

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19791390

研究課題名（和文）歯痛に対する交感神経の末梢修飾機序の解明と疼痛制御に関する研究

研究課題名（英文） Sympathetic nerve fibers in rat normal and inflamed dental pulp

研究代表者

示野 陽一（SHIMENO YOICHI）

東北大学・病院・医員

研究者番号：70447168

研究成果の概要：ウイスター系ラット成熟オスの上顎臼歯に窩洞形成を行い、窩洞形成後14日目の歯髄内の交感神経の状態を光学顕微鏡および電子顕微鏡を用いて観察を行った。窩洞形成後の歯髄内の象牙芽細胞層における交感神経は窩洞形成を行わなかったラットの同部位に比べて優位に増加していた。しかし、窩洞形成の有無に関わらず、象牙細管内には交感神経は見られなかった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,700,000	210,000	1,910,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：歯内療法学

### 1. 研究開始当初の背景

自律神経活動をつかさどる交感神経が痛みの発生・維持に重要な役割を演じていることは古くから知られており、第一次世界大戦のさなか戦傷兵士の疼痛制御に交感神経節ブロックおよび交感神経切除術が有効であることが既に知られ標準的な治療法となっていた。神経損傷や炎症による痛みに対する交感神経の末梢修飾機序については、これまで交感神経の血管収縮作用に基づく痛みの悪循環説（痛み→交感神経興奮→血管収縮→血流低下→組織障害→痛み）が有望であったが、近年、交感神経と痛覚線維の間の相互作用（cross talk）が皮膚領域で明らかとなった。すなわち、痛覚線維は正常では交感神経

やノルアドレナリン局所投与に対して反応しないが、受容野に神経損傷や炎症が起こると反応するようになること、また、この反応は交感神経受容体（ $\alpha_2$ ）阻害薬の前投与によって消失することが報告された。痛みが増強されるメカニズムとしては、交感神経の興奮が末梢レベルや脊髄神経節内での異常連絡を形成し痛覚線維を興奮させると考えられている。

歯痛は日常の歯科臨床において最も頻繁にみられる症状であるが、この痛みに関与するかどうかについては現在のところ不明である。しかしながら、歯痛は気圧、血圧、情動に左右されることから交感神経依存性疼痛と類似性が認められること、また、

特発性歯痛が交感神経依存性疼痛の範疇に含まれる可能性を示唆する報告があることなどから、**歯痛に対する交感神経の末梢修飾機序が存在する可能性は大きい。**

## 2. 研究の目的

歯髄の痛みに対する交感神経の末梢修飾機序を明らかにすることを目的として、神経の順行性輸送を利用した神経回路標識法により、直接的に交感神経を標識する方法を用い歯髄炎における交感神経の発芽およびその意義について検索した。

## 3. 研究の方法

実験動物としてウイスター系ラット (300~400g、成熟オス) を用いた。窩洞形成を行ったラットを炎症歯髄群、窩洞形成を行わなかったラットを正常歯髄群とした。

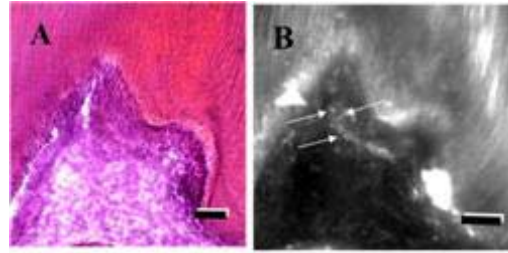
- 1) 窩洞形成：上顎左側第一臼歯近心咬頭に窩洞を形成した。
- 2) WGA-HRP 注入：臼歯窩洞形成後 18 日目、左側上顎神経節に 5%WGA-HRP を注入した。
- 3) 灌流固定：臼歯窩洞形成後 21 日目に 0.1 M PB で溶かした 4%パラホルムアルデヒド灌流固定を行った。
- 4) 光顕観察：厚さ 30  $\mu\text{m}$  の凍結切片を作製し、暗視野照明法にて光顕観察を行った。また、正常歯髄群および炎症歯髄群の窩洞直下歯髄の WGA-HRP 反応物数を明視野光顕観察にて計測した。
- 5) 電顕観察：エポキシ樹脂倒立封埋法を用いて厚さ 90 nm の超薄切片を作製し、鉛染色後、電顕観察を行った。
- 6) 統計処理：各個体の超薄切片中、最も象牙芽細胞層が大きく見えた切片 2 枚を用いて切片中の WGA-HRP 反応物数を数え、マンホイットニー-U テストを用いて統計処理を行った。

## 4. 研究成果

### 1) 光顕観察

①正常歯髄群：冠部歯髄において、それぞれの髓角部には二次象牙質の形成が若干認められ、その直下には、象牙芽細胞が比較的整然と柵状に配列していた (Fig. 1A)。WGA-HRP 反応物は小さな点状物として観察された (Fig. 2B 矢印)。この WGA-HRP 反応物は、

主に二次象牙質形成部直下の歯髄表層にごくわずかに分布しているのが認められたが、



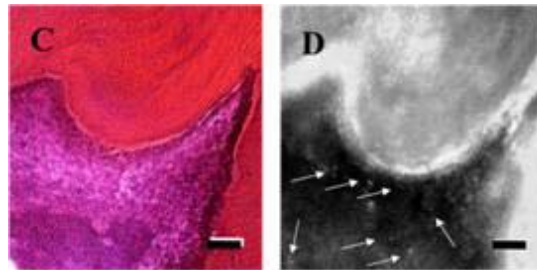
(Figure. 1A, B)

矢印：WGA-HRP 反応物、Scale bars : 100  $\mu\text{m}$   
歯髄中央部には殆どみられなかった。

### ②炎症歯髄群：

窩洞形成を行った咬頭の冠部歯髄において、窩洞形成部直下の髓角部に修復象牙質の形成が認められた。その直下の象牙芽細胞は正常歯髄と比較し、柵状配列は乱れていた (Fig. 1C)。

暗視野観察では WGA-HRP 反応物は、主に修復象牙質形成部直下の歯髄表層に分布し、その分布の数は正常歯髄群に比べて明らかに増加していた (Fig. 1D 矢印)。歯髄中央部には、正常歯髄群と同様に、殆どみられなかった。



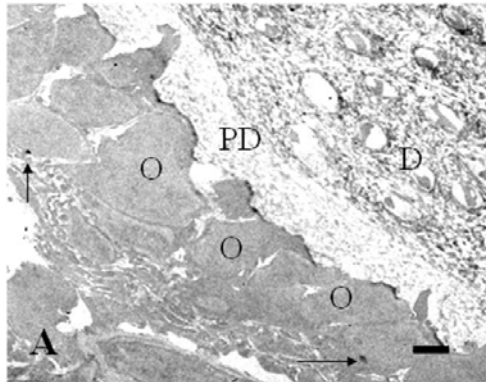
(Figure. 1C, D)

Scale bars : 100  $\mu\text{m}$

### 2) 電顕観察

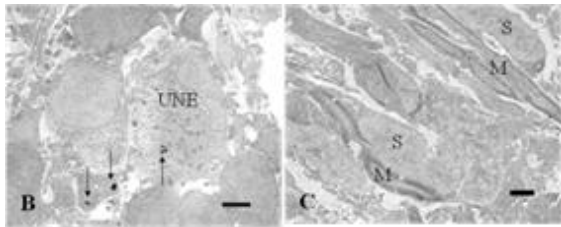
①正常歯髄群：光顕観察にて WGA-HRP 反応物が認められた二次象牙質形成部の象牙質、象牙前質および歯髄表層部を電顕にて観察した結果、光顕所見と同様に、象牙芽細胞層において象牙芽細胞は柵状に整然と配列していた。交感神経の神経終末を示す WGA-HRP 反応物は電子密度の高い塊状物として観察され、この反応物は象牙芽細胞層および象牙芽細胞層直下に散在していた。象牙芽細胞層において、WGA-HRP 反応物の大部分は象牙芽細胞体と近接していたが、1つの象牙芽細胞に複数の WGA-HRP 反応物の塊が観察されることは殆どなかった (Fig. 2A)。象牙芽細胞層では無髓神経のみ観察され、有髓神経は認められなかった。象牙芽細胞層直下では無髓神経および有髓神経の両者が観察され、無髓神経終末の一部には WGA-HRP 反応物が認められる場合があったが (Fig. 2B)、有髓神経には WGA-HRP 反応物は観察されなかった (Fig. 2C)。

象牙質および象牙前質の象牙細管内においては、象牙芽細胞突起に近接して無髄神経終末が認められたがWGA-HRP 反応物は観察されなかった (Fig. 2D)。



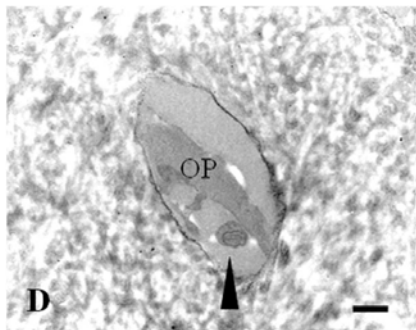
(Figure. 2A)

D; 象牙質、PD; 象牙前質、O; 象牙芽細胞、矢印: WGA-HRP 反応物、Scale bars: 2 μm



(Figure. 2B, C)

UNE; 無髄神経終末、S; シュワン細胞、M; 有髄神経、Scale bars: 2 μm



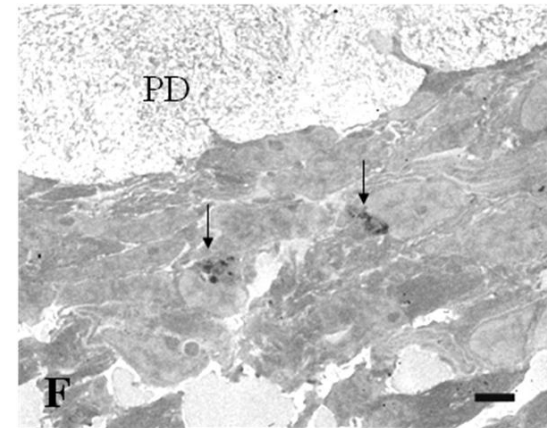
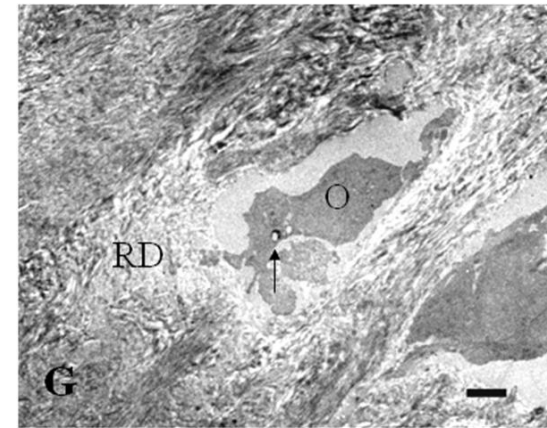
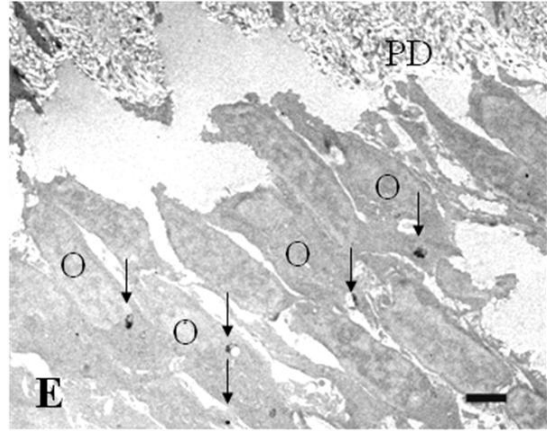
(Figure. 2D)

OP; 象牙芽細胞突起、矢頭: 無髄神経終末、Scale bars: 0.5 μm

②炎症歯髄群: 正常歯髄と同様に、WGA-HRP 反応物が認められた窩洞形成部直下の修復象牙質形成部の象牙質、象牙前質および歯髄表層部を観察した。正常歯髄と比較し、修復象牙質直下の象牙芽細胞層において象牙芽細胞の配列は乱れており、この部位ではWGA-HRP 反応物が多数認められた (Fig. 2E)。WGA-HRP 反応物と象牙芽細胞体は互いに近接しており、正常歯髄とは異なり、WGA-HRP 反応物が数個かたまって観察される場合が多くみられた (Fig. 2F)。象牙芽細胞層では正常歯髄と同様に無髄神経のみ観察され、有髄

神経は認められなかった。また、修復象牙質形成により象牙前質に封入された象牙芽細胞が多くみられ、その象牙芽細胞体に近接してWGA-HRP 反応物が観察された (Fig. 2G)。

WGA-HRP 反応物は正常歯髄と同様に、象牙細管内の象牙芽細胞突起には認められなかった。



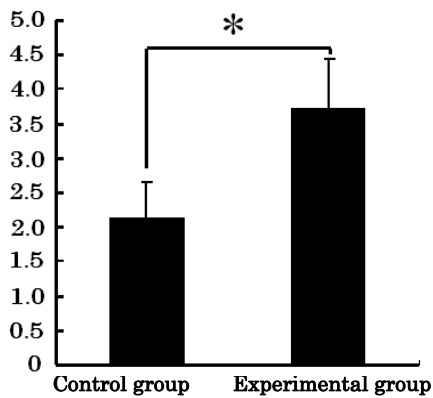
(Figure. 2E-G)

Scale bars: 2 μm

### 3) WGA-HRP 反応物数

単位面積当たり (120×95nm) の WGA-HRP 反応物数は、正常歯髄群では平均 2.1 ± 0.54 個に対して、炎症歯髄群では平均 3.71 ± 0.73 個であり、正常歯髄群に比べ炎症歯

髓群の WGA-HRP 反応物数は有意に増加していた ( $P < 0.05$ ) (Fig. 3)。



(Figure. 3)

Mann-Whitney's U test, \*:  $P < 0.05$

以上の結果から、歯髄炎によって歯髄内の交感神経が発芽し、優位に増加することを世界で初めて明らかにした。このことから、発芽した交感神経が痛みを修飾していることが予想される。すなわち、発芽した交感神経と感覚神経の相互作用 (cross-talk) により、感覚神経の神経活動が増幅され痛みが増強される可能性が示唆される。本研究の成果は、「歯痛に対する交感神経の影響」について学術的な根拠を示した点で基礎医学的な意義があるが、同時に、慢性歯痛など非定型歯痛に対する解決策、治療法として臨床的な意義が大きい。今後、交感神経の制御による歯痛制御の治療法が普及する可能性が期待できる。

#### 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1件)

- ① Yoichi Shimeno, Yumiko Sugawara, Masahiro Iikubo, Noriaki Shoji, Takashi Sasano, Neuroscience Letters 435 page73-77、2008 査読有

[学会発表] (計2件)

- ① Yoichi Shimeno, Yumiko Sugawara, Masahiro Iikubo, Noriaki Shoji, Takashi Sasano  
**Absence of sympathetic innervation and sprouting in rat dentinal tubules**  
IADR 86th General Session & Exhibition  
(2008年7月3日 Toronto)
- ② 示野陽一  
歯痛に対する交感神経の末梢修飾機序の解明と疼痛制御に関する研究—交感神経

依存性疼痛の治療を目的とした歯科材料の開発を目指して—  
第4回高機能インターフェイス科学カンファレンス (2008年3月1日 仙台)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

示野 陽一 (SHIMENO YOICHI)  
東北大学・病院・医員  
研究者番号：70447168