

## 論文の内容の要旨

氏名：浦田 健太郎

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：口腔顔面の切開後痛覚過敏に対する TRP チャンネルの関与

温熱痛覚過敏と機械アロディニアは、ともに皮膚の切開によって生じ、組織損傷により、損傷部を支配している一次求心性神経の感作のような様々な分子的变化が生じることが報告されてきた。また、口腔粘膜の温熱および機械的感受性は顔面皮膚とは異なって評価されてきた。このように、組織損傷により発症する温熱痛覚過敏と機械アロディニアは共通して多様な因子が関連し、また、口腔内の温熱および機械刺激感受性は口腔外の皮膚の感受性とは異なることが研究的にも臨床的にもよく知られている。しかし、口腔粘膜損傷後の疼痛発現に関するメカニズムは、口腔外皮膚と比較していまだ明らかではない。

そこで、本研究は口腔粘膜あるいは顔面皮膚の切開に起因した疼痛発症機構に対して、三叉神経節 (TG) 細胞に発現する transient receptor potential V1 (TRPV1), transient receptor potential A1 (TRPA1) および transient receptor potential V2 (TRPV2) がいかなるメカニズムで関与するかを明らかにすることを目的とした。

Sprague-Dawley 系雄性ラットを pentobarbital Na (50 mg/kg, 腹腔内投与) で深麻酔し、左側頬粘膜あるいは口髭部皮膚に切開処置を施し、頬粘膜切開モデルおよび口髭部皮膚切開モデルラットを作製して研究に用いた。切開により組織が損傷されるといわれる侵害受容性疼痛とは異なる異常疼痛が引き起こされるが、口腔内外におけるこの異常疼痛発症メカニズムの違いを TRP チャンネルに着目し行動学的、免疫組織化学的、および行動薬理学的手法を用いて解析した。

切開処置を施した頬粘膜あるいは口髭部皮膚へ熱、冷あるいは機械刺激を与えて頭部引っ込み反射閾値 (熱刺激：HHWT, 冷刺激：CHWT, 機械刺激：MHWT) を測定した。その結果、頬粘膜切開群は naive 群に比較して1日目から3日目まで、口髭部皮膚切開群は3日目から5日目まで有意な HHWT の低下を示した。また、頬粘膜切開群は naive 群に比較して1日目から5日目まで、口髭部皮膚切開群は1日目から11日目まで有意な MHWT の低下を示した。さらに、頬粘膜切開群は naive 群に比較して1日目から7日目まで、口髭部皮膚切開群は1日目から5日目まで有意な CHWT の上昇を示した。

あらかじめラットの頬粘膜あるいは口髭部皮膚に対し、神経逆行性トレーサーである DiI (1,1'-dioctadecyl-3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine methanesulfonate) または FG (FluoroGold) を投与すると、これらのトレーサーでラベルされた細胞が TG 内に多数検出された。切開処置後3日目、頬粘膜および口髭部皮膚の両方で DiI により標識された TRPV1 陽性あるいは TRPA1 陽性 TG 細胞が naive 群よりも有意に多く検出された。また、FG で標識された TRPV1 陽性かつ TRPA1 陽性 TG 細胞数は、口髭部皮膚切開群の方が naive 群よりも有意に多く認められたが、頬粘膜切開群においては有意差が認められなかった。一方、TRPV1 陽性かつ TRPA1 陰性細胞および TRPV1 陰性かつ TRPA1 陽性細胞数は頬粘膜切開群において naive 群と比較して有意に多かったが、頬粘膜切開群において有意差は認められなかった。頬粘膜および口髭部皮膚切開処置後3日目、切開部に TRPV1 拮抗薬である SB366791 あるいは TRPA1 拮抗薬である HC-030031 を局所投与し、熱、冷および機械刺激に対する HWT の閾値を測定した。SB366791 投与では、頬粘膜切開群は vehicle 投与群と比較して HHWT の有意な低下の抑制を認めた。一方で口髭部皮膚切開群においては、HHWT および MHWT の有意な低下の抑制を認めた。HC-030031 投与では、頬粘膜切開群は vehicle 投与群と比較して MHWT および CHWT の有意な低下の抑制を認め、一方で口髭部皮膚切開群においては HHWT, MHWT および CHWT の有意な低下の抑制を認めた。SB366791 と HC-030031 の同時投与では、頬粘膜切開群および口髭部皮膚切開群の両群において、vehicle 投与群と比較して HHWT, MHWT および CHWT の有意な低下の抑制を認めた。

さらに、本研究では頬粘膜および口髭部皮膚切開後の異常疼痛発症に対する TG 細胞に存在する TRPV2 の関与を、免疫組織学的および行動薬理学的に検討した。あらかじめ頬粘膜あるいは口髭部

皮膚に DiI を投与し, DiI により標識された TRPV2 陽性 TG 細胞数を解析した。切開処置後 3 日目, DiI により標識された TRPV2 陽性 TG 細胞数は, naive 群と比較して有意に増加した。また, TRPV2 拮抗薬である tranilast の切開部投与により, HHWT および MHWT 低下が有意に抑制されたことから, 頬粘膜および口髭部皮膚切開後に発症する熱痛覚過敏および機械アロディニアには, TG 細胞における TRPV2 の関与が明らかになった。

本研究結果から以下に示した頬粘膜および口髭部皮膚切開後の異常疼痛発症機構が推察される。

1. 頬粘膜切開後に発症する熱, 冷痛覚過敏および機械アロディニアには, 切開部を支配する TRPV1 陽性かつ TRPA1 陰性 TG 細胞, および TRPA1 陽性かつ TRPV1 陰性 TG 細胞の増加が関与する。
2. 口髭部皮膚切開後に発症する熱, 冷痛覚過敏および機械アロディニアには, 切開部を支配する TRPV1 かつ TRPA1 共陽性 TG 細胞の増加が関与する。
3. 頬粘膜または口髭部皮膚切開後, 切開部を支配する TG 細胞に発現増加する TRPV2 も両部位の切開によって引き起こされる熱痛覚過敏および機械アロディニアに関与する。

以上から, 頬粘膜と口髭部皮膚の損傷によって引き起こされる異常疼痛発症の違いには, TG 細胞に発現する TRPV1 と TRPA1 の細胞内相互作用および TRPV2 が関与する可能性が示された。