

# 培養三叉神経細胞の機械刺激受容応答に対するリゾホスファチジン酸の影響

新岡 文治 [ 北海道医療大学歯学部口腔生物学系  
生理学分野 / 助教 ]

## 背景・目的

三叉神経痛は、メイクや洗顔等の日常動作がきっかけで、顔面の特定領域に発作的な激痛が生じる疾患である。患者の大部分は、三叉神経の走行路の一部が周辺の血管から圧迫(機械刺激)を受けていることが明らかにされている。三叉神経痛の治療は、外科的な微小血管減圧術が良好な結果を得ているが、薬物治療は、抗てんかん薬等を対症療法的に使用しているのが現状である。この背景には、神経の圧迫から症状の発現に至るメカニズムが殆どわかつていない事があげられる。本研究では、この発症メカニズムの一端を明らかにする事を目的とする。

## 内容・方法

### 【内容】

リゾホスファチジン酸( LPA )は、血管内皮細胞等の細胞で、機械刺激受容応答を亢進し、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  上昇を誘発する事が明らかとなっている。またLPAは、血漿や脳脊髄液中に存在し、さらに炎症等の病態時にその濃度が増加する事から、生理的・非生理的条件下で機械刺激受容応答の調節因子として作用することが示唆される。よってLPAは、神経圧迫部位で三叉神経細胞に作用し、その機械刺激感受性を亢進させることで、三叉神経痛の発症に関与していることが考えられる。本研究では、培養三叉神経細胞を用いて、LPAが三叉神経細胞の機械刺激感受性を亢進させるかについて  $\text{Ca}^{2+}$  变化を指標として検討する。

### 【方法】

ラットから三叉神経節を摘出し、酵素処理法により単離した後、カバーガラス上で培養する。この初代培養細胞に  $\text{Ca}^{2+}$  蛍光指示薬を導入し、機械刺激を負荷した条件下でLPAを適用し、その時に生じる蛍光強度変化を解析する。

## 結果・成果

本研究では、LPAが培養三叉神経細胞の機械刺激受容応答を更新させた結果  $\text{Ca}^{2+}$  応答を誘発するのか、またその  $\text{Ca}^{2+}$  応答はどのような性質であるのかについて検討を行った。培養三叉神経細胞に、機械刺激( 生理溶液の灌流刺激、0.5-2mL/min )を単独で適用した条件、並びにLPA( 0.3-3 $\mu\text{M}$  )を単独で適用した条件では、何れの場合も三叉神経細胞での  $\text{Ca}^{2+}$  応答は認められなかった。しかしながら、LPA存在下で機械刺激を適用した場合には、流れ刺激強度およびLPA濃度に依存した  $\text{Ca}^{2+}$  応答が認められた。この反応は、

マイクロモルオーダーのLPAが存在し、1 mL/min以上の流速が負荷された時に、有意な値を示した。この結果は、LPAが培養三叉神経細胞においても、機械刺激受容応答の調節因子として作用する事を示唆する。LPA存在下で水流刺激により反応した細胞の大部分は、反応開始から数分間持続的な  $\text{Ca}^{2+}$  応答を示した。

LPA存在下で水流刺激によって誘発された  $\text{Ca}^{2+}$  応答は、灌流溶液中の  $\text{Ca}^{2+}$  イオンを除去( 細胞外液の  $\text{Ca}^{2+}$  除去 )すると、反応を示す細胞数の割合は、LPA 3 $\mu\text{M}$  存在下、1mL/minで水流刺激を付加したコントロール実験と比較して有意に抑制された。一方、 $\text{Ca}^{2+}$  ポンプを阻害して細胞内ストアを枯渇させる作用を持つタブシガルギンは、 $\text{Ca}^{2+}$  応答に影響を与えたかった。これらのデータは、培養三叉神経細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  応答は、細胞外からの  $\text{Ca}^{2+}$  流入により誘発されていることを示唆する。

機械刺激に感受性を示す細胞の細胞膜上には、機械刺激受容チャネルの存在が示唆されている。機械刺激受容チャネルの阻害薬と言われるガドリニウムを適用すると、培養三叉神経細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  応答は、コントロールと比較して有意に抑制された。この結果から、 $\text{Ca}^{2+}$  イオンの流入は、細胞膜上の機械刺激受容チャネルを介したものである事が示唆された。

LPAは、血管内皮細胞や、水晶体上皮細胞等において機械刺激存在下で、一点から同心円状に反応が拡散する「  $\text{Ca}^{2+}$ -spot 」と呼ばれる特徴的な  $\text{Ca}^{2+}$  応答を誘発することが報告されている。本研究では、培養三叉神経細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  応答を CCD カメラを用いてビデオレートで高速観察した。その結果、培養三叉神経細胞においても  $\text{Ca}^{2+}$ -spot 様の反応が認められた。

本研究をまとめると、LPAは、血管内皮細胞や水晶体上皮細胞と同様に、培養三叉神経細胞においても、機械刺激感受性を調節し、その初期応答として  $\text{Ca}^{2+}$  上昇を誘発することが示唆された。また、その  $\text{Ca}^{2+}$  応答は、細胞膜上の機械刺激受容チャネルを介した  $\text{Ca}^{2+}$  流入により誘発され、 $\text{Ca}^{2+}$ -spot 様の反応パターンを示すことが示唆された。

## 今後の展望

現在LPAの作用部位として、数種類のLPA受容体が同定されている。そこで、本研究で認められた  $\text{Ca}^{2+}$  応答にLPA受容体が関与しているのかどうか、またどの種の受容体が関与しているのかについて明らかにする必要がある。更に、感覚神経細胞の機械刺激受容チャネルとして、transient receptor potential( TRP )の存在が報告されているため、培養三叉神経の機械刺激受容と  $\text{Ca}^{2+}$  応答に対するTRPの関与について、さらには、TRPとLPA受容部位との関連について明らかにする必要がある。