

## 論文の内容の要旨

氏名：渡 瀬 哲 郎

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Involvement of TRPV1 channel and Connexin 43 expression in trigeminal ganglion neurons in facial hypersensitivity following tooth pulp inflammation

（歯髄炎に起因した顔面皮膚痛覚過敏発症に対する三叉神経節内 TRPV1 および Connexin 43 の関与）

歯髄炎では、しばしば原因歯の明示が困難となる歯痛錯誤と呼ばれる症状が発症することが知られている。このような症例では、「誤診」や「誤治療」を招く恐れがあり、歯科臨床において大きな問題となっている。この誘因として、「関連痛」や「異所性の疼痛異常」などの異常感覚が考えられるが、発症メカニズムには未だ不明な点が多く、その解明は診査診断精度を向上させることから臨床的に極めて意義深いことである。

歯髄の炎症は、三叉神経節 (TG) 細胞の興奮性を著しく上昇させ、高頻度の活動電位が三叉神経脊髄路核尾側亜核や上部頸髄などの上位中枢へ伝えられる。このような状態が長期間継続すると TG ニューロンは感作され、炎症性サイトカインやケミカルメディエーター等が TG 内に放出されて satellite glial cells (SGCs) を活性化させる。活性化された SGCs は細胞体が膨化し、TG ニューロンと同様に様々な分子を放出する。

TG ニューロン周囲の SGCs は、connexin43 (Cx43) などで構成されるギャップ結合を通じて、SGCs 相互間または SGCs と神経細胞間の情報伝達を行う。歯髄の炎症が、TG ニューロンの過興奮を誘導し、これにより SGCs の活性化と Cx43 の発現が増強されると、興奮性の情報はギャップ結合により周囲の神経細胞や SGCs に拡散され、これにより異所性疼痛が発現すると考えられている。

一方、transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) は、一次感覚神経のうち、無髄 C 線維に多く発現し、熱性痛覚過敏の受容体として機能していることが知られている。これまでの研究で、末梢組織に炎症が生じると三叉神経節内や脊髄後根神経節内で TRPV1 発現が増強することが報告されている。このことから、過剰に発現した TRPV1 は末梢組織における痛覚過敏あるいは異所性疼痛発現に重要な役割を担っている可能性がある。

そこで本研究では、歯髄炎に関連した異所性痛覚過敏発症における TRPV1 の関与について検索することを目的とした。歯髄炎による TG ニューロンの過興奮が発生した後に、その周囲に存在する SGCs の活性化と SGCs における Cx43 の発現が増強し、その結果として異所性痛覚過敏が発症するという仮説に基づき、歯髄炎モデルラットを作製して実験を行った。

ラットに 2% isoflurane および sodium pentobarbital による全身麻酔を施し、注水下でラウンドバーを用いて右側上顎第一臼歯歯髄を慎重に露髄させた。50% complete freund's adjuvant (CFA) あるいはその溶媒 (vehicle) に浸漬したペーパーポイントを髄腔内に投与した後に歯科用セメントにて仮封を行い歯髄炎群あるいはコントロール群とした。顔面皮膚の侵害刺激に対する逃避行動の閾値変化を検索するため、CFA あるいは vehicle 投与後 1 日目および 3 日目に刺激と同側の顔面皮膚に機械刺激 (von Frey filament) あるいは熱刺激 (接触型ヒートプローブ) を与え、逃避反射の閾値変化を観察した。

次いで、TRPV1、glial fibrillary acidic protein (GFAP) および Cx43 の発現変化を観察するため、逆行性トレーサーである 10% fluorogold (FG) 0.5  $\mu$ L を同側顔面皮膚にマイクロシリンジを用いて皮内投与した。その後、CFA 投与後に有意な逃避反射閾値の低下を示した 1 日目で通常に従いラットを還流固定し、TG 観察用切片を作製し、蛍光顕微鏡 (Keyence) 下で三叉神経節における TRPV1、GFAP、Cx43、および FG の発現変化を免疫組織学的に観察した。

また、歯髄炎に起因した顔面皮膚痛覚過敏発症に対する TRPV1 の関与を検索するため、CFA 投与後 1 日目に、TRPV1 アンタゴニストである SB366791 を顔面皮膚内にマイクロシリンジを用いて皮内投与し、機械刺激および熱刺激に対する逃避反射閾値変化を測定した。

その結果、CFA 誘導性歯髄炎ラット群における同側顔面皮膚の機械あるいは熱刺激に対する逃避反射閾値は、歯髄炎発症後 1 日目でコントロール群と比較し有意に低下した。また、免疫組織学的に三叉神経節内では、FG 陽性かつ TRPV1 陽性細胞数の有意な増加と、FG 陽性細胞周囲に GFAP 陽性の活性化型 SGCs 数の増加が認められた。また、この細胞では Cx43 の発現増強も認められた。歯髄炎により誘導された同側顔面皮膚の機械あるいは熱刺激による逃避反射閾値の低下は、TRPV1 アンタゴニストの顔面皮膚内投与によって、機械刺激では 30 分で、熱刺激では 30 および 60 分で、それぞれ有意な回復が認められた。

以上のことから、歯髄炎発症による TG ニューロンの興奮性増強は、SGCs の活性化および Cx43 の発現増強を介して神経節細胞内の TRPV1 発現増強および顔面皮膚支配ニューロンの過敏化を誘導し、結果として顔面皮膚の異所性痛覚過敏を発現することが確認された。発現増強した TRPV1 は、歯髄炎発症後の口腔顔面領域での異所性痛覚過敏発症に深く関与していると推測される。歯痛錯誤発現後の TRPV1 の機能調節は、歯髄炎発症時における原因歯特定の検査・診断に応用できる可能性が考えられる。