

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 野代 知孝

学位論文題目 Endothelin-1 elicits TRP-mediated pain in acid-induced oral ulcer model

審査委員 (主査) 竹 内 弘



(副査) 松 尾 拓



(副査) 土 生 学



学位審査結果の要旨

歯科治療において口内炎による疼痛は患者の協力度に影響を及ぼし、治療の中断や患者のQOL低下を招く。口内炎は口腔内で最も頻発する疾患であるが、病態生理学的な症状や疼痛発生の機序についてはほとんど研究されておらず、有効な治療法も存在しない。申請者の野代氏が研究を行なった生化学分野では、口内炎の病態解明のため、覚醒下でラットの疼痛関連行動の観察を可能とする実験方法を新たに開発し、酢酸処理による口内炎モデルラットの疼痛発生機序の解析を進めていた。口腔粘膜での潰瘍形成により発現が増加することが知られるエンドセリン-1 (ET-1) は、疼痛発生にも関与することから、野代氏は本研究において、酢酸処理口内炎モデルにおける疼痛発生に ET-1 が関与するかどうかを検討した。

ペントバルビタール麻酔下で、雄性 Wistar ラットの顎口腔前庭部に 50%酢酸を 30 秒間塗布すると、2 日後に潰瘍を伴って発症する口内炎をモデルとして使用した。コントロール群と合わせ、酢酸処理 1、2 日後の口内炎部組織における ET-1 の発現を免疫組織学的手法と ELISA 法にて解析した。また、口内炎部組織の細菌コロニー数測定、三叉神経節における各種 mRNA 発現量の定量、蛍光免疫染色を行った。ET-1 受容体拮抗薬を含む各種薬物を口内炎部位に 5 分間塗布もしくは全身投与した後の 1 時間後の変化について評価した。覚醒下で自発ラビング時間の延長 (自発痛の評価) と機械逃避閾値の低下 (接触痛の評価) を指標として、口内炎疼痛への影響について検討した。

酢酸処理 2 日目の潰瘍形成に一致して、細菌コロニー数の増加と ET-1 発現量の上昇を認めた。血小板活性化因子受容体拮抗薬や各種 ET-1 合成酵素阻害薬の ET-1 産生量に対する影響から、口腔粘膜上皮の剥離による口腔内細菌の組織内浸潤が血小板活性化因子受容体を活性化し、マスト細胞から放出されるキマーゼ等の酵素を介した ET-1 合成を促進することが示唆された。三叉神経節では ET-1 合成関連遺伝子の発現に変化を認めなかったことから、ET-1 合成は口内炎部位に存在する血管内皮細胞や線維芽細胞などによると考えられた。ETA/ETB 受容体拮抗薬ボセンタンは、本口内炎モデルにおける自発痛と接触痛を共に抑制した。さらに ETA 受容体選択的拮抗薬と ETB 受容体選択的拮抗薬を用いた実験結果は、自発痛は ETB 受容体を介して、接触痛は ETA と ETB 受容体を介して、それぞれ誘発されることを示唆していた。また、このモデルにおいて侵害受容チャネルである TRP チャネルの拮抗薬の効果を検討したところ、自発痛は TRPA1 チャネルを介し、接触痛は TRPA1 および TRPV1 を介して誘発されることが示唆された。蛍光免疫染色の結果より、口内炎部位を支配する三叉神経節ニューロンにおける TRPA1 の発現増加が示唆された。これらの結果は、口内炎部位における ET-1 産生が TRP チャネル依存性の疼痛を生ずる機序の存在を示唆しており、肺動脈性肺高血圧症の治療に用いられているボセンタンや、TRP チャネルの阻害薬が口内炎疼痛に対する新規の有効な治療薬となり得ることを示している。

本研究内容について申請者の野代氏に対し、主査と 2 名の副査による試問を行い、実験手法や結果の解釈および当該分野における意義と今後の課題等について概ね適切な回答を得た。本研究の成果は、口内炎による疼痛発生機序を理解し、より有効な治療法を開発するうえで寄与するものが多いことから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。