

関野有紀 論文内容の要旨

主 論 文

Sensory hyperinnervation and increase in NGF, TRPV1 and P2X₃ expression in the epidermis following cast immobilization in rats

関節の不動に伴うラット皮膚の感覚神経密度の増加
ならびに表皮における NGF, TRPV1 および P2X₃ の発現増強

関野有紀, 中野治郎, 濱上陽平, 中願寺風香, 坂本淳哉,
吉村俊朗, 折口智樹, 沖田 実

European Journal of Pain (2013, in press)
(doi:10.1002/j.1532-2149.2013.00412.x)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員: 沖田 実 教授)

緒 言

近年, ギプス固定などによる四肢の一部の不動が慢性痛の発現因子になることが指摘されている。ラットを用いた先行研究によれば, 不動に伴う痛みの病態基盤には一次知覚神経における末梢性感作と脊髄レベルでの中枢性感作が存在することが示唆されているが, 我々はこれまでに脊髄後根神経節よりさらに末梢の皮膚組織において表皮の菲薄化や末梢神経密度の増加が生じることを報告している。神経線維の種類や増加のメカニズムについては未だ不明であるが, 末梢神経の増加には表皮の構成細胞であるケラチノサイトが産生する神経成長因子 (NGF) の増加が関与するとされている。また近年, 侵害刺激受容体が神経細胞のみならずケラチノサイトにおいても発現・機能していることが明らかとなり, 末梢における痛覚伝達系への関与が注目されている。そこで本研究では, 不動に伴い増加する末梢神経線維の種類と同定, 表皮における NGF ならびに代表的な侵害刺激受容体である TRPV1 および P2X₃ の発現変化について経時的に解析した。

対象と方法

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 60 匹を用い, 不動期間を 1・2・4 週に

設定した不動群 (n = 30) とそれぞれに週齢を合わせた対照群 (n = 30) に振り分けた。不動群は右足関節を最大底屈位でギプス固定した。不動期間中は、週 1 回の頻度で機械的刺激に対する痛み反応を von Frey filament (VFF) を用いて評価し、具体的には足底部に VFF で刺激 (4, 15 g ;各 10 回) を加えた際の逃避反応をカウントした。また、熱刺激に対する痛み反応の評価として足底部の熱痛覚閾値を測定した。各不動期間終了後、足底部中央の皮膚組織を採取し、以下の検索に供した。まず、A 線維、C 線維のマーカーとしてそれぞれ NF200, Peripherin を適用し、免疫組織化学的手法を用いて神経線維を可視化するとともに、神経線維の密度を半定量化した。さらに、NGF, TRPV1 および P2X₃ に対する蛍光免疫染色を行い、表皮における発現強度を半定量化した。

結 果

不動群の VFF 刺激に対する逃避反応回数は、4 g では不動 2 週より、15 g では不動 1 週より対照群に比べ有意に高値を示し、また、不動群の熱痛覚閾値は不動 4 週で対照群に比べ有意に低値を示し、これら痛みの行動学的変化は不動期間に準拠して顕著になった。組織学的解析の結果、不動群の A 線維の神経密度は不動 1 週より、C 線維のそれは不動 2 週より対照群に比べ有意に高値を示し、不動期間依存的に増加した。NGF の発現強度は不動 1 週より不動群が対照群に比べ有意に高値を示したが、その発現レベルは不動期間を通じて一定であった。また、TRPV1 および P2X₃ の発現強度はともに不動 2 週より不動群が対照群に比べ有意に高値を示し、不動期間依存的に増加した。

考 察

本研究の結果において、ラット足関節不動モデルの足底皮膚における感覚神経 (A 線維、C 線維) の増加と、表皮における NGF の発現増強が明らかになった。これは、感覚神経の側枝発芽や伸長にケラチノサイト由来 NGF の発現増強が関与している可能性を示唆している。また、表皮における TRPV1 および P2X₃ の発現増強が観察された。侵害刺激受容体が増加することは外部からの刺激を過剰に受容することを意味し、このことが不動モデルに認められる熱および機械的刺激に対する痛覚閾値低下の一要因になっていると推測される。末梢神経密度の増加や侵害刺激受容体の発現増強の程度は不動期間に準拠して顕著になり、痛みの行動学的変化と同様の推移を示したことから、不動に伴う痛みの発生に深く関与することが示唆された。