

Alarcón-Alarcón D, et al. TRPM8 contributes to sex dimorphism by promoting recovery of normal sensitivity in a mouse model of chronic migraine. *Nat Commun* 2022;13:6304.

**【背景・目的】**慢性片頭痛（CM）の有病率は約 1%と推定され、生活支障度の高い疾患である。CM の症状は女性の方が男性より重度であるが、そのような性差がなぜ生じているかは不明である。ヒトおよびげっ歯類にニトログリセリンを急性投与することで機械的刺激に対する遅発性過敏が誘導される。さらにマウスにニトログリセリンを繰り返し投与することで数週間持続する慢性過敏を誘導して慢性片頭痛モデルが作成可能である。ニトログリセリンによる機械的刺激に対する過敏性発現には TRPA1 (transient receptor potential cation channel A1)と呼ばれるカチオン・チャンネルの作用が重要である。TRPA1 の機能上昇は CGRP 放出を促進する。また、TRPM8 (transient receptor potential cation channel M8)はゲノムワイド関連解析の結果から片頭痛発症との関連性が指摘されており、特に片頭痛慢性化に関与すると報告されている。TRPM8 は寒冷刺激やメントールで活性化されるが、テストステロンの受容体として作用することも知られている。本研究では TRPM8 に対するテストステロンの作用が侵害受容に与える影響を解析し、さらにニトログリセリン誘導性 CM モデルの病態における関与を検討している。

**【方法・結果】**C57BL/6J マウスに 10 mg/kg のニトログリセリンを 2 日ごとに 5 回投与することで CM モデルを作成した。三叉神経領域の機械的刺激に対する過敏性は von Frey フィラメントによって評価した。ニトログリセリン投与によって機械的刺激に対する過敏性が観察されたが、オスではニトログリセリン投与終了後 8 日には閾値がベースラインへと回復していたが、メスでは投与終了後 10 日においても過敏性は持続していた。ニトログリセリンに誘導される過敏性は、オスおよびメスの TRPA1 ノックアウトマウスでは観察されなかったことから TRPA1 の作用が必須と考えられた。また、ニトログリセリンは三叉神経節ニューロンの TRPA1 mRNA 発現量を上昇させた。培養三叉神経節ニューロンに AITC という TRPA1 アゴニストである AITC を作用させると小型～中型ニューロンで細胞内カルシウム上昇が生じたが、この反応はニトログリセリン投与によって増強された。一方、TRPA1 ノックアウトマウス由来の三叉神経節ニューロンではニトログリセリン曝露後の AITC 投与によるカルシウム上昇は抑制された。なお、ヒト由来の細胞である HEK293 細胞に TRPA1 を発現させてニトログリセリン曝露を行っても AITC 投与後のカルシウム上昇の増強は確認されたため、この作用は種を超えて観察される現象と考えられた。さらに、三叉神経節ニューロンにニトログリセリンを投与すると  $\alpha$ CGRP が放出されることも明らかとなった。一方、オスでのニトログリセリン投与後の過敏性の早期回復は TRPM8 ノックアウトマウスで消失した。また、TRPM8 阻害薬である AMTB でも同様の効果が観察された。TRPM8 の mRNA の発現は雌雄で差はなく、培養三叉神経節ニューロンを用いた検討でも TRPM8 アゴニスト WS12 による細胞内カルシウム濃度上昇は同程度であった。しかし、ニトログリセリン投与による CM モデルで WS12 の効果を検討すると、オスでは 10 mg/kg で侵害受容抑制効果が得られたが、メスでは 20 mg/kg でも無効であった。以上のことから、ニトログリセリン慢性片頭痛モデルにおいて TRPM8 が保護的に作用するオス特有の機構が存在することが示唆された。男性ホルモンであるテストステロンは TRPM8 のアゴニストとして作用することが知られている。そこで、精巣摘出を行ったオスでニトログリセリン CM モデルを作成すると機械的刺激に対する過敏性の早期回復は観察されなかったが、これはテストステロン補充によって早期回復が再出現した。また、しかし、同様のことを TRPM8 ノックアウトマウスで行うと、テストステロン補充による早期回復は認められなかった。野生型マウスの培養三叉神経節ニューロンにテストステロンを加えるとカルシウム上昇が観察されたが、TRPM8 ノックアウトマウスでは認められなかった。さらに TRPM8 を強制発現させた HEK293 細胞にテストステロンを投与すると外向き整流電流が生じたが、AMTB によって阻害されたことから TRPM8 を介するものと考えられた。一方、siRNA でアンドロゲン受容体発現をノックダウンしてもテストステロンによる外向き電流の出現に明らかな影響は認められなかった。

**【結論・コメント】** 本研究の結果は、テストステロンが TRPM8 を介して三叉神経節ニューロン機能に電気活動を引き起こし、かつニトログリセリン CM モデルで侵害受容を抑制することを示した。TRPM8 に関連した遺伝子多型は片頭痛慢性化に関与することが以前から指摘されていた。また、片頭痛で認められる性差は、これまでエストロゲンやプロラクチンの効果によって説明するモデルが提唱されてきたが、本研究はアンドロゲンが抗片頭痛効果を示す可能性を初めて示した点で興味深いと考えられる。