

**研究者：相馬 久実**（所属：日本大学歯学部 小児歯科学講座）

## **研究題目：口髭部皮膚への新生児期外傷性ストレスに起因する成体期における痛覚アロディニア誘導機構の解明**

### **目的：**

新生児期の精神的・身体的ストレスは、成人後の神経系に様々な変化を引き起こし、異常疼痛の原因となることが知られている。また、舌痛症、非定型顔面痛など歯科領域における異常疼痛は、ストレスとの密接な関連が考えられている。過去の報告から、一次侵害受容ニューロンでの活動電位発生に重要な役割を果たす Tetrodotoxin resistant voltage gated sodium channel 1.8 (Nav1.8) の変調は痛覚過敏発症に関与すること、一次侵害受容ニューロンにおいて CC chemokine receptor 2 (CCR2) を介した CC chemokine ligand 2 (CCL2) シグナルにより Nav1.8 発現が増加することが知られている。近年、新生児期ストレスにより末梢組織において CCL2mRNA が増加していることが報告されたことから、一次侵害受容ニューロンでの Nav1.8 の発現変化の可能性があると考えられる。また、炎症性サイトカインである tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) が遊離し、ニューロンに発現する TNF 受容体に結合することで、ニューロンの興奮性を増強することが報告されている。TNF $\alpha$ はニューロンの興奮性調節に関与する重要な分子であり、TNF $\alpha$ が幼児期の組織損傷に伴う成体期組織損傷後の三叉神経節 (TG) ニューロンの興奮性増強に関与する可能性が高いと考えられる。しかし、これらの詳細は不明である。そこで、本研究では、新生児期外傷性ストレスモデル動物を作製し、口髭部皮膚切開痛に対する新生児期外傷性ストレスの影響を CCL2 シグナルおよび一次侵害受容ニューロンにおける Nav1.8 の発現変化や TG における TNF $\alpha$ に着目して検討する。

### **対象および方法：**

浅麻酔下にて生後4日の雄性 Sprague-Dawley (SD) ラット口髭部皮膚を切開縫合し、更に生後7週目に深麻酔下にて口髭部皮膚を同様に再切開縫合した再切開 (In-In) 群、生後7週目のみ切開縫合した成体期切開 (Sh-In) 群、縫合のみを行った sham 群を作製した。再切開縫合後14日目まで、口髭部皮膚における熱逃避潜時 (MHWL) 機械逃避閾値 (MHWT) を測定した。また、再切開縫合後14日目に、切開部投射 TG ニューロンにおける Nav1.8 および TNF $\alpha$  発現を解析した。再切開後14日目に、切開皮下部位に Nav1.8 阻害薬を投与し、MHWT を測定した。また、In-In 群に対し、再切開後14日目まで切開側 TG に CC chemokine receptor type2 (CCR2) 拮抗薬および選択的 TNF $\alpha$ 中和抗体を連日局所投与し、MHWT を測定した。また、CCR2 拮抗薬投与後14日目における CCR2 発現および 選択的 TNF $\alpha$ 中和抗体投与後中々日目における衛星細胞発現を解析した。Sh-In 群に対し、切開縫合後14日目まで、切開側 TG に CC chemokine ligand 2 (CCL2) および TNFTT を連日局所投与し、MHWT を測定した。成体期処置後14日目に、In-In 群および Sh-In 群における CCL2 および TNF $\alpha$ 産生量を解析した。In-In 群に対し、再切開後14日目まで切開側 TG に NF- $\kappa$ B 阻害薬を連日局所投与し、MHWT

を測定した。

### 結果および考察：

新生児期外傷に起因した成体期外傷後の熱および機械痛覚過敏が増強し、切開部投射 Nav1.8 陽性 TG ニューロン数および TNF $\alpha$ 免疫反応性を示す衛星細胞に囲まれる TG ニューロン数が増加した。また、切開部投射 TG ニューロンでの Nav1.8 と CC ケモカイン受容体 2 (CCR2) の共発現、CCL2 陽性マクロファージおよび衛星細胞の出現、さらに新生児期外傷により CCL2 および TNF $\alpha$ タンパク量の有意な増加を認めた。また、CCR2 拮抗薬、TNF $\alpha$ 中和抗体および NF- $\kappa$ B 阻害薬の切開側 TG 内投与により新生児期外傷に起因する痛覚過敏が抑制された。成体期のみ外傷を与えたモデルでの CCL2 および TNF $\alpha$ を切開側 TG への投与により、痛覚過敏の亢進が認められた。

以上から、新生児期外傷に起因する成体期外傷性疼痛増強には、切開部投射 TG ニューロンでの CCL2-NF- $\kappa$ B シグナルを介した Nav1.8 の発現増加および TNF $\alpha$ -NF- $\kappa$ B シグナルを介した一次侵害受容ニューロンの興奮性増大が関与することを見出した。

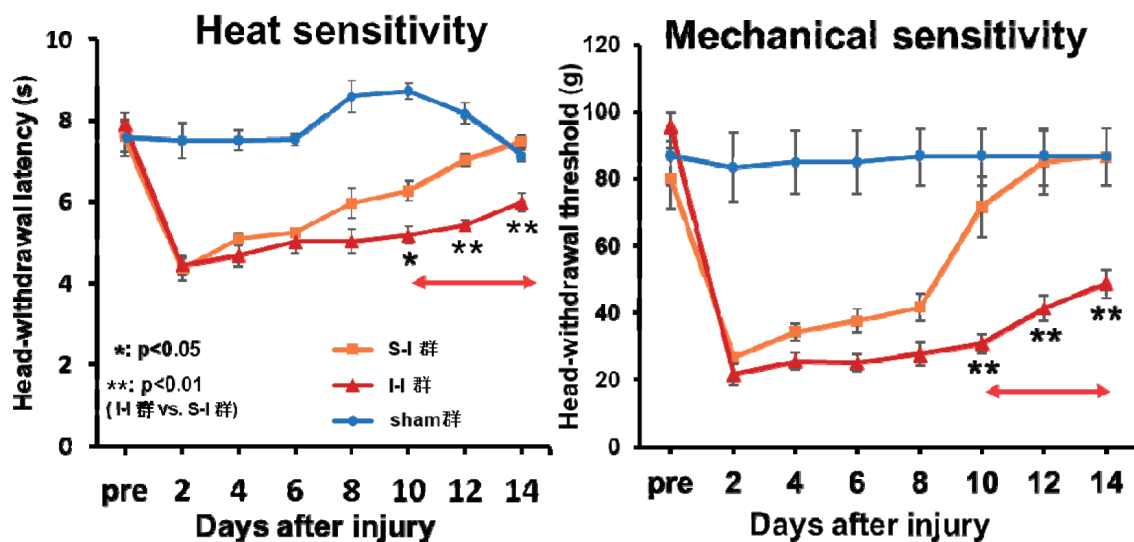


図 成体期外傷後の熱・機械刺激に対する逃避行動の経日変化

成果発表：(予定を含めて口頭発表、学術雑誌など)

学会発表

1. 第41回日本疼痛学会、2019年7月

新生児期ストレスによる口髭部皮膚切開痛の変調メカニズム：相馬久実, 篠田雅路, 白川哲夫, 岩田幸一

2. 第61回歯科基礎医学会学術大会、2019年10月

Enhancement of CCL2 signaling due to neonatal traumatic stress is involved in adult traumatic hypersensitivity：相馬久実, 篠田雅路, 白川哲夫, 岩田幸一

3. 第58回日本小児歯科学会大会、2020年5月(発表予定)

新生仔期外傷に起因するCCL2シグナルを介したNav1.8発現増強は成体期外傷後の機械アロディニアを亢進する：相馬久実, 白川哲夫

論文発表

1. Involvement of TNF $\alpha$  in the enhancement of hypersensitivity in the adulthood-injured face associated with facial injury in infancy. Soma K, Shinoda M, Hayashi Y, Kanno K, Shirakawa T, Iwata K. Neuroscience Research. in press
2. Properties of heat-sensitive neurons in the premotor cortex in awake behaving monkeys. Unno S, Shinoda M, Soma K, Kubo A, Sessle BJ, Matsui T, Ando M, Asaka J, Otsuki K, Yonemoto H, Sakanashi K, Iwata K. Journal of Oral Science. in press
3. Involvement of satellite cell activation via nitric oxide signaling in ectopic orofacial hypersensitivity (2020). Lee J, Ohara K, Shinoda M, Hayashi Y, Kubo A, Sugawara S, Asano S, Soma K, Kanno K, Ando M, Koyama R, Kimura Y, Sakanashi K, Iinuma T, Iwata K. International Journal of Molecular Science 21 (4)