

## 論文審査の結果の要旨

氏名：赤坂 竜太

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：舌の癌性疼痛発症における protease-activated receptor 2 の役割

審査委員：（主査） 教授 小林 真之

（副査） 教授 米原 啓之

教授 今村 佳樹

教授 岩田 幸一

Protease-activated receptor (PAR) は特定のプロテアーゼを内因性リガンドとする三量体 G タンパクと共役した 7 回膜貫通型受容体である。現在、4 つの PAR ファミリーがクローニングされているが、なかでもトリプシン、トリプターゼ、VIIa 因子や Xa 因子などによって活性化される PAR2 は生体内に広く分布し、様々な機能の制御に関与している。また、PAR2 アゴニストの足底部投与によって疼痛関連行動や痛覚過敏が惹起され、脊髄後角表層において Fos 発現が誘導されることから、PAR2 シグナルの機能亢進は異常疼痛発症の重要な因子になることが強く示唆される。さらに、癌細胞から分泌されるサイトカインである TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$  は、PAR2 の発現を増加させることが知られており、口腔癌浸潤に伴い癌細胞から分泌されるトリプシンが一次侵害受容ニューロンに発現する PAR2 を活性化し、口腔癌による異常疼痛を発症させる可能性がある。しかし、その詳細なメカニズムは不明である。そこで本研究では、扁平上皮癌 (SCC) 細胞の舌接種による舌癌モデルラットを作製し、同モデルラットの舌機械痛覚過敏に対する PAR2 の役割を解明することを目的とした。

実験には、Fischer 系雄性ラットを使用し、2%イソフルランによる吸入麻酔下に、26 G 針にて SCC 細胞の懸濁液を舌左側縁部の位置に接種した (SCC 群)。対照として、同様の方法で溶媒 (0.1 M PBS) を舌左側縁部に接種した (PBS 群)。2%イソフルラン吸入による浅麻酔下にて、舌左側縁部にデジタルフォーセップスを用いて機械刺激を加え、機械刺激に対する逃避反射閾値 (MHWT) を測定した。SCC 細胞接種後 7 日間、PAR2 の選択的アンタゴニスト (FSLLRV-NH<sub>2</sub>) を舌左側縁部に皮下投与し、SCC 細胞接種前および SCC 細胞接種後 7 日目、MHWT を計測した。SCC 細胞接種後 7 日間、FSLLRV-NH<sub>2</sub> を舌左側縁部粘膜下に投与し、灌流固定を行った後、三叉神経節を摘出し、免疫組織学的染色により、FluoroGold (FG) に標識された細胞のうち PAR2 陽性かつ TRPV1, P2X<sub>3</sub>, TRP Ankyrin 1 (TRPA1), Nav1.8 または TRPV2 陽性の細胞を解析した。

その結果以下に示す知見を得た。

1. SCC 細胞接種 2 日目から 7 日目において、PBS 群と比較して SCC 群で MHWT の有意な低下を認めた。また、この閾値の低下は舌左側縁部への PAR2 の選択的アンタゴニストである FSLLRV-NH<sub>2</sub> の投与により、有意に抑制された。
2. SCC 細胞接種 7 日目に、舌に投射する三叉神経節ニューロンにおける PAR2, TRPV1, P2X<sub>3</sub>, TRPA1, Nav1.8 および TRPV2 発現が確認された。
3. SCC 細胞接種 7 日目において舌に投射する PAR2 陽性三叉神経節ニューロン数は、PBS 群と比較して有意に増加し、その増加は SCC 細胞接種後 7 日間の舌左側縁部への FSLLRV-NH<sub>2</sub> 投与により有意に抑制された。
4. SCC 細胞接種 7 日目において舌に投射する PAR2 陽性ニューロンの多くは TRPV1, P2X<sub>3</sub> または Nav1.8 陽性を示し、このニューロン数は、PBS 群と比較して有意に多く、その増加は SCC 細胞接種後 7 日間 FSLLRV-NH<sub>2</sub> の舌左側縁部への連続投与により有意に抑制された。
5. 舌に投射する PAR2 陽性かつ TRPA1 陽性の三叉神経節ニューロン数は、PBS 群と比較して有意に増加したが、その増加は FSLLRV-NH<sub>2</sub> の舌左側縁部への投与により抑制されなかった。

これらの結果から、舌に投射する一次侵害受容ニューロンにおいて、舌癌微小環境における癌および非癌細胞から持続的に放出されるトリプシンをはじめとするプロテアーゼが PAR2 シグナルを介して TRPV1,

P2X<sub>3</sub>やNav1.8を含む疼痛関連イオンチャネルの発現を亢進させることで、舌癌による機械アロディニアが発症することが示唆された。

以上のように、本研究結果は舌癌に起因する舌痛覚過敏発症機構の一端を解明したもので、歯科基礎医学研究および歯科臨床の発展に寄与するところ大であると考えられる。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和2年3月11日