

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592994

研究課題名(和文)唐辛子辛味成分カプサイシン受容体の遺伝子多型と口腔疼痛症候との関連

研究課題名(英文) Transient receptor potential channel polymorphisms are associated with oral capsaicin perception and expression of burning mouth syndrome

研究代表者

吉住 潤子 (YOSHIZUMI, junko)

九州大学・歯学研究科(研究院)・研究員

研究者番号：40596376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：近年口腔粘膜に器質的变化を認めないにもかかわらず持続的な痛みを訴える Burning Mouth syndrome (BMS) といわれる患者が増加している。患者の訴えは唐辛子を食べた時の感覚に似ているのではないかと考え、BMS と唐辛子の辛味成分であるカプサイシンの受容体：TRPV1 との関連を調べた。また TRPV1 の SNP を調べたところ、BMS 発症や痛み感受性の個人差に關与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Burning mouth syndrome (BMS) is known as an idiopathic chronic oral mucosal pain with no identifiable causative lesions. Patients complain of burning pain in oral mucosa, reminiscent of the feeling of having hot chili in the mouth. Capsaicin, the ingredient of hot chili, is known to activate transient receptor potential vanilloid 1 channels (TRPV1). We explored the frequency of TRPV1 single nucleotide polymorphisms (SNP) and their impact on sensory properties in the oral cavity. The genotype frequency of the SNP (rs8065080) showed significant difference between healthy controls and BMS patients. Interestingly, among the BMS patients, the clinical data: VAS score of their pain intensity and disease duration was significantly different between genotypes. Additionally, capsaicin solution perception were found to be different among the healthy controls. These results might suggest that TRPV1 contribute to the genetic susceptibility to BMS.

研究分野：口腔外科学

キーワード：TRPV1 Burning Mouth syndrome SNPs

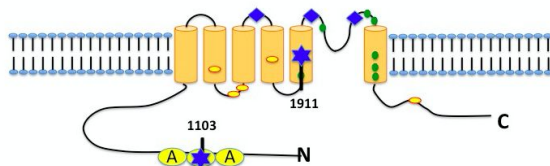
1. 研究開始当初の背景

歯科を訪れる患者の多くは痛みを主訴としている。口腔顎顔面領域は、感覚が非常に鋭敏である事が知られており、痛みの訴えは多様である。そのなかで近年口腔粘膜に器質的な変化を認められないにもかかわらず持続的な痛みや不快感を訴える Burning Mouth syndrome 以下 BMS といわれる患者が増加しているが、臨床所見と自覚症状が乖離していることもあり、病態の把握が難しいため診断、治療に苦慮している。

国際疼痛学会：IASP によると BMS は歯痛、顎関節症、三叉神経痛などとならびその克服は大きな課題とされており、これまで心因性、ホルモン異常などの様々な病因が報告されているが、近年では神経障害性疼痛とする報告も増えてきている。

BMS 患者の訴えは特徴的なもので、そのうちひりひり、ぴりぴりとした灼けるような自発痛であること、辛味や温熱刺激により症状が増悪する事、冷やすと軽減する事などは唐辛子を食べた時の感覚に似ているのではないかと考え、BMS と唐辛子の辛味成分であるカプサイシンの受容体である Transient Receptor Potential channel-Vanilloid subfamily member 1：TRPV1 との関連を調べる事を目的とした。

さらに TRPV1 の一遺伝子多型：Single Nucleotide Polymorphism：SNP のうち、チャネル活性との関与が示唆されている rs222747：TRPV1 1103 C>G Met 315 Ile、小児喘息の発作頻度や関節炎の痛みの増悪との関連が示唆されている rs8065080：TRPV1 1911 A>G Ile 585 Val、の二つに着目し、TRPV1 と BMS の症候との関連を調べ、それらが診断法及び治療薬の開発に寄与する可能性を調べた。



2. 研究の目的

- 1) 健常者の口腔粘膜における TRPV1 の発現を確認する。
- 2) 健常者における TRPV1 の SNP とカプサイシン感受性、味覚との関連を調べる。
- 3) BMS 患者群と健常群を比較し、疾患の発症および症候との関連を調べる。

3. 研究の方法

(1) 始めに健常者の口腔粘膜における TRPV1 の発現を調べた。材料は口腔外科外来において智歯抜歯や小手術などの際に便宜的、治療目的に切除した粘膜の余剰正常粘膜とし、ヒト口腔粘膜における TRP チャネルの発現を確認するため m-RNA 発現の確認、

タンパクレベルでの発現及び分布を調べた。
(2)次に健常群、患者群の TRPV1 SNP 解析を行った。健常対照群は 20 歳代から 60 歳までの健康な被検者 461 名 平均年齢は 24.5 歳、女性は 41.7%であった。

患者群は IASP の診断基準を満たす BMS 患者 106 人とした。60 歳代を中心に 9 割が女性であった。カルテより抽出した初診時の疼痛強度を示した VAS 値および初診までの病悩期間、初診時の他の神経症状の有無なども調べた。DNA の抽出に際しては口腔粘膜を擦過して非侵襲的に組織を採取し、Taqman プローブにより解析を行った。2 つの TRPV1 の遺伝子多型 (rs222747, rs8065080) について、健常群、患者群、そして Hap Map データベースの JPT:日本人および CEU:白人と比較した。

(3)刺激感受性を調べるため健常群に対し、カプサイシン刺激試験、電気味覚試験を行い、SNP との関連を調べた。

カプサイシン刺激試験では被検者は試験開始前 2 時間の飲食、当日の刺激物摂取をさせた。カプサイシン 1mg を 50%エタノール 1ml に溶解させ、1000ppm のカプサイシン溶液を作成し、これを希釈して溶液を作成して試験試薬とした。30 μ l の溶液をろ紙に浸して使用した。はじめに温度、機械的な刺激の感覚を排除するために、純水を浸したろ紙から開始し、その後最も濃度の低い溶液から試験を始めた。TRPV1 は繰り返し刺激に対して脱感作をすることが知られていることから、左右交互に刺激部位が重ならないように、また舌の前方 2cm より後方に置いた。刺激は 30 秒間とし、次の試験までの間隔は 1 分として間で純水による含嗽を十分行った。

それぞれの被験者に対し、溶液を感知できる最低濃度：閾値を調べるとともに、それぞれの濃度で感じた刺激を Visual Analog Scale：VAS にて 1 から 10 で評価した。

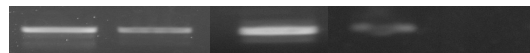
味覚との関連を調べるため、電気味覚検査を行った。測定は舌尖より 2 センチ後方の左舌縁と左有郭乳頭上の 2 カ所とし、3 回測定して平均値を使用した。

- (4) 健常群、患者群の食嗜好をアンケートの形で調べた。食嗜好とくに TRP チャネル群の活性化刺激を含むスパイス、温度などの食習慣に与える影響を知るために、項目を設定した。
- (5)二つの SNP の相互関連を調べた。

4. 研究成果

(1)RT-PCR により口蓋粘膜、頬粘膜、歯肉、口唇粘膜に TRPV1 m-RNA 発現を確認した。

口蓋 頬粘膜 歯肉 口唇 NT



また健常人より採取した歯肉の免疫染色を行ったところ、顆粒層から棘層にかけて、

TRPV1 陽性の細胞が散在して認められ、発現の強い細胞が連続していた。蛍光抗体法では、上皮下から上皮内へと進入する微細な TRPV1 陽性神経を認め TRPV1 のヒト口腔粘膜上皮および上皮内の神経における発現を確認した。

(2)TRPV1 遺伝子解析 対象群及び患者群

| | 健常群 | 患者群 |
|--------------|------------|------------|
| 人数 | 461 | 113 |
| 年齢 | 24.5 ± 6.0 | 66.0 ± 9.2 |
| 女性(%) | 41.7 | 84.9 |
| 疼痛強度(VAS:mm) | | 44.9±31.6 |
| 病悩期間(月) | | 48.6±47.9 |

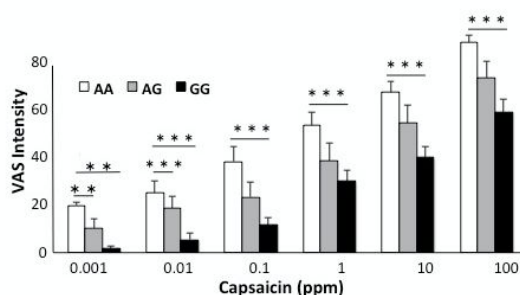
健常群と患者群において、2つのSNPの頻度を比較した。rs222747の多型解析(1103CC / 1103CG / 1103GG)では、有意差を認めなかった。

rs8065080の多型解析(1911AA / 1911AG / 1911GG)では健常群に比べ、患者群では有意に1911Aアレルを持つ頻度が高い事がわかった。

(3)遺伝子多型と臨床症状との関連を調べたところ、rs222747では、遺伝子多型間で初診時の疼痛強度に有意差があった。rs8065080では初診までの病悩期間および初診時の疼痛強度において有意差があり、臨床症状と遺伝子多型間に関連があることがわかった。

(4)健常群におけるカプサイシン感知閾値を遺伝子多型間で比較した。rs222747の多型解析では、全ての濃度で1103CC群のVASが最も高く、1103GGが低く、1103CGが中間値を示しているが、1ppmでのみ有意な差を認めた。

rs8065080における比較では全ての濃度において1911AA群で有意にVAS値が高い事がわかった。最も低い濃度では、1911AA群ではほとんどの被験者が感知できたのに対し、1911GG群ではわずかしき感知できなかった。以上より1911Aアレルが口腔内におけるカプサイシン感知閾値および感受性に関連がある事がわかった。



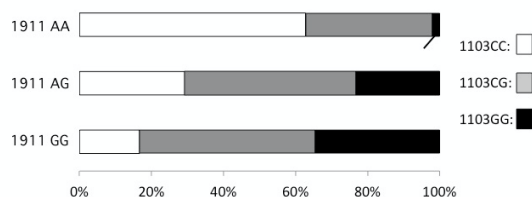
次に電気味覚と遺伝子多型の関連を調べた。

男女間の比較では、これまでの報告と同様、男女間の閾値に有意な差を認めた。

rs222747の比較では各群間に有意差はなかった。

rs8065080の比較では1911AAと1911GG間で閾値の有意差を認め、1911Aアレルが電気味覚閾値に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

また二つの遺伝子多型の相互関連を調べたところ、1911AAと1103CCアレルを同時に有することはほとんどなく、以下のように関連がある事がわかり、遺伝学上興味深い結果となっている。



(5)食志向のアンケートでは、興味深い事にTRPV1のアゴニストでチャネルを活性化するとされる唐辛子、黒こしょう、にんにくはBMS患者に好まれない事がわかった。何らかの理由でTRPV1が活性化しやすい状況になっていて、その結果これらの摂取により痛みが増すのではないかと考えられた。

以上の結果よりrs8065080は、BMS発症や痛み感受性の個人差に関与し、カプサイシン刺激感知閾値および電気味覚閾値に影響を及ぼす事がわかった。よってrs8065080はBMSの診断に利用できる可能性があるのではないかと考えられる。またTRPV1がBMS治療の創薬ターゲットの一つになり得る事が示唆された。

以上の結果を現在投稿中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計 3件)

第66回 日本口腔科学会 2012年5月17-18日 広島

吉住潤子、大山順子、合島 怜央奈、森悦秀、城戸瑞穂

「ヒト口腔粘膜におけるTRPV1チャネルの発現とSNP解析」

第67回 日本口腔科学会 2013年5月23-24日 宇都宮

吉住潤子、大山順子、合島 怜央奈、森悦秀、豊福明、城戸瑞穂

「唐辛子辛味成分カプサイシン受容体TRPV1の遺伝子多型と口腔疼痛症候との

関連」

第 55 回 歯科基礎医学会 2013 年 9 月
20-23 日 岡山

吉住潤子、宇都宮怜子、合島怜央奈、木
附智子、城戸瑞穂

「カプサイシン受容体 TRPV1 の遺伝子
多型と口腔痛み感覚」

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

吉住 潤子 (YOSHI ZUMI junko)
福岡歯科大学 医員
九州大学歯学研究院・共同研究員
研究者番号：40596376

(2) 研究分担者

城戸 瑞穂 (KIDO A mizuho)
佐賀大学・大学院医学部医学科・教授
研究者番号：60253457

(3) 研究分担者

大山 順子 (OYAMA yukiko)
九州大学歯学研究院・助教
研究者番号：70294957