

## 骨格筋神経における非活動性侵害受容器の組織学的発現解析

菊地貴矢<sup>1)</sup>、太田大樹<sup>2)3)</sup>、平澤孝枝<sup>4)</sup>、田口徹<sup>2)3)</sup>

1) 帝京大学大学院 医療技術学研究科 柔道整復学専攻

2) 新潟医療福祉大学 リハビリテーション学部 理学療法学科

3) 新潟医療福祉大学 運動機能医学研究所

4) 帝京大学 理工学部 バイオサイエンス学科

【背景・目的】 骨格筋由来の痛み(骨格筋疼痛)は極めて高頻度で慢性化しやすい病態であり、多くの日本人を悩ませているとともに、我が国の医療費をひっ迫する一因となっている。骨格筋疼痛の病態機構解明と治療に向けた基礎研究が急務である。我々は以上のような骨格筋疼痛研究の重要性をいち早く認識し、骨格筋侵害受容器の研究を進めてきた。この中で、正常時は侵害刺激に対し非感受性だが、病態時にはじめて感受性を獲得する「非活動性侵害受容器」が骨格筋侵害受容器に存在し、病態時の痛覚過敏に寄与する可能性に着目した。しかしこれまで、骨格筋侵害受容器においてその実態は不明である。

近年、非活動性侵害受容器の特異的因子として、ニコチン性アセチルコリン受容体 $\alpha 3$  (nicotinic acetylcholine receptor subunit  $\alpha 3$ ; CHRNA3) の存在が培養細胞において実証され、痛み研究分野においてその役割が注目されている<sup>1)</sup>。しかし、骨格筋支配神経に発現するか、その細胞の特徴は未だ不明である。

そこで本研究では、CHRNA3陽性ニューロンが骨格筋支配神経にも発現するか免疫組織化学的手法により解析した。

【方法】 Sprague-Dawley (SD) ラットの左側腓腹筋4か所それぞれに、逆行性トレーサーDiI 20  $\mu$ Lを注入した。投与7日後にペントバルビタールナトリウムの腹腔投与によりラットを安楽殺させた後、第3~5 (L3~5) レベルの後根神経節(DRG)を摘出し、未固定のまま凍結組織標本を作製した。クライオスタットにて20  $\mu$ m 厚の薄切片を作成後、抗CHRNA3抗体を反応させ、DiI陽性ニューロンとの共発現レベルを共焦点レーザー顕微鏡にて観察し定量化した。なお、本研究は新潟医療福祉大学動物実験委員会ならびに帝京大学動物実験委員会の承認を受け、関連する利益相反はない。

【結果・考察】 CHRNA3陽性細胞の一部においてDiI陽性細胞が確認された(図1)。一方、CHRNA3陰性のDiI陽性細胞も確認され、腓腹筋を支配するDRGニューロンではCHRNA3を発現する細胞としない細胞が存在することがわかった。今後は骨格筋支配求心性神経に占めるCHRNA3陽性神経の割合を定量化する予定である。

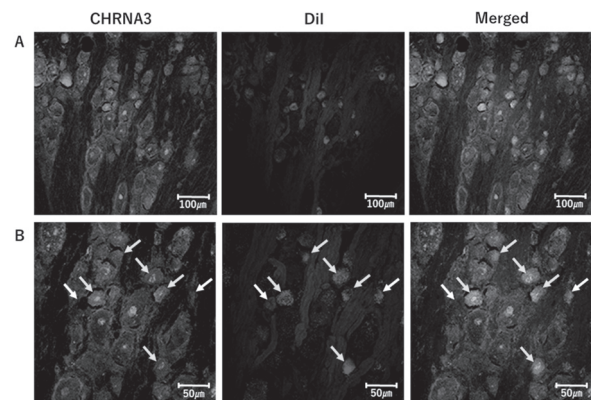


図1 CHRNA3陽性細胞とDiI陽性細胞の発現例

第4腰髄(L4)レベルのDRGの共焦点レーザー顕微鏡観察像。抗CHRNA3抗体を緑、DiIを赤で示す。

A: CHRNA3, DiI, 重ね合わせ(低倍率)、B: CHRNA3, DiI, 重ね合わせ(高倍率)。黄矢印はCHRNA3陽性/DiI陽性細胞、白矢印はCHRNA3陰性/DiI陽性細胞を示す。

【謝辞】 本研究は、科研費若手研究(18K17687)、新潟医療福祉大学研究奨励金Bの助成を受けて行った。

### 【文献】

1) Prato V: Functional and Molecular Characterization of Mechanoinsensitive “Silent” Nociceptors. Cell Rep, 21(11): 3102-3115, 2017.