

ふりがな 氏名	ふあん ふおんちい 黄 宏智
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	乙 第 1579 号
学位授与の日付	平成 25 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項に該当
学位論文題目	Activation of microglial cells in the trigeminal subnucleus caudalis evoked by inflammatory stimulation of the oral mucosa (口腔粘膜への侵害刺激により誘発される三叉神経脊髄路核尾側亜核内マイクログリアの活性化)
学位論文掲載誌	Okajimas Folia Anatomica Japonica 第 89 巻 第 4 号 平成 25 年 2 月
論文調査委員	主査 岩井 康智 教授 副査 西川 泰央 教授 副査 小谷 順一郎 教授

論文内容要旨

本研究では、口腔粘膜に侵害刺激を呈示した際の三叉神経脊髄路核 (Vc) 内マイクログリアの活性化、ならびにマイクログリアの活性化に対する細胞内情報伝達系の構成成分である mitogen-activated protein kinase (MAPK) の関与について検討した。

Wistar 系雄性ラット (7 週齢、20 匹) に sodium pentobarbital (70mg/kg) を腹腔内投与し、舌に溶液 10 μ L (対照群 : 0.9% 食塩水、実験群 : 5% formalin (FOR)) を染み込ませたろ紙を静置した。5 分経過後ろ紙を除去、その 1 時間後および 24 時間後に麻酔を施して 4% paraformaldehyde (PFA) 溶液にて灌流固定し、舌および脳幹を摘出した。4% PFA 溶液にて後固定後、通法により凍結切片を作製した。舌の切片には炎症性サイトカインの 1 つである腫瘍壊死因子 tumor necrosis factor (TNF α) に対する抗体を、脳幹の切片には活性化マイクログリアのマーカーである Iba1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1) に対する抗体を用いて、酵素抗体法による免疫染色を行い、各々の免疫陽性細胞数を統計学的手法により解析してその経時的変化について検索した。また脳幹の切片には Iba1 および p38 MAPK の蛍光抗体法染色を行い、p38 MAPK のマイクログリアの活性化への関与についても検討した。

その結果、舌では刺激 1 時間後、ならびに 24 時間後において、対照群に比べて実験群で舌に存在する TNF α 免疫陽性細胞の発現が著明に認められた。実験群のみで比較すると、刺激 1 時間後より刺激 24 時間後において、TNF α 免疫陽性細胞の発現数が有意に多かった。また、脳幹では刺激 1 時間後および 24 時間後において、対照群に比べて実験群で Vc に存在する Iba1 免疫陽性細胞の発現が著明に認められた。さらに、刺激 1 時間後では Vc の辺縁層および膠様質において Iba1 とリン酸化 p38

MAPK の共発現はほとんどみられなかったが、刺激 24 時間後では Iba1 とリン酸化 p38 MAPK の共発現数が有意に多くなった。

以上より、Vc に存在するマイクログリアは口腔粘膜への侵害刺激に応答し、経時的に増強すること、また、Vc 内マイクログリアの活性化の増強にリン酸化 MAPK が何らかの影響を及ぼしている可能性があることが示唆された。

論文審査結果要旨

本研究は口腔粘膜に侵害刺激を呈示した際、刺激伝達により三叉神経脊髄路核 (Vc) 内のマイクログリアが活性化するか、また活性化状態がどの程度持続するか、さらに細胞内情報伝達系の構成成分である mitogen-activated protein kinase (MAPK) がマイクログリアの活性化に関与しているかについて検討したものである。

Wistar 系雄性ラット (7 週齢、20 匹) の舌に溶液 10 μ L (対照群: 0.9% 食塩水、実験群: 5% formalin (FOR)) を染み込ませたろ紙を 5 分間静置した後、ろ紙除去 1 時間後および 24 時間後に舌および脳幹を摘出、作製した凍結切片を免疫染色して、各々の免疫陽性細胞数を統計学的手法により解析し、その経時的変化について検索したものである。舌の切片には腫瘍壊死因子 tumor necrosis factor ($\text{TNF } \alpha$) に対する抗体を、脳幹の切片には活性化マイクログリアのマーカーである Iba1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1) に対する抗体を用いている。また脳幹の切片には Iba1 および MAPK スーパーファミリーの 1 つである p38 MAPK の蛍光抗体法染色を行い、p38 MAPK のマイクログリアの活性化への関与についても検討がなされている。

著者らはこの研究において、舌では刺激 1 時間後、ならびに 24 時間後において、対照群に比べて実験群での舌に存在する $\text{TNF } \alpha$ 免疫陽性細胞の著明な発現、また脳幹では刺激 1 時間後および 24 時間後において、対照群に比べて実験群で Vc に存在する Iba1 免疫陽性細胞の著明な発現、さらに刺激 24 時間後において Iba1 とリン酸化 p38 MAPK の共発現数の有意な増加という結果を得ている。

以上より、Vc に存在するマイクログリアは口腔粘膜への侵害刺激に応答し、経時的に増強すること、また、Vc 内マイクログリアの活性化の増強にリン酸化 MAPK が何らかの影響を及ぼしている可能性があることが示唆された。

以上今まで研究が進んでいなかった、口腔粘膜に侵害刺激を呈示した際の脳幹内マイクログリアの活性化、ならびに細胞内情報伝達系の構成成分のマイクログリア活性化への関与について明らかにした点において、本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。

なお、外国語 1 か国語 (英語) について試問を行った結果、合格と認定した。