

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	山本 克己
論文審査担当者	主 査 中山 淳 副 査 小泉 知展 ・ 石塚 修
論文題目	
Knockdown of TRPV2 channels in sensory neurons increases limb use and weight bearing but dose not affect spontaneous flinching behavior in a mouse model of bone cancer. (一次知覚神経の Transient Receptor Potential Vanilloid Subfamily 2 チャンネルのノックダウンは、マウス骨がんモデルにおける自発痛には影響せず、体動時痛のみを改善する)	
(論文の内容の要旨)	
<p>【背景と目的】骨がん痛には安静時の自発痛と、体動時に生じる痛み(体動時痛)があり、その機序は十分には解明されていない。がん性痛の中でも原発性や転移性の骨がん痛は、オピオイド抵抗性で難治性である。新たな骨がん痛の治療法を開発するためには、骨がん痛の機序解明が求められる。我々はこれまで Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)が骨がんの自発痛に関与するが、体動痛には関与しないことを報告した(Fuseya et al., Anesthesiology 2016)。一方、TRPV2 は、炎症性痛に関与するとされるが、骨がん痛については骨組織への存在も含めて、その関与は不明であった。そこで本研究の目的は、骨がん痛における TRPV2 の役割を明らかにすることである。</p> <p>【方法】雄性 C3H/HeJ マウス(20-25g)を使用した。(1)骨髄へ投射する腰部後根神経節ニューロン(DRG)を明らかにするために、逆行性神経トレーサーである Fluoro-Gold(FG)を左大腿骨骨髄内へ注入した。48 時間後に DRG を摘出し、TRPV1 と TRPV2 の抗体を用いて免疫染色し、骨髄に投射する TRPV1 と TRPV2 陽性 DRG の数と直径を計測した。(2) 大腿骨へ肉腫細胞を移植後、痛み行動を確認し、small interference RNA(siRNA)を 3 日間マウス腰髄腔内に投与し、DRG の TRPV2 遺伝子をノックダウンした。コントロール群に対しては scrambled control siRNA を投与した。自発痛の評価のために患肢を振り回す(flinch)回数を測定した。体動時痛を評価するために患肢の使い方(limb use)と体重のかけ方(weight bearing)を評価した。ウエスタンプロット法により、骨がん進展時の TRPV2 に対する siRNA の効果を確認した。</p> <p>【結果】(1)左大腿骨骨髄へ投射する TRPV2 と TRPV1 陽性 DRG ニューロンの割合はそれぞれ 22%と 21%であった。TRPV1 陽性細胞は主として小型ニューロン(<30 μm)であり、TRPV2 陽性細胞は中型ニューロン(30-40 μm)が多かった。(2)コントロール群では、肉腫細胞移植 13 日後には flinch 回数が増加し、limb use と weight bearing のスコアが悪化した。siRNA の投与により limb use と weight bearing のスコアが改善したが、flinch 回数は減少しなかった。(3) 骨がんの痛みが生じた 13 日後の DRG における TRPV2 の遺伝子の発現量に変化はなかったが、siRNA の三日間投与によりその発現量は有意に低下した。TRPV2 に対する siRNA の投与自体は、正常マウスの熱・機械刺激に対する痛みの潜時・閾値に影響を与えなかった。</p> <p>【考察】本研究から、骨髄内に投射する TRPV2 陽性 DRG が TRPV1 陽性 DRG とほぼ同数存在し、TRPV1 とは異なり、TRPV2 陽性細胞の多くは中型ニューロンであることが示された。TRPV2 は正常マウスの通常熱・機械的な痛みや、骨がん進展時の自発痛には関与しなかった。しかし、骨がんの増殖時には、骨髄内に投射する TRPV2 陽性 DRG が感作され、体動時痛が生じる可能性が示唆された。すなわち、骨がんにおいては、自発痛と体動時痛に関与する分子とそのメカニズムが異なり、前者には TRPV1 が、後者には TRPV2 が関与している可能性が示唆された。</p> <p>【結論】骨がん進展時の体動時痛には TRPV2 チャンネルが関与する。</p>	