

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20425

研究課題名(和文)咬筋筋活動におけるヒスタミンの役割

研究課題名(英文)The role of histamine in masseter muscle activity

研究代表者

米田 博行(Yoneda, Hiroyuki)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：90709122

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：筋活動の持続による疲労・疼痛の解明を行うために、HDC活性を指標とした筋活動モデルを定義し、筋活動の程度による慢性疼痛発現因子としてのIL-1 $\beta$ -HDC-ヒスタミンのメカニズムの解明を行うことを目的とした。強制歩行実験の結果、IL-1-KOマウスの方が脱落するマウスが多かったが、HDC活性に有意な差は見られなかった。低強度の電気刺激によるHDC活性において、優位な差は得られなかった。強制歩行後のvon Frey試験による実験では有意な差は得られなかった。NGFを咬筋投与2時間後には咬筋筋活動に大きな差は見られなかったが、1日後には咬筋筋活動が低下する傾向が見られた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to define a muscle activity model with HDC activity as an indicator to elucidate fatigue and pain due to sustained muscle activity and to elucidate the mechanism of IL-1 $\beta$ -HDC-histamine as a chronic pain inducing factor according to the degree of muscle activity. As a result of forced walking experiments, there were many mice with IL-1-KO mice falling out, but no significant difference in HDC activity was observed. There was no significant difference in HDC activity due to low intensity electrical stimulation. No significant difference was obtained in the experiment by the von Frey test after forced walking. No significant difference was found in the masseter muscle activity 2 hours after administration of the masseter muscle of the NGF, but the masseter muscle activity tended to decrease after 1 day.

研究分野：歯学

キーワード：ヒスタミン 筋活動

### 1. 研究開始当初の背景

ブラキシズムや歯列接触癖などの長時間の筋肉活動は顎関節症の要因の1つと考えられている。これらの持続的な筋活動が筋の疲労や疼痛を引き起こすとされており、これまで、咀嚼筋の筋活動における疲労や疼痛の機序について様々な研究がなされ、筋痛により筋活動は低下するとされてきた。一方で、顎関節症などにより咀嚼筋に疼痛がある患者において、ブラキシズムやTCHが症状を悪化させるとの報告がある。これら、筋痛により筋活動が低下している筋肉において、持続的な筋活動が起こるメカニズムに関しては解明されていない。

微小循環の制御物質であるヒスタミンは発痛物質とも知られている。私たちの研究グループは顎関節症患者で抗ヒスタミン薬に鎮痛効果があることを報告した。これらのことから、申請者は筋活動時のヒスタミン供給細胞がマスト細胞であり、ヒスチジンからヒスタミンを合成するヒスタミン合成酵素である histidine decarboxylase (HDC) が亢進することを示し、ヒスタミンが筋活動の維持、および疲労・疼痛への関連性があることを示した。しかし、HDC 誘導する物質に関しては IL-1 を示したが、それ以外のサイトカイン (TNE, IL-18 など) により誘導されるため、筋肉における HDC 誘導が IL-1 によるものは不明である。

### 2. 研究の目的

前述した末梢におけるヒスタミンと筋活動の関連性から、ヒスタミンが筋活動の維持を担うと共に、筋疲労・疼痛に関与しているとの仮説を立てた。抗ヒスタミン薬が筋活動と疼痛を抑制できると考え、本研究では、この仮説を立証することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 筋活動の測定

全身的な骨格筋および強制運動での評価を行うため、電動回転式トレッドミルでの強制歩行実験を行った。(図1)

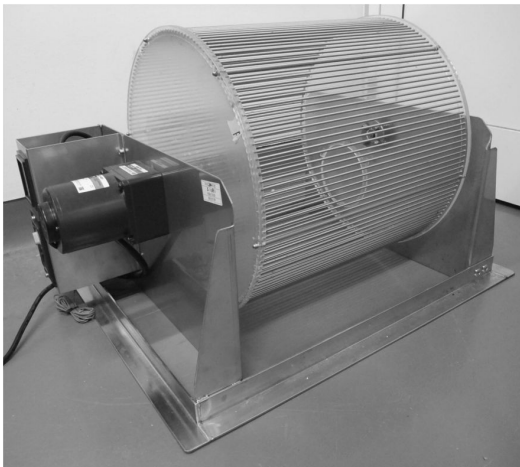


図1 電動回転式トレッドミル

また咬筋筋活動を惹起、定量化するためのモデルとして、マウスを細筒に閉じ込め、出口をプラスチック板で閉じこめることで、マウスが自発的にプラスチックプレートを咬み砕き、実験前後のプラスチック板の重量差を咬み砕き運動量として数値化し、測定する方法を用いた。(図2)

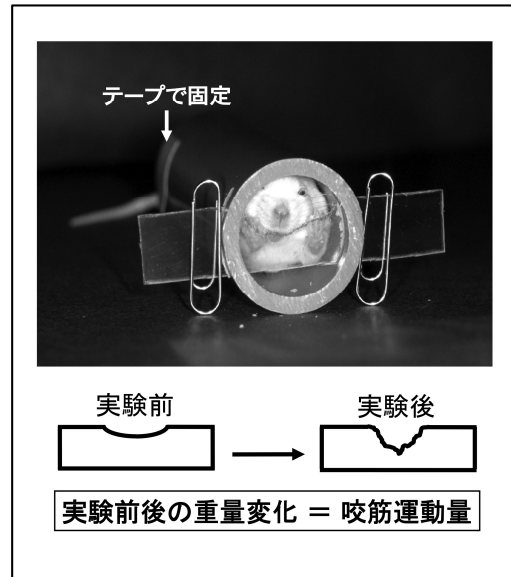


図2 咬筋筋活動の測定

#### (2) 筋活動に関する IL-1 の関与

IL-1 欠損マウス(IL-KO)はそのコントロール野生型マウス(WT)を用いて実験を行った。電動回転式トレッドミルにマウスを移し、回転速度を8mm/minとなるまで徐々に上げていった。その後、実験スタート時のマウスの数に対する脱落せずに残っているマウスの割合を持耐力として比較した。また、強制歩行実験 2 時間後の大腿四頭筋を取り出し、HDC 活性の測定を行った。

#### (3) 電気刺激による HDC の産生

以前、高強刺激電気刺激で筋肉を刺激することで、HDC の上昇がみられたことから、それよりも低刺激の電気刺激により HDC の上昇が起こるか検討した。BALB/cA マウスを用いて、静脈麻酔が作用した後、右側咬筋を1mA, 1ms, 50Hz で10分間の電気刺激を行った。対側は電極のみを刺入した。電気刺激終了30分後に、咬筋を採取し、HDC 活性の測定を行った。

#### (4) 強制歩行後の非侵害性刺激による評価

強制歩行を行うことにより非侵害性刺激による反応が変化するか検討を行うため、BALB/cA を用いて、4時間の強制歩行を行わせた群と強制歩行を行わなかった群の2つで、実験終了後0, 1, 3, 6, 12時間後に von Frey 試験を行った。

また、4時間の強制を連続4日間行った群と行っていない群の2つでも同様に von Frey 試験を行った。

#### (5) 咬筋筋活動における NGF の効果

BALB/cA をもちいて 25 ug/ml の NGF を咬筋に筋肉注射を行い、2 時間後および 1 日後に 2 時間後に咬筋筋活動測定を行った。コントロールは咬筋に PBS を投与したものをを用いた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 筋活動に関する IL-1 の関与

IL-1KO は WT よりも持久力が低い結果となった(図 3)。また、この結果より IL-1KO が 2 時間を超えると脱落するマウスが多くなることから、HDC 測定を行うための強制歩行時間を 2 時間に設定した。

強制歩行運動 2 時間後に採取した大腿四頭筋の HDC 活性は IL-1KO と WT の間に有意な差は見られなかった(図 4)。

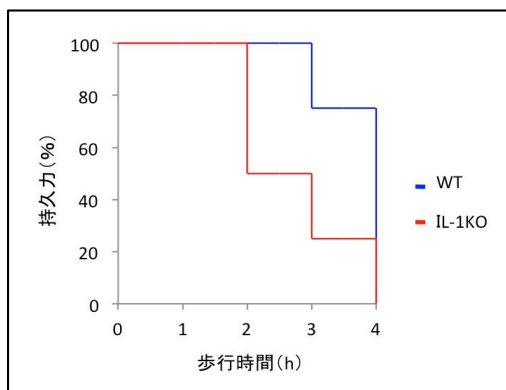


図 3 IL-1KO と WT の持久力

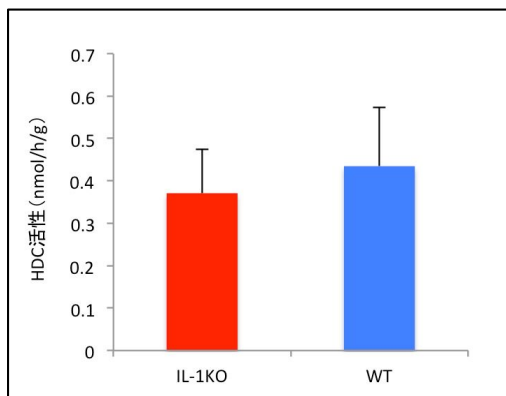


図 4 IL-1KO と WT の HDC 活性

##### (2) 電気刺激による HDC の産生

右側咬筋の 10 分間の電気刺激終了 30 分後に採取し、HDC 活性の測定を行った。その結果、電気刺激あり群と電気刺激なし群の間に有意な差は見られなかった(図 5)。また、共に電気刺激を行わなかった左側の咬筋に、変化は見られなかった。

電気刺激は筋肉に電極を刺入するため、それによる筋組織の損傷を回避することは難しい。そこで運動による疼痛の出現を検討するため、強制歩行実験により、非侵襲刺激による反応が変化するかを調べることにした。

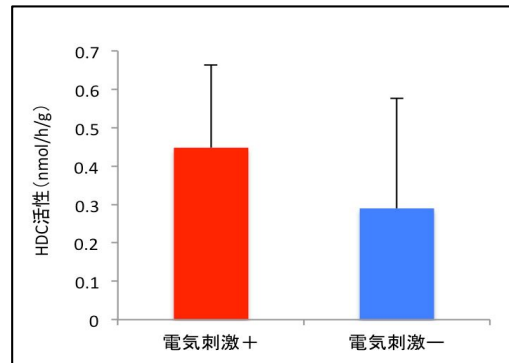


図 5 電気刺激による HDC 活性

(3) 強制歩行後の非侵襲性刺激による評価  
強制歩行実験終了後 0, 1, 3, 6, 12 時間後の結果は、強制歩行を行った群と行わなかった群との間に変化は見られなかった。また、4 日間連続で強制歩行を行った群と行わなかった群の間にも変化は見られなかった。強制運動において運動後の疼痛を誘発できなかったことから、自発運動を基に行っている咬筋筋活動の実験方法では更に難しいと考えられる。そこで、新たに NGF を咬筋に投与することで筋肉痛様の症状を引き起こし、咬筋筋活動の変化を検討することとした。

##### (4) 咬筋筋活動における NGF の効果

NGF を咬筋に投与して 2 時間後の咬筋筋活動に有意な差は見られなかった(図 6)。投与、1 日後の咬筋筋活動においては有意な差は見られなかったが、運動開始時の咬筋運動量が減少傾向を示していた(図 7)。

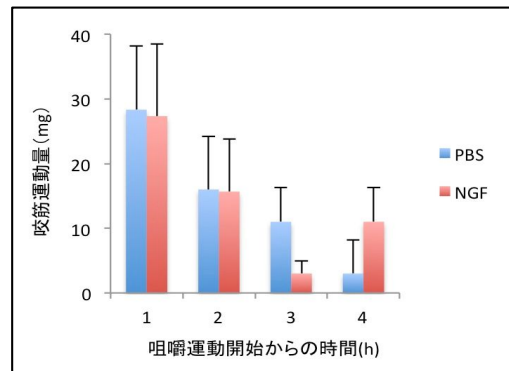


図 6 NGF 投与後 2 時間の咬筋筋活動

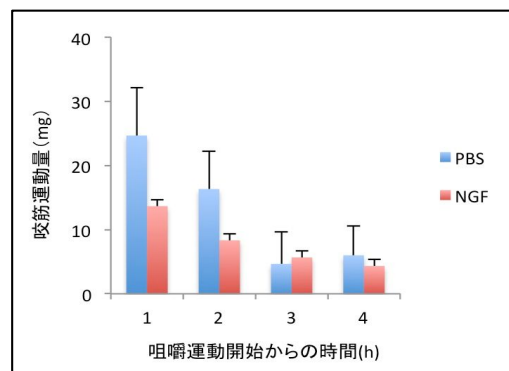


図 7 NGF 投与後 1 日後の咬筋筋活動

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)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米田 博行(Hiroyuki Yoneda)  
新潟大学・医歯学系 助教  
研究者番号：9070912