



Title	舌前方鼓索神経支配領域における一般体性感覚受容体の解明
Author(s)	岸上, 波輝
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/91836
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (岸上 波輝)	
論文題名	舌前方鼓索神経支配領域における一般体性感覚受容体の解明
論文内容の要旨 【研究背景と目的】 広義の味覚は、各種受容体の解明が進んでいる 5基本味（甘・塩・酸・苦・うま味）を中心に、その他の味覚（辛・渋味等）や嗅覚、そして一般体性感覚が複雑に絡み合った複合感覚として理解されているが、その詳細な機構については不明な点が多い。舌前方における一般体性感覚応答では、舌神経（三叉神経）が主たる支配神経として機能しているが、同部の味覚神経である鼓索神経にも温度や機械的刺激のみに応答する単一ニューロンが存在することが明らかとなった（Yokota Y and Bradley RM, Neuroscience 2017; 367:147-158）。舌神経とは別に、鼓索神経にも一般体性刺激に応答するニューロンが存在する意義についてはよく分かっていないが、複合感覚としての味覚を考えるうえでも興味深く、その詳細な分析は今後重要な知見になると考えている。 また、これまで“非選択性陽イオンチャネル”と電気生理学的に括られていた一群のチャネルが、<i>trp</i>遺伝子の同定によりTransient Receptor Potential (TRP) チャネルとして発表された（Montell C and Rubin GM, Neuron 1989）。これらTRPチャネルファミリーの多くが、センサーとしてさまざまな細胞外刺激の感知を行っていることが判明し、“物理刺激センサー”に関する実態が明らかとなってきた。その代表的なチャネルである TRPV1や TRPA1、TRPM8については、口腔内粘膜にも存在しており、疼痛センサーとしての機能などについて研究されているが、味覚とくに鼓索神経との関連性については不明のままである。 そこで本研究では、味覚神経である鼓索神経に存在する一般体性刺激応答ニューロンに着目し、前述のTRPチャネルがそれぞれどのような物理刺激センサーとして機能しているか、を明らかにする目的で in vivo環境での電気生理学的実験を行い、各チャネルの antagonist 投与前後におけるラット鼓索神経からの刺激応答変化について検討を行った。 【研究方法】 雌性SD系ラット（150-200g）を使用。ウレタン（1.5g/kg）の腹腔内投与による深麻酔下で実験を行った。左側鼓索神経を剖出し、記録用電極を用いて神経活動を記録した（whole nerve recording）。味覚物質による刺激応答にて、剖出した鼓索神経が良好な状態であることを確認後、舌前方に対して4℃の蒸留水による冷刺激、ヘアブラシによる擦過刺激を加え、各種 antagonist 投与前の神経活動をコントロールとして記録した。 続いて、以下の方法により各種薬剤（SB-366791: TRPV1のantagonist、HC-030031: TRPA1のantagonist、TRPM-8 antagonist 2: TRPM8のantagonist）を投与し、コントロール記録時と同様の冷刺激ならびに擦過刺激を舌前方に加え、神経活動を記録した。 実験1) 前方舌 舌背粘膜表面への局所投与；舌の前方牽引後、舌背表面に直径10mmのプラスチックリングを留置固定。同リング内に各チャネルの antagonist溶液（SB-366791: 1mg/4ml/kg, HC-030031: 10mg/4ml/kg, TRPM-8 antagonist 2: 1mg/4ml/kg）を留置して表面投与を行った。60分経過後、冷刺激・擦過刺激を加えて神経活動を記録。 実験2) 前方舌 舌背粘膜直下へのマイクロインジェクション；舌の前方牽引後、舌背粘膜直下に各チャネルの antagonist溶液（前述と同濃度）を50μl 注入した。インジェクション後、冷刺激・擦過刺激を加えて神経活動を記録。 実験3) 腹腔内投与；各チャネルの antagonist溶液（前述と同濃度）を腹腔内へ注入投与した。薬剤投与60分経過後、冷刺激・擦過刺激を加えて神経活動を記録。 実験4) 記録側（左側）舌動脈内への選択的動注投与方法による検討 左側外頸動脈を剖出してカテーテルを挿入。記録側の舌動脈へ薬剤が直接流入するよう、先端位置を調整し留置し	

た（インジゴカルミン溶液の注入により、舌動脈への選択的動注となっていることを確認）。カテーテルより、各チャンネルの antagonist 溶液 [a) SB-366791: 1mg/4ml/kg、b) HC-030031: 10mg/4ml/kg、c) TRPM-8 antagonist 2: 1mg/4ml/kg] を緩徐に注入投与。薬剤投与から10分経過後、前方舌へ冷刺激・擦過刺激を加えて神経活動を記録した。

【研究結果】

（実験1）粘膜表面への投与を1時間以上行っても、冷刺激や擦過刺激に対する応答変化を認めなかった。溶液濃度を上記の5～10倍とし、同様に表面投与を行ったが、1時間以上経過後でも刺激応答に変化を認めなかった。

（実験2）注入溶液による舌粘膜の膨隆を認め、1時間以上消失しなかった。その間、味覚刺激への反応を含めた全ての刺激応答が消失し、投与前後での比較検討は困難であった。

（実験3）腹腔内投与においても、antagonist 投与による影響は認められなかった。

（実験4）

a) SB-366791 (TRPV1 antagonist) の投与により、前方舌への擦過刺激に対する神経応答のみが有意に低下した。

b) HC-030031 (TRPA1 antagonist) の投与により、前方舌への擦過刺激、ならびに冷刺激に対する神経応答がともに有意な低下を示した。

c) TRPM-8 antagonist 2 (TRPM8 antagonist) の投与により、前方舌への冷刺激に対する神経応答のみが有意に低下した。

【考察】

対象部位への antagonist 表面投与法は、皮膚表層や他の粘膜表面などでは一般的であるものの、本研究における舌表面投与では良好な結果が得られなかった。舌神経の自由神経終末は舌粘膜上皮内に存在するが、鼓索神経の神経終末は舌粘膜上皮内には存在せず、味蕾の底部に位置している。そのため、鼓索神経におけるTRPチャンネルについても、舌乳頭や味蕾の表層上皮内ではなく、より深部組織に存在していることが考えられ、これにより十分な薬剤の浸潤効果が得られなかったものとする。

物理刺激センサーとしてのTRPチャンネルは非常に多様であり、同一のチャンネルであっても臓器間や種の違いにより、複数の機能を示すことが多い。一般的に、TRPV1はカプサイシンに代表される温熱刺激、TRPA1とTRPM8は中等～侵害性の冷刺激により活性化するとされているが、これらすべてのチャンネルは機械的な刺激による活性化についても報告されている。本研究では、鼓索神経支配領域である舌前方において、TRPV1は擦過刺激、TRPA1は冷・擦過刺激両方、TRPM8は冷刺激の受容体として機能していることが示唆された。ただし、応答が完全に消失しないことから、単一のチャンネルのみが受容体として機能している可能性は低いと考えられる。味蕾には他にも、TRPV3・TRPV4・TRPM5などの存在が確認されているため、これらのTRPチャンネルが複雑に絡みあい、物理刺激センサーとしての機能を果たしているものと推察される。

【結語】

舌前方鼓索神経支配領域における一般体性感覚の受容体として、TRPV1・TRPA1・TRPM8チャンネルがそれぞれ重要な働きをしていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (岸 上 波 輝)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	田中 晋
	副 査	教授	丹羽 均
	副 査	准教授	豊田 博紀
	副 査	講師	古田 貴寛
論文審査の結果の要旨 本研究は、舌前方鼓索神経支配領域への一般体性刺激に対して、TRP チャンネルが鼓索神経の神経応答にどのように関与しているかラットを用いて検討を行ったものである。 その結果、舌動脈内への TRPV1、TRPA1 ブロッカー投与により擦過刺激に対する神経応答が有意に低下し、TRPA1、TRPM8 ブロッカー投与により冷刺激に対する神経応答が有意な低下を示した。 この結果は、ラット舌前方鼓索神経支配領域において、冷覚受容体として TRPA1 と TRPM8 チャンネルが、触覚受容体として TRPV1 と TRPA1 チャンネルが機能していることを示唆するものであり、博士(歯学)の学位論文として価値のあるものと認める。			