

論文の内容の要旨

氏名：大 音 樹

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：三叉神経節ニューロンにおける TRPV1 および TRPV2 発現の老化による変化が口腔粘膜疼痛感受性に及ぼす影響

老化は、侵害刺激の受容など身体の様々な感覚機能に影響を及ぼすことが知られている。例えば、熱刺激および機械刺激による手足の皮膚における疼痛閾値は、老化により上昇または低下するとされている。このように四肢領域での侵害刺激に対する老化の影響は数多く報告されているが、顎顔面領域の、特に口腔粘膜での侵害刺激の受容に対する老化の影響に関する報告は少ない。口腔粘膜は熱、化学、および機械的な侵害性および非侵害性の様々な刺激に暴露されている組織であり、近年では口腔粘膜での侵害刺激の受容は、高齢者における誤嚥性肺炎の回避を含めた生体防御メカニズムにおいて非常に重要な機能と考えられている。しかし老化による口腔粘膜での侵害刺激の受容の変化や詳しいメカニズムについては明らかではない。

生体組織に広く分布する侵害受容体には、複数の侵害刺激のトランスデューサーとして機能する Transient receptor potential (TRP) チャネルがある。TRP チャネルの一種である TRP vanilloid (TRPV) ファミリーの内、TRPV1 は 43°C 以上、TRPV2 は 52°C 以上の熱刺激によって活性化し、また TRPV1 と TRPV2 は機械刺激によっても活性化することが報告されている。この TRPV1 および TRPV2 は、口腔粘膜を神経支配する三叉神経節 (TG) ニューロンにも発現し、TRPV1 および TRPV2 陽性 TG ニューロン数の増加は、口腔粘膜損傷後に発症する熱痛覚過敏および機械アロディニアの増強に関与することが報告されている。しかし、TG ニューロンにおける TRPV1 および TRPV2 の発現に対し、老化がどのような影響を及ぼすかについては不明である。

近年、老化に伴う行動障害や認知異常に関連する多くの研究で Senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8) マウスが使用されている。これは SAMP8 マウスが通常マウスと比較して、急速な老化を示し、加齢依存的に学習/記憶障害、免疫機能の低下および中枢神経系へのアミロイド沈着の発生率が増加すること、また加齢により老化した人間の脳と類似した生理学および形態学的変化を示すことなどの特徴を有するためである。そこで本研究は、SAMP8 マウスを用い、TG ニューロンにおける TRPV1 および TRPV2 発現の老化による変化が、侵害熱および機械刺激による口腔粘膜の疼痛感受性にどのように影響するか検討した。

実験には SAMP8 マウス 23 週齢（老齢）と SAMP8 マウス 7 週齢（若齢）を使用した。老化による口蓋粘膜の熱および機械刺激に対する疼痛感受性の変化を明らかにするために、行動観察実験として侵害刺激に対する逃避反射閾値の測定を行った。イソフルラン吸入による浅麻酔下にて、口蓋粘膜にヒートプローブを用いた熱刺激を加え、マウスの頭部引っ込み反射を誘発した際の最低強度の値を熱逃避反射閾値 (HHWT) として測定した。また、デジタルフォンフライを用いた機械刺激を加え、熱刺激と同様に頭部引っ込み反射を誘発した際の最低強度の値を機械逃避反射閾値 (MHWT) として測定した。次に、TRPV1 あるいは TRPV2 発現の老化による影響を明らかにするために、免疫組織化学的解析を行った。神経逆行性トレーサーである Fluoro Gold (FG) を左側口蓋粘膜に注入し、1 週間後に 4% パラフォルムアルデヒドによる灌流固定を行った。TG を摘出し凍結切片を作製後、TG の第 2 枝領域における、FG 標識 TRPV1 あるいは TRPV2 陽性 TG ニューロン数と細胞径の解析を行った。行動薬理学的実験では、TRPV1 あるいは TRPV2 陽性ニューロン数の老化による変化が、口蓋粘膜の疼痛感受性にどのように影響するか検討するために、老齢および若齢 SAMP8 マウスに対し、TRPV1 アンタゴニスト (SB366791 ; 6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)、TRPV2 アンタゴニスト (Tranilast ; 1.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) あるいは各アンタゴニストの溶媒液である 20% ジメチルスルホキシド含有生理食塩水を、左側口蓋粘膜に 27 ゲージの注射針を用いて 3 μL 粘膜下投与し、HHWT および MHWT の変化を経時的に測定した。

行動観察実験の結果、老齢 SAMP8 マウスは、若齢 SAMP8 マウスと比較して、口蓋粘膜の有意な HHWT の上昇と、有意な MHWT の低下を認めた。免疫組織化学的解析の結果、老齢 SAMP8 マウスでは、小型の TRPV1 陽性 TG ニューロンが有意に少なく、中型の TRPV2 陽性 TG ニューロンが有意

に多く発現した。さらに行動薬理学的実験の結果，SB366791 投与により，若齢 SAMP8 マウスは，投与 30 分後に HHWT の有意な上昇を認めたが，老齢 SAMP8 マウスでは，HHWT の有意な変化を認めなかった。また，SB366791 投与後の MHWT は，若齢および老齢 SAMP8 マウス共に有意な変化を認めなかった。Tranilast 投与により，若齢 SAMP8 マウスは，HHWT および MHWT の有意な変化を認めなかったが，老齢 SAMP8 マウスでは，投与 30 分後に HHWT および MHWT の有意な上昇を認めた。

以上のことから，老化により口腔粘膜の熱および機械刺激に対する疼痛感受性は変化し，口腔粘膜を神経支配する TG ニューロンにおける TRPV1 および TRPV2 発現の変化に依存していることが示唆された。