

研究者：鎌田 弘明（所属：日本歯科大学大学院 生命歯学研究科・小児歯科学専攻）

研究題目：離乳期雄性マウスの三叉神経節と咬筋における神経伝達物質と筋マーカー発現の比較

目的：

成長期における摂食行動の変化として、吸啜から咀嚼へと転換する時には、筋の性質も変化する。しかし、この時期における神経伝達のメカニズムについては未だに解明されていない点がある。筋に分布する神経の末梢部や血管に発現する Calcitonin gene-related peptide (CGRP) は三叉神経節 (TG) で産生され、血管拡張や筋芽細胞の分化促進機能などをもつ。侵害受容の伝達に関与する Transient receptor potential cation channel subfamily vanilloid member 1 (TRPV1) は TG で産生され、CGRP と共発現する。本研究では、吸啜から咀嚼へと機能変化する成長期 (離乳期) において、TG と咬筋の CGRP と TRPV1 の発現動態を解析し、乳幼児期における咀嚼機能メカニズム解明の一助とすることを目的とした。

対象および方法：

対象

離乳期を想定した生後 10 (P10) 15、20 日齢の 3 ステージにおける ICR 系 SPF 雄性マウス (n = 3/group) を用いた。

方法

定量リアルタイム RT-PCR 法、*in situ* ハイブリダイゼーション法を用いた。

- 1) 定量リアルタイム RT-PCR 法では、各ステージのマウスから TG と咬筋を取り出し、通法に従い各ステージの CGRP、TRPV1 の mRNA の発現量の定量を行った。
- 2) *in situ* ハイブリダイゼーション法では、通法に従い各ステージのマウスを矢状断し、切片を作成、TG における CGRP、TRPV1 の局在性を解析した。

統計処理は IBM SPSS 統計ソフトを用いて、定量リアルタイム RT-PCR 法によるステージ間の比較は Bonferroni の post-hoc 検定による分散分析 (ANOVA) を用いて行い、 $P < 0.05$ で有意差ありとした。

結果および考察：

結果

- 1) CGRP の mRNA 発現レベルは、TG では生後 10 日から 20 日まで有意に増加したのに対し、咬筋では生後 10 日から 15 日まで有意に減少した (図 1A,C)。
- 2) TRPV1 の mRNA 発現レベルは、TG では生後 10 日から 20 日まで有意に増加し、咬筋では生後 15 日から 20 日まで有意に増加した (図 1B,D)。
- 3) TG の吻側から中央部にかけて CGRP と TRPV1 の mRNA 発現細胞が共に認められた (図 2)。

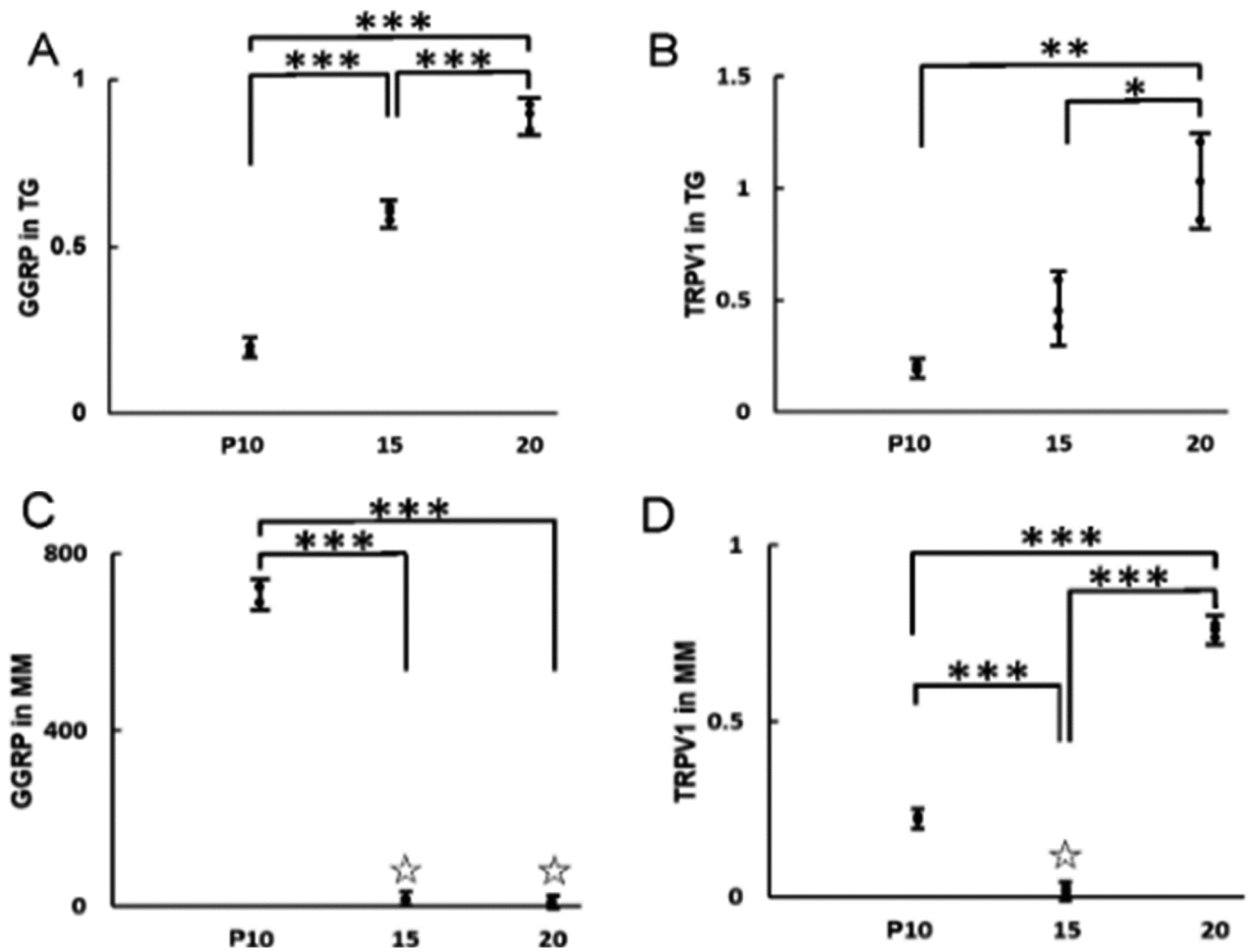


図1 P10、15、20のTGと咬筋（MM）におけるCGRP、TRPV1のmRNA発現レベル
 (A) CGRP mRNA expression in TG (B) TRPV1 mRNA expression in TG
 (C) CGRP mRNA expression in MM (D) TRPV1 mRNA expression in MM ☆: very little
 * p<.05, ** p<.01, *** p<.001. 全てのエラーバーは mean ± SD を示す。

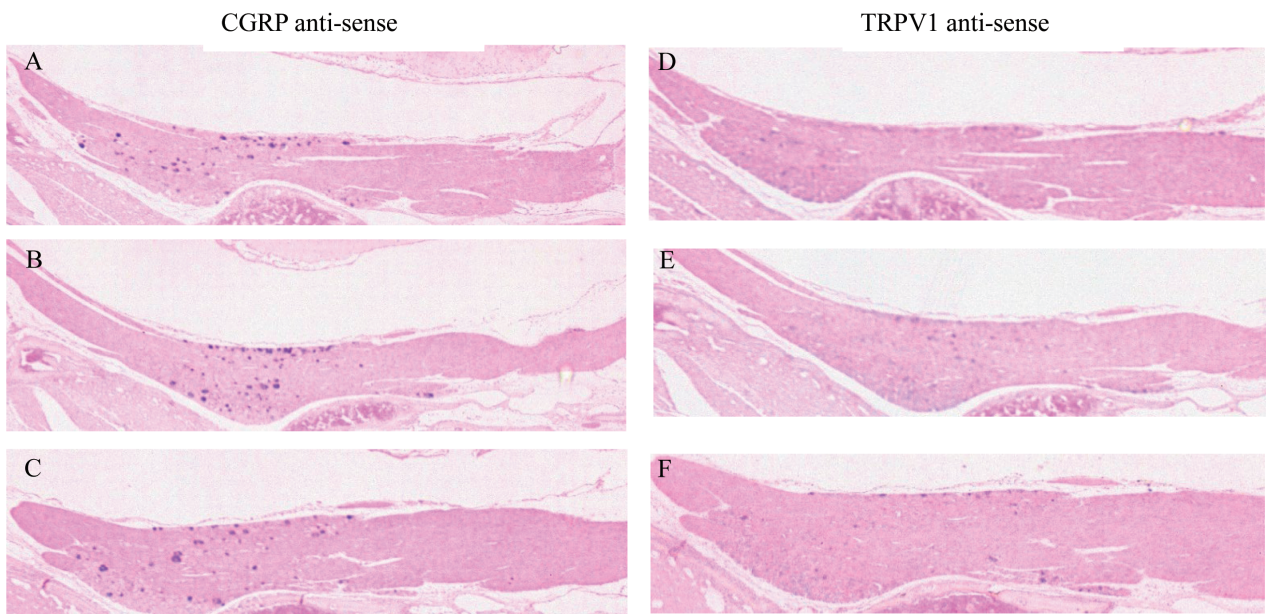


図2 *in situ* hybridization によるTGにおけるCGRPおよびTRPV1陽性細胞の発現
 CGRP antisense (A, B, C); TRPV1 antisense (D, E, F); P10 (A, D) P15 (B, E) P20 (C, F)

考察

本研究の結果は、成長期の咬筋と TG において、CGRP と MyHC の発現の多様性を明らかにし、こ吸啜から咀嚼への転換期において、CGRP が関与する可能性を示唆している。このことは、咀嚼筋に対する CGRP の新たな基礎的機能を示唆し、咀嚼機能の改善につながる情報を提供するものであるといえる。

成果発表：

学会発表

- 1) 鎌田弘明、佐藤巖、苅部洋行：離乳期マウスの三叉神経節と咬筋における神経伝達物質の発現について、第 60 回 歯科基礎医学会学術大会にてポスター発表 (2018、9)
- 2) Kamata H, Sato I, Karibe H : The expression of neurotransmitter in mouse cranium during development, 96th IADR/PER Congress & Exhibition にてポスター発表 (2018、7)
- 3) 鎌田弘明、苅部洋行：成長期のマウス咬筋と三叉神経節における神経伝達物質の発現について、第 56 回 日本小児歯科学会大会にて発表 (2018、5)
- 4) 鎌田弘明、佐藤巖、苅部洋行：離乳期マウスの三叉神経節と咬筋における神経伝達物質の発現について、第 123 回 日本解剖学会総会・全国学術集会にてポスター発表 (2018、3)

論文投稿

- 1) Kamata H, Karibe H, Sato I : Comparison of the expression of neurotransmitter and muscular genesis markers in the postnatal male mouse masseter and trigeminal ganglion during development. J Neurosci Res, 2018 ; 96 (6) : 1043-1055. doi : 10.1002/jnr. 24211.