

Title	9 : 歯根膜固有感覚を支配する三叉神経中脳路核ニューロンの機械感受特性 - 感覚機能変調連関解析
Author(s)	権, 洗眞; 黄地, 健仁; 木村, 麻記; 澁川, 義幸; 片倉, 朗; 一戸, 達也
Journal	歯科学報, 123(2): 186-186
URL	http://hdl.handle.net/10130/6247
Right	
Description	

示 説

No.8 : 神経障害性疼痛における Merkel 細胞 - 神経突起複合体の関連 :

神経障害性疼痛は末梢性機能変調で生じるのだろうか？

金子瑠実¹⁾²⁾, 黄地健仁²⁾, 木村麻記²⁾, 澁川義幸²⁾, 片倉 朗¹⁾, 一戸達也¹⁾ (東歯大・歯麻)¹⁾
(東歯大・生理)²⁾

目的: 毛包の外毛根鞘や口腔粘膜など、表皮に発現している遅順応性機械受容器である Merkel 細胞は、シナプスを介して感覚ニューロンと「Merkel 細胞 - 神経突起複合体」を形成している。以前、我々はハムスターの Merkel 細胞が直接的な機械的刺激による細胞の変形に反応してグルタミン酸を細胞外に放出し、放出されたグルタミン酸がラット三叉神経節細胞の NMDA 受容体を活性化すると報告した。神経障害性疼痛は「体性感覚神経系の病変や疾患によって引き起こされる疼痛」と定義され、自発痛のみならず痛覚過敏やアロディニアなどの症状がみられる。近年、その内服治療薬の1つであるプレガバリンの外皮投与が、神経障害モデルマウスに鎮痛効果をもたらすことが報告された。そこで本研究では、Merkel 細胞と三叉神経節細胞の機械感受性イオンチャネルに対するプレガバリンの作用を明らかにすることを目的とした。

方法: 本研究は東京歯科大学の動物実験委員会および組換え DNA 実験安全委員会 (番号 210301, 220301 および DNA1805) によって承認された。細胞は不死化ヒト Merkel 細胞株、および 6 ~ 9 日齢 Wistar ラットから急性単離した三叉神経節細胞 (TG) を使用した。細胞への機械刺激は微小ガラ

ス管を用いて行った。細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 測定には Ca^{2+} 指示薬の Fura 2 を使用した。プレガバリンの短時間投与群では、直接機械刺激の 5 ~ 10 分前にプレガバリンを投与し、長時間投与群ではプレガバリンを添加した培養液で 24 時間培養した後に、直接機械刺激を行った。

結果: 蛍光免疫染色で、Merkel 細胞は cytokeratin 8, 14, 20, 機械感受性イオンチャネルの Piezo 1, Piezo 2 に免疫陽性を示した。TG は Piezo 1, Piezo 2 チャネルに免疫陽性を示した。Merkel 細胞および TG への 100 μ M プレガバリンの長時間投与により、直接機械刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 増加は抑制されたが、短時間投与では抑制されなかった。Merkel 細胞の Piezo 1 チャネル遺伝子抑制細胞で、直接機械刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 増加は抑制されなかった。Merkel 細胞の Piezo 1 チャネル遺伝子抑制細胞へのプレガバリン短時間投与は、直接機械刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 増加に影響しなかった。

考察: プレガバリンは長期投与することで、ヒト Merkel 細胞およびラット TG の機械感受性イオンチャネルに作用する可能性が示唆された。その作用点が Piezo 1 チャネルである可能性は低いことが示された。

No.9 : 歯根膜固有感覚を支配する三叉神経中脳路核ニューロンの機械感受特性

- 感覚機能変調連関解析

権 洗真¹⁾²⁾, 黄地健仁²⁾, 木村麻記²⁾, 澁川義幸²⁾, 片倉 朗¹⁾, 一戸達也¹⁾ (東歯大・麻酔)¹⁾
(東歯大・生理)²⁾

目的: 機械感受性イオンチャネルはニューロンに加えられた機械刺激を細胞膜電位信号に変換し、触圧覚・疼痛発生のような本質的な生体生理機能の基本プロセスに関与している。また筋紡錘やゴルジ腱器官にも機械感受性イオンチャネルが発現し固有感覚を担っている。一方で、歯根膜には咬合力を感知する固有受容器が存在し、三叉神経中脳路核 (MesV) ニューロンと接続し分布しているが、その固有感覚発生を理解する機械刺激受容の分子基盤は不明である。本研究では、歯根膜機械・固有感覚を担う分子基盤を明らかにすることを目的とした。

方法: Wistar ラット (15日齢) の両側上顎第一臼歯の歯根膜にニューロン順行性トレーサーコレラトキシニンサブユニット B (CTB) を注入した。注入 2 日後に中脳部から延髄部までを取り出し、スライサーを用いて 400 μ m の脳幹部スライス標本を作成し、30 分間静置した。スライスから MesV が局在する領域をパンチアウトし酵素処理後、トライチュレーションによって急性単離した。単離した細胞を 10% FBS を含む L-15 培地で 24 時間の初代培養を行った。単離した MesV を 24 時間培養後固定しプロセッシング処理を行い、一次抗体と二次抗体を反応させた。また単離細胞にカルシウム蛍光指示薬 (fura-2) を用いて、細胞内遊離カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を記録した。初代培養 MesV に

ガラス微小管を用いた直接機械刺激により生じる $[Ca^{2+}]_i$ 変化を記録した。

結果: 単離した CTB 陽性の MesV は、末梢マーカーである peripherin, 感覚マーカーである POU ドメインクラス 4 転写因子 1 (Brn 3a), 機械感受性イオンチャネルである Piezo 1 チャネルと Piezo 2 チャネルに免疫陽性を示した。CTB 陽性の MesV に細胞外 Ca^{2+} 存在下で 50 mM K⁺ 溶液を投与すると、一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が観測された。細胞外 2 mM Ca^{2+} 存在下でガラス微小管を用いて直接機械刺激を行ったところ、 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が観測された。3 回の刺激で、その上昇に脱感作は見られなかった。また、機械刺激による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は非選択的機械受容チャネル阻害薬ガドリニウムにより一過性に抑制された。

考察: 単離した MesV は脱分極刺激に反応したことからニューロンと同定された。また、単離細胞は peripherin, Brn 3a に免疫陽性を示したことから感覚を担う末梢ニューロンと同定された。単離した CTB 陽性の初代培養 MesV 細胞に Piezo 1 チャネルと Piezo 2 チャネルが発現し、また、機械刺激に反応した。加えて直接機械刺激誘発性細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇は細胞外ガドリニウムで抑制されたことから MesV には機械感受性があることが示唆された。