

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 後藤 大地

本研究は、自ら痛みを訴えることが難しい患者の創部痛評価のため、創部痛の発生と知覚を反映する滲出液バイオマーカーの開発を目指した研究である。学位申請者はバイオマーカーの候補となる物質を同定することを目的とし、全層欠損創モデルラットを用いて実験を行った。まず、同モデルの創傷部における機械的痛覚閾値を測定する方法を確立するための実験を行った。続いて、創部痛の知覚を反映すると考えられる副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) を創傷部に局所作用させる系において、機械的痛覚閾値の変化を観察した実験を行い、以下の結果を得ている。

1. 全層欠損創モデルラットの創傷部における機械的痛覚閾値を測定する方法を確立するため、von Frey test (VFT) の全層欠損創モデルラットへの適応可能性を確認した。VFT が、創傷作製後 3 日目と 5 日目の機械的痛覚閾値の違い、モルヒネ塩酸塩投与による機械的痛覚閾値の上昇、インドメタシン投与による機械的痛覚閾値の上昇、 λ -カラギーナン投与による機械的痛覚閾値の低下を検出可能であることを確認した。この結果より、VFT が全層欠損創モデルラットの創傷部における機械的痛覚閾値を測定する方法として使用可能であることを示した。
2. ACTH を全層欠損創モデルラットの創傷部局所に投与すると、コントロール群と比較し投与後 2～6 時間にかけて機械的痛覚閾値が有意に低下することが明らかになった。この結果より、同モデルラットがストレスを受けると創部局所において機械的痛覚過敏を生じるメカニズム (ACTH 誘導機械的痛覚過敏) が存在することが示唆された。
3. 上記で明らかにした ACTH 誘導機械的痛覚過敏に関連するイオンチャンネルを同定するため、TRPV1、TRPA1、TRPV4、ASIC3 のアンタゴニストをそれぞれ前投与した上で ACTH を作用させたところ、全ての群で ACTH 誘導機械的痛覚過敏が阻害される結果を得た。特に、TRPV4 アンタゴニスト投与群においてその効果が最も大きいことから、同イオンチャンネルが ACTH 誘導機械的痛覚過敏に最も関連することが示唆された。
4. ACTH を全層欠損創モデルラットの創傷部局所に投与し、機械的痛覚過敏が最も強く観察された ACTH 投与後 4 時間で創部の肉芽組織における CYP スーパーファミリーの mRNA の発現をリアルタイム RT-PCR で確認した。結果として、コントロール群と比

較して ACTH 投与群で *Cyp2b12* が有意に発現上昇していることが明らかとなった。この結果より CYP2B12 が関連するアラキドン酸カスケードが ACTH 誘導機械的痛覚過敏に関連していることが示唆された。

5. 4.と同様の系で CYP2B12 によるアラキドン酸の代謝産物であり、TRPV4 のアゴニストである 5,6-EET の滲出液中の濃度を LC/MS/MS 法で測定し機械的痛覚閾値と比較したところ、中程度の相関を示すことを明らかにした。この結果より、5,6-EET が創部痛の発生と知覚を反映する滲出液バイオマーカーを開発するために最も着目すべき物質であることが示唆された。

以上、本論文は全層欠損創モデルラットを用いて ACTH が創部局所において機械的痛覚過敏を誘導することを初めて明らかにし、その現象には TRPV4 とそのアゴニストである 5,6-EET が関与している可能性を示唆した。ACTH が痛覚過敏を誘導する現象はこれまでに報告がなく、今後の研究でこのメカニズムを解明することで、創部痛の発生と知覚を反映するバイオマーカーの開発に重要な貢献をなすと考えられる。以上の理由より、本申請は学位の授与に値するものと考えられる。