

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	糸 数 隆 秀
論文題目	Involvement of Wnt/ β -catenin signaling in the development of neuropathic pain （ 神経因性疼痛の発症に Wnt/ β -カテニンシグナルが関与する ）		
（論文内容の要旨）			
神経系の損傷に起因する神経因性疼痛に対し、今なお十分な疼痛緩和を達成し得る治療法は無く、病態解明・新規治療標的の探索が急務である。本研究では神経系の発生において様々な側面で重要な役割を果たす Wnt シグナル、中でも最もシグナルの全容の理解が進んでいる β カテニン経路（古典的経路）に着目し、本シグナルが神経因性疼痛発症に何らかの役割を果たすのではないかと考え、動物モデルを用いた研究を行った。 神経因性疼痛の動物モデルとしては齧歯類の坐骨神経部分結紮モデルが確立されており、本研究でもこれを用いた。坐骨神経の部分結紮後約 1 日の時点から神経因性疼痛の出現を反映するとされるアロディニア（本来痛みを発生しない軽い触刺激でも痛みを引き起こす現象）が出現し、損傷 3 日後に症状はピークとなった。そこで損傷後 2 日の時点で、損傷した感覚神経線維の中枢側投射先であり疼痛発症に重要と考えられている脊髄後角において非リン酸化型（活性型） β カテニンの発現をウエスタンブロット法を用いて調べたところ、非損傷側に対し損傷側で有意に発現が上昇していることが確認された。そこで Wnt/β カテニン経路を活性化する最も代表的な Wnt リガンドである Wnt3a の発現を脊髄後角で調べたところ、やはり損傷側で有意な発現上昇がみられた。 神経因性疼痛の病態形成の時期に一致して脊髄後角で Wnt リガンドの発現上昇と β カテニン経路の活性化が起こっていることが確認されたため、次にこの Wnt/β カテニン経路の活性化が実際に神経因性疼痛の発症に関わっているかどうかを調べることにした。この目的で、坐骨神経部分結紮を行うと同時に、Wnt/β カテニン経路の特異的な阻害薬である XAV939 をあらかじめ挿入しておいた髄腔内留置カテーテルから持続的に注入することにより神経因性疼痛の発症が抑制されるかどうかを検討した。結果、本処置により神経因性疼痛発症は有意に抑制された。逆に、損傷を施していないラットに同様の手法で Wnt3a リコンビナントタンパクを注入したところ、注入開始 12 時間後にはアロディニアの出現がみられ、24 時間後には坐骨神経結紮モデルとほぼ同程度の症状を示した。これらの結果から、脊髄後角における Wnt/β カテニン経路の活性化は神経因性疼痛の発症に大きく関与している可能性が示唆された。 最後に、Wnt/β カテニン経路が疼痛発症を惹起する機序につき検討した。近年神経因性疼痛発症におけるミクログリアの役割が注目されており、特にミクログリアから放出される脳由来神経栄養因子（BDNF）が神経疼痛症状を引き起こすことが証明されている。本モデルでも、坐骨神経結紮側の脊髄後角においてミクログリア活性化と BDNF 濃度の上昇が確認された。さらに坐骨神経損傷と同時に XAV939 髄腔内投与を行うことにより疼痛発症が抑えられたラットの脊髄におけるミクログリア活性化を免疫染色法を用い検討し、損傷のみ群に比べミクログリア活性化が有意に抑えられていることを見出した。そこで Wnt がミクログリアに及ぼす影響を <i>in vitro</i> で検証することとし、ミクログリア細			

胞株である MG5 細胞に Wnt3a を添加したところ、活性化を示唆するミクログリアの形態変化、さらに培養上清中の BDNF 量の上昇がみられた。

以上の結果より、Wnt/ β カテニン経路の活性化が神経因性疼痛の発症に深く関与していることが示され、またその作用の一部がミクログリアを介するものである可能性が示唆された。本シグナル経路は神経因性疼痛の新たな治療標的となる可能性があり、今後より詳細な検討を行う必要があると考える。

（論文審査の結果の要旨）

申請者は神経因性疼痛の病態解明・新規治療標的の探索を目的とし、Wnt/ β カテニンシグナル経路に着目した実験を行った。齧歯類の坐骨神経部分結紮モデルを用いて末梢神経損傷後の脊髄後角における Wnt 関連蛋白の発現を検索したところ、活性型 β カテニンが蓄積し、Wnt/ β カテニン経路が活性化していること、及び本経路を活性化する代表的なリガンドである Wnt3a の発現が上昇していることを見出した。Wnt/ β カテニン経路の活性化が神経因性疼痛の発症に関わっているかどうかを調べる目的で、坐骨神経部分結紮を行うと同時に Wnt/ β カテニン経路阻害薬を髄腔内留置カテーテルから持続投与した結果、症状が有意に抑制されることを明らかにした。一方、Wnt3a の髄腔内投与により神経因性疼痛症状が惹起されることも示した。これらの結果から末梢神経損傷後にみられる脊髄後角での Wnt/ β カテニン経路の活性化が神経因性疼痛の発症に深く関与していることが示唆された。さらに、Wnt/ β カテニンシグナルの活性化がミクログリアからの BDNF（脳由来神経栄養因子）の放出を促し、神経因性疼痛症状発症に関与するという可能性を提示した。

以上の研究は神経因性疼痛発症に関わる分子メカニズムの解明に貢献し、新たな治療標的の同定に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 2 6 年 2 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。