

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K09810

研究課題名(和文) 舌味覚神経における一般体性感覚レセプターの解明

研究課題名(英文) A study of somatosensory receptors at the periphery of the taste system

研究代表者

横田 祐介 (YOKOTA, Yusuke)

大阪大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：10448128

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、味覚神経における一般体性感覚レセプターを解明することである。舌の味覚神経である鼓索神経は、触・圧・冷刺激などの一般体性刺激にも応答し、機械的刺激にのみ応答する単一ニューロンをもつことが報告されている。またラット膝神経節ニューロンでは、TRPV1・TRPA1・TRPM8チャンネルの発現が認められており、鼓索神経が物理刺激センサーとしても重要な機能を果たしていると考えられる。そこでラットを用いたin vivo実験により、各種チャンネルブロッカーを投与した結果、TRPV1・TRPA1・TRPM8チャンネルのそれぞれが、冷覚受容体および触覚受容体として複合的に機能していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広義の味覚は、各種レセプター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(辛・渋味等)、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ものの、その詳細は未だ不明な点が多い。舌前方における一般体性感覚の主たる支配神経は三叉神経(舌神経)であるが、同部の味覚を司る鼓索神経にも温度および機械的刺激に応答する単一ニューロンが存在している。これらのニューロンは長年あまり重要視されてこなかったが、味覚に影響を与える重要な因子である可能性があり、その解明は今後の有用な知見になり得ると考える。

研究成果の概要(英文)：Chorda tympani nerve (CT) fibers have cell bodies in the geniculate ganglion and respond to taste stimuli of anterior tongue. However, CT has also been known to be involved in somatosensory perception such as temperature and touch sensation. In addition, expressions of TRPV1, TRPA1, and TRPM8 channels have been reported in rat geniculate ganglion neurons, which would suggest that CT has also other functions like mechano-sensor. In present study, we applied each channel blockers to the lingual artery of rat in vivo.

Cold and tactile stimuli were applied to the anterior tongue, and action potentials were recorded from CT. TRP channel blockers were selectively injected to the lingual artery with intra-arterial administration, then the thermal and mechanical stimuli were applied again. Our findings suggest that TRPA1 and TRPM8 channels on rat tongue dorsum play a role in CT thermal responses, and TRPV1 and TRPA1 channels play a role in CT tactile responses, respectively.

研究分野：外科系歯学

キーワード：鼓索神経 体性感覚レセプター 味覚 TRPチャンネル 舌動脈

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

味覚研究は古くから多くの研究者により多岐分野で行われており、その末梢・中枢レベルでの解析が飛躍的に進んでいるものの、多くのことが未だに解明されていない興味深い分野である。近年、新しい抗がん剤の研究・開発が進み、多くの新薬が使用されるようになったが、それらの中には味覚障害を必発する薬剤も存在し、今後も味覚システムに関する更なる解明が重要になると考えられる。味覚は5基本味(甘・塩・酸・苦・うま味)を中心に、辛味・渋味、嗅覚、そして触覚・温度覚といった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。舌前方の味覚神経である鼓索神経は、甘・塩・酸・苦・うま味といった味刺激のみならず、触・圧・温・冷刺激にも反応を示すことが報告されている。これらのニューロンは長年あまり重要視されてこなかったが、味覚に影響を与える重要な因子である可能性があり、その解明は今後の有用な知見になり得ると考える。

2. 研究の目的

本研究の目的は、味覚神経における一般体性感覚レセプターを解明することである。舌の味覚神経である鼓索神経および舌咽神経は、味覚刺激のみだけでなく触・圧・冷刺激などの一般体性刺激にも応答し、かつこれら物理的的刺激にのみ応答する単一ニューロンの存在が報告されている(Yokota and Bradley, 2016 and 2017)。しかし、味覚神経における一般体性感覚ニューロンについてはその詳細が分かっておらず、複合感覚としての味覚を解明するためにもより詳細な解析が必要であると考えられる。

またラット膝神経節ニューロンでは、TRPチャンネルファミリーに属するTRPV1, TRPA1, そしてTRPM8チャンネルの発現が認められており(Katsura et al. 2006)、鼓索神経が物理刺激センサーとしても重要な機能を果たしていると考えられる。これらの解析には、チャンネルブロッカーを用いたin vivoにおける実験が必須となるが、味蕾を取り囲む特殊な障壁により、局所への表面投与やマイクロインジェクション、そして腹腔内投与方法などによる検証が困難であった。そこで本研究では、ラット舌動脈内への選択的動注によってチャンネルブロッカーを投与し、TRPV1, TRPA1, そしてTRPM8チャンネルが一般体性感覚受容体としてどのように関与しているかについて検討を行った。

3. 研究の方法

実験には、雌性成獣SD系ラット(体重150-200g)を用いた。3種混合腹腔内麻酔(ミタゾラム2mg/kg, メドミジン0.15mg/kg, プトルファンール2.5mg/kg)の初回導入および適宜追加投与により、十分な深麻酔状態で実験を実施した。温熱パッド上で専用ヘッドホルダーを用いてラットを固定し、舌前方への味覚や温度刺激(冷蒸留水: 4℃)による気道閉塞を防ぐため、あらかじめ気管切開およびカニューレーションを行った。その後、同切開部位よりオトガイ周囲へ剥離を進め、両側の顎二腹筋前腹およびその下方に存在する舌下神経を明示。舌運動による神経活動記録障害を防止するため、両側の舌下神経は切断した。鼓索神経の剖出は側方からのアプローチで行い、皮膚切開および咬筋切除後、頬骨弓を切断。下顎頭の牽引により下顎骨内側を明示し、鼓索神経を剖出した。中枢側で切断後sheathを除去し、記録用電極を用いて神経活動を記録した(whole nerve recording, Kumari and Yokota et al. 2018)。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、前方舌に対して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，ブロッカー投与前の神経活動をコントロールとして記録した．その後，剖出した外頸動脈へ順行性に留置したカテーテル内へ，緩徐に各種薬剤投与を行った．はじめにインジゴカルミンの緩徐注入を行い，左側舌が暗紫色に染色されることを視認，カテーテル先端が左側舌動脈分岐部へ適切に留置されていることを確認した．次いで各チャンネルブロッカー溶液（TRPV1 のアンタゴニスト：SB-366791，TRPA1 のアンタゴニスト：HC-030031，TRPM8 のアンタゴニスト：TRPM-8 antagonist 2）を緩徐に注入投与．動脈内投与 10 分後，鼓索神経からの神経活動記録が安定していることを確認し，再度味刺激，冷刺激，そして擦過刺激をそれぞれ加えて神経応答を記録・検証した．

4 . 研究成果

TRPV1 のブロッカーである SB-366791 投与前，投与 10 分後に各刺激に対して得られた積分応答を解析した結果，冷刺激に対する Mean Response Units はブロッカー投与前後で有意差を認めなかった（投与前 $2.82 \pm 0.50 \text{mV.s}$ ，投与 10 分後 $2.7 \pm 0.51 \text{mV.s}$ ， $t(3)=0.70$ ， $P=0.268$ ，Paired t -test)．一方，擦過刺激における Mean Response Units は，TRPV1 チャンネルブロッカーの投与により有意に低下した（投与前 $0.10 \pm 0.01 \text{mV.s}$ ，投与 10 分後 $0.05 \pm 0.01 \text{mV.s}$ ， $t(3)=2.37$ ， $P=0.049$ ，Paired t -test)．

TRPA1 のブロッカーである HC-030031 投与前，投与 10 分後に各刺激に対して得られた積分応答を解析した結果，冷刺激および擦過刺激における Mean Response Units は，TRPA1 チャンネルブロッカーの投与によりそれぞれ有意な低下を示した（Cold: 投与前 $5.70 \pm 0.59 \text{mV.s}$ ，投与 10 分後 $2.54 \pm 0.35 \text{mV.s}$ ， $t(3)=3.81$ ， $P=0.015$ ，Paired t -test）（Tactile: 投与前 $0.31 \pm 0.09 \text{mV.s}$ ，投与 10 分後 $0.15 \pm 0.03 \text{mV.s}$ ， $t(3)=2.55$ ， $P=0.041$ ，Paired t -test)．

TRPM8 のブロッカーである TRPM-8 antagonist 2 投与前，投与 10 分後に各刺激に対して得られた積分応答を解析した結果，擦過刺激に対する Mean Response Units は，ブロッカー投与前後で有意差を認めなかった（投与前 $0.30 \pm 0.04 \text{mV.s}$ ，投与 10 分後 $0.28 \pm 0.05 \text{mV.s}$ ， $t(4)=0.80$ ， $P=0.233$ ，Paired t -test)．一方，冷刺激における Mean Response Units は，TRPM8 チャンネルブロッカーの投与により有意に低下した（投与前 $11.69 \pm 1.88 \text{mV.s}$ ，投与 10 分後 $6.68 \pm 2.13 \text{mV.s}$ ， $t(4)=3.10$ ， $P=0.018$ ，Paired t -test)．

上記の結果より，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 チャンネルが複合的に機能していることが示唆された．また，味蕾ならびに茸状乳頭に存在するその他のイオンチャンネルについても刺激センサーとして機能している可能性があり，ラット鼓索神経支配領域における一般体性感覚については，複数の受容体チャンネルが複雑に関与している可能性が示唆された．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Namiki Kishigami, Karen Yamauchi, Susumu Tanaka, Yusuke Yokota
2. 発表標題 Somatosensory Receptors of Rat Chorda Tympani Geniculate Ganglion Neurons
3. 学会等名 Oral Neuroscience 2022 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岸上波輝, 山内かれん, 趙正秀, 阪本勝也, 藤本愉莉, 磯村恵美子, 田中晋, 横田祐介
2. 発表標題 ラット舌動脈への選択的動注投与法による鼓索神経一般体性感覚レセプターの解明
3. 学会等名 第26回 口腔顔面神経機能学会総会・学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岸上波輝, 山内かれん, 田中晋, 横田祐介
2. 発表標題 ラット舌動脈への選択的動注投与法による鼓索神経一般体性感覚レセプターの解明
3. 学会等名 第77回 日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

第26回 口腔顔面神経機能学会総会・学術大会において、最優秀学会賞を受賞。
「ラット舌動脈への選択的動注投与法による鼓索神経一般体性感覚レセプターの解明」

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------