

論文の内容の要旨

氏名：古川明彦

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Involvement of endothelin in tongue cancer pain

（舌癌性疼痛におけるエンドセリンの関与）

扁平上皮癌が90%を占めている口腔癌患者において、癌発症末期では重度の痛みが主な症状の一つである。しかし、癌発症早期においては痛みを訴えることが少ないため、早期発見が困難なことが多い。

Endothelin 類は、局所的な炎症、末梢神経障害または発癌によって誘発される痛覚過敏に関与しており、最近では endothelin-1 が痛覚過敏を誘発することも報告されている。この endothelin-1 シグナル伝達は endothelin-A および endothelin-B の受容体を介して侵害受容ニューロンの興奮性を高めることが示唆されている。一方、 β -endorphin は正常ケラチノサイトにおける endothelin-1 シグナル伝達の活性化によって放出されるとの報告があり、 β -endorphin は μ -opioid 受容体を活性化することにより K^+ イオンを細胞外に放出し膜電位を下げ、痛みを抑制することが知られている。この相反する知見は、口腔扁平上皮癌細胞から放出された endothelin-1 が舌癌早期において、内因性オピオイドを介した鎮痛に関連する特異的なメカニズムにより、一次求心性侵害受容体の興奮性調節に関与する可能性を示している。そこで我々は、endothelin-1 シグナル伝達が舌癌の早期段階における一次求心性侵害受容体の興奮性を調節するという仮説をもとに本研究を計画した。

実験には、F334 系雄性ラットを用い、外耳道由来扁平上皮癌細胞（SCC-158 細胞）をラットの舌に接種してラット舌癌モデルを作製した。対照群には、PBS を vehicle として舌に接種した。SCC-158 細胞または PBS を舌に接種し 6 日後、14 日後、および 21 日後に舌を切り出し凍結切片を作製し、HE 染色により、舌の病理学的変化を評価した。その結果、接種後 6 日目に SCC-158 細胞接種部位に小さな腫瘍が観察され、14 日目に反対側にまで浸潤し、21 日目には舌全体に浸潤していた。PBS を接種した舌には組織学的変化はなかった。

浅麻酔下において舌に機械もしくは熱侵害刺激を与え、逃避反射閾値を測定し、行動学的解析を行った。機械侵害刺激では SCC-158 細胞接種後 8 日目以降、対照群と比較し有意な閾値の低下を認めた。しかし、熱侵害刺激においては実験期間中、有意な閾値の低下は認められなかった。

次に、舌癌発症早期および後期における三叉神経節ニューロンの興奮性変化を調べるために、パッチクランプ法を用いて電気生理学的解析を行った。舌を支配する三叉神経節ニューロンにおいて、SCC-158 細胞の接種は、静止膜電位および活動電位に影響を与えなかった。一方、SCC-158 細胞接種後の基電流および活動電位閾値は、舌癌発症後期に有意に減少した。以上の結果より、舌を支配する三叉神経節ニューロンの興奮性変化が、舌癌発症後の機械感受性と相関し、機械痛覚過敏に関与し得る可能性が示された。

続いて、癌発症ラットの末梢組織における endothelin-1 および β -endorphin の放出および各種レセプターの発現変化を検索した。その結果、培養 SCC-158 細胞から endothelin-1 が放出されていることが確認され、また舌癌発症早期および後期の SCC-158 細胞接種舌において endothelin-1 量の増加を認めた。Endothelin-A 受容体は SCC-158 細胞上に発現しており、endothelin-A 受容体拮抗薬を添加することにより培養 SCC-158 細胞からの β -endorphin の放出を抑制し、endothelin-1 の添加により β -endorphin の放出を増加させた。また、培養 SCC-158 細胞における NF- κ B シグナル伝達の阻害は、 β -endorphin の放出を抑制した。Endothelin-A 受容体拮抗薬添加による endothelin-1 シグナリングの阻害は、培養 SCC-158 細胞における β -endorphin 産生の低下をもたらし、さらに SCC-158 細胞接種後の舌癌発症早期および後期の舌組織において β -endorphin 量の増加を抑制した。これらの知見は、SCC-158 細胞が endothelin-1 を分泌し、オートクリンまたはパラクリン経路により SCC-158 細胞からのさらなる

endothelin-1 分泌を促進することを示し、舌癌の早期段階における扁平上皮癌細胞からの β -endorphin 放出を刺激すると考えられた。

また、各種受容体アゴニストおよび、アンタゴニスト投与の逃避反射閾値に対する影響について解析を行った。SCC-158 細胞を接種した舌における endothelin-A 受容体選択的アンタゴニスト投与は、舌癌早期における舌の機械感受性を増強した。さらに、SCC-158 細胞を接種した舌における機械痛覚過敏は、 μ -opioid 受容体選択的アンタゴニスト投与によって有意に増強した。また、 μ -opioid 受容体は PBS または SCC-158 細胞を接種した舌を支配する三叉神経節ニューロンにおいて発現していたが、受容体タンパク量の経日的変化は認められなかった。以上のことから、endothelin-1 シグナル伝達によって SCC-158 細胞から放出された β -endorphin が、 μ -opioid 受容体を介して SCC-158 細胞を接種した舌を支配する侵害受容性ニューロンの過興奮性を抑制し、結果的に舌癌発症早期の舌の機械感受性増強の抑制をもたらすことが示唆された。

Endothelin-A 受容体の局在は、小径の一次求心性ニューロンにおいて確認されており、endothelin-1 によりニューロンの興奮性を高めるとされている。Endothelin-A 受容体は、PBS または SCC-158 細胞を接種した舌を支配する三叉神経節ニューロンにおいても発現が確認され、さらに endothelin-1 の舌投与は、舌の機械痛覚過敏を誘発した。このことは、 β -endorphin シグナル伝達による三叉神経節ニューロン過興奮の阻害効果が、舌癌の早期段階における三叉神経節ニューロン興奮性に対する endothelin-1 シグナル伝達の効果よりも強い可能性を示している。

本研究によって得られた結果から、舌癌発症早期における機械感受性は、癌状態における微小環境内の endothelin-1 シグナル伝達を介した β -endorphin に起因する μ -opioid 受容体発現によって引き起こされる鎮痛作用により調節され、舌癌の早期および末期における一次侵害受容性求心性の興奮と抑制のバランスに依存していることが明らかになった。