髄神経を露出し、絹糸で結紮した。結紮直後から脊髄腔内に bFGF 中和抗体 50 μ g/40 μ l を週2回投与した群 (bFGF 中和群)、神経結紮のみの群 (神経結紮群)、および無処置群の比較を行った。

疼痛発現評価：ラットの患肢足底を、0.008~300 g の圧力を加えることができるフィラメントで刺激し、ラットが逃避反応を起こす閾値を測定する von Fray test を行った。

遺伝子発現評価：RT-PCR を用いて脊髄の遺伝子発現の検討を行った。Chung モデル作製6時間、1, 3, 7, 14, 28 日後にラット脊髄腰膨大部を採取した。トリゾル溶液を用いて RNA を抽出後、逆転写酵素を用いて cDNA を合成した。神経障害に伴う活性化グリア細胞および疼痛関連物質発現の検討を目的にミクログリアマーカー (Iba1)、炎症性サイトカインである Tumor Necrosis Factor (TNF)- α 、interleukin (IL)-6、bFGF、および神経障害作用のあるミエロペルオキシダーゼ (Myeloperoxidase, MPO) の遺伝子発現を検討した。

組織学的評価：脊髄における Iba1、bFGF、MPO の局在を検討するために蛍光二重免疫組織化学染色を行った。

【結果】神経結紮群において結紮後3日に急激なアロデニアの進行を認めその発現は術後4週間まで持続した。また結紮後6時間のRT-PCRで脊髄におけるbFGFの有意な増加を認め、結紮後3日にIba1、MPOの増加が認められた。免疫組織染色では脊髄後角にIba1陽性細胞の集積を認め、それらはbFGF、MPO陽性であった。一方、bFGF中和群では投与後3日からアロデニアが有意に抑制されその効果は術後4週まで持続した。またRT-PCRにおけるMPO発現抑制と脊髄後角でのMPO陽性細胞の有意な減少を認めた。

【考察】本研究では神経障害直後の脊髄においてミクログリア由来bFGFが増加することが明らかになった。またbFGFの中和は、脊髄ミクログリア由来MPO発現抑制を通じてアロデニアの進行を抑制することが示された。MPOは活性酸素種を産生し、細胞障害作用を持つ事が報告されている。本実験の結果からミクログリア由来bFGFはMPO介して神経障害性疼痛の進行に関与する可能性が示唆された。神経障害初期のbFGFの制御は神経障害性疼痛治療のターゲットになるかもしれない。