

機関番号：14401

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ~2010

課題番号：20592371

研究課題名 (和文) パーキンソン病モデルラットにおける口腔領域の疼痛感覚

研究課題名 (英文) Pain sensations of oral region in rat models of Parkinson' s disease

研究代表者

丹羽 均 (NIWA HITOSHI)

大阪大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：30218250

研究成果の概要 (和文)：

左側内側前脳束に 6-OHDA を投与し作製した片側パーキンソン病モデルラットを用い、上口唇でホルマリンテストを行った場合の疼痛関連行動 (PRB) と三叉神経脊髄路核尾側亜核での c-Fos、および ERK 陽性細胞数を検討した。その結果、右側の上口唇にホルマリンを注射した場合、PRB の第 1 相が減少したが、その時の ERK 陽性細胞数に有意な変化は認められなかった。一方、左側に注射した場合は、PRB の第 2 相が増加し、c-Fos 陽性細胞数も増加した。したがって、片側パーキンソン病モデルラットの口腔顔面領域は痛覚過敏状態にあるが、痛みに対する反応行動は鈍くなっている可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

Parkinson' s disease model rats (PD rat) were injected formalin into the left upper lip. The numbers of pain-related-behavior (PRB) and c-Fos or ERK positive cells in the trigeminal nucleus caudalis were counted after formalin injection. PD rats with contralateral injection showed a decrease in PRB during the first 5 min, however, there was no significant change in ERK expression compared with sham rats. The number of PRBs and c-Fos expression increase in PD rats with ipsilateral injection. These results suggest that the PD rat is in hyperalgesia, however, the behavioral response to pain is blunted.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：パーキンソン病、痛覚、三叉神経、疼痛関連行動、c-Fos、ホルマリンテスト

## 1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病 (PD) は、黒質神経細胞の変性により、ドーパミンの産生が減少し、運動の制御機構である黒質線条体系が正常に機能しなくなる疾患である。PDにおける運動系および自律神経系の異常についてはよく知られているが、PD患者における感覚系の変化については解明されていない。特に口腔顔面領域の痛覚の変化については、ほとんど知られていない。しかし、PD患者の死亡原因として、嚥下障害による誤嚥性肺炎の頻度がきわめて高いことが報告されており、そのリスクを減らし、死亡率を改善するためには、口腔環境の改善が大いに関係する。したがって、PDが口腔感覚へ及ぼす影響を考慮した上での口腔管理は、PD患者のQOLの向上に大いに寄与するものと考えられる。

これまでのわれわれの臨床における経験では、PD患者の口腔顔面領域の疼痛域値は上昇しているとの印象を強く持っている。つまり、PD発症後、重症のう蝕や歯周病に罹患しても、PD患者はあまり疼痛を訴えない。仮面様顔貌や構音障害により、痛みを明確に表現できないということを差し引いたとしても、痛みに対し鈍くなっているように推測される。しかし、その一方、PD患者はパーニングマウスを訴える頻度が高いことも報告され、口腔顔面領域の痛覚に対する一定の見解は得られていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、PDモデルラットを用いて口腔顔面領域の侵害刺激に対する閾値および反応性がどのように変化しているのかを検討し、我々の臨床的観察から得られた所見を検証することである。

## 3. 研究の方法

### (1) PDモデルラットの作製

7週齢の雄性Wistarラットの内側前脳束(MFB)に6-hydroxydopamine (6-OHDA)を投与し、黒質神経細胞を破壊する。ラットをペントバルビタール (50mg/kg)で麻酔し、脳定位固定装置に固定する。頭蓋骨を露出させ、プレグマとラムダの座標を測定し、電気ドリルで穴を開け、左側のMFBにマイクロシリンジを用い、6-OHDAを投与する。モデルラットの評価は、行動学的変化と組織学的変化で確認する。行動学的変化はmethamphetamineを腹腔内に投与し、破壊側への誘起回転を観察する。7回/分以上の回転を示したラットを以後の研究にPDモデルラットとして用いる。また、脳の凍結切片を作製した後、tyrosine hydroxylase染色を行い、ドーパミン産生ニューロンの変性でPDの発症を確認する。

### (2) ホルマリンテスト

6-OHDA投与3週間後に4%ホルマリン溶液50 $\mu$ lをラットの上口唇に皮下注射する。5分ごとの疼痛関連行動(顔面こすり運動:PRB)を90分計測する。

(3) 三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)におけるc-Fos、ERK陽性細胞の計測

ホルマリン注射から2時間後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行った。脳の凍結切片を作製し、c-Fosに対する免疫組織学的染色を行う。またホルマリン注射から5分後に灌流固定を行ったラットについては、ERKに対する免疫組織学的染色を行う。Vcに認められるc-Fos陽性細胞ならびにERK陽性細胞を顕微鏡下で計数する。

### (4) 研究のプロトコール

以下の4群に分けて研究を行った。

①sham+ipsi: 左側のMFBに生理食塩水を注入し、左側の上口唇でホルマリンテストを行う場合

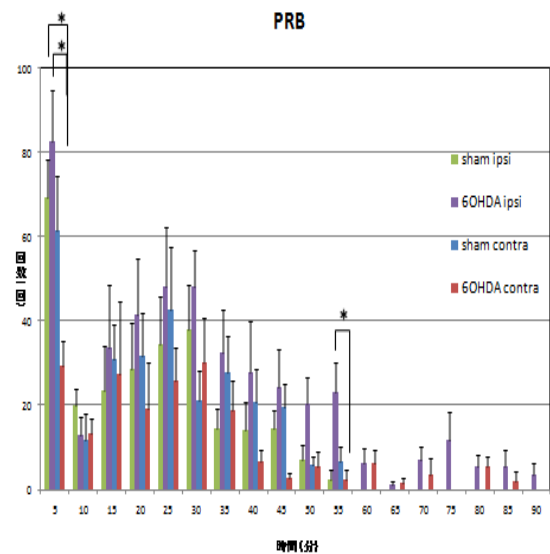
②6OHDA+ipsi: 左側のMFBに6OHDAを注入し、左側の上口唇でホルマリンテストを行う場合

③sham+contra: 左側のMFBに生理食塩水を注入し、右側の上口唇でホルマリンテストを行う場合

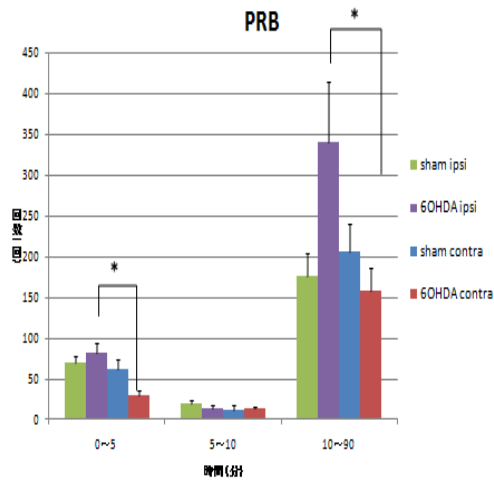
④6OHDA+contra: 左側のMFBに6OHDAを注入し、右側の上口唇でホルマリンテストを行う場合

## 4. 研究成果

図1には5分毎のPRBを示す。PRBはこれまでの研究で示されているように2峰性の反応を示した。

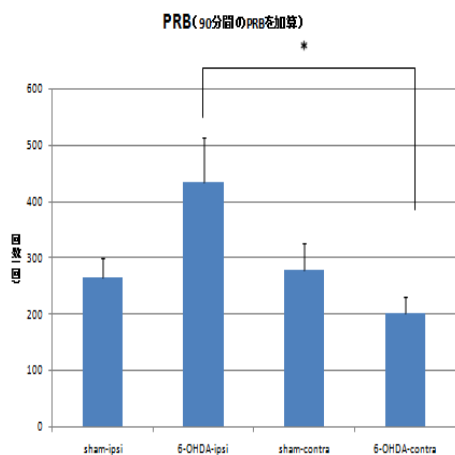


(図1. 5分毎のPRBの変化)



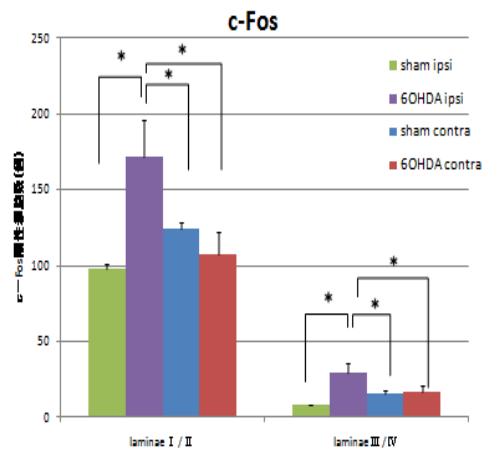
(図2. PRBの3つの相での変化)

図2にはPRBを3つの相(第1相:0-5分、第2相:5-10分、第3相:10-60分)に分けた場合の変化を示す。6-OHDA+contraは6-OHDA+ipsiと比較し、最初の5分間(第1相)の疼痛関連行動の減少が認められた。また6-OHDA+contraはsham+ipsiと比べてもPRBは少なかった。第3相(10-60分)において、6-OHDA+ipsiは、sham+ipsiと比較してPRBの増加傾向は認められたが、有意な変化ではなかった。



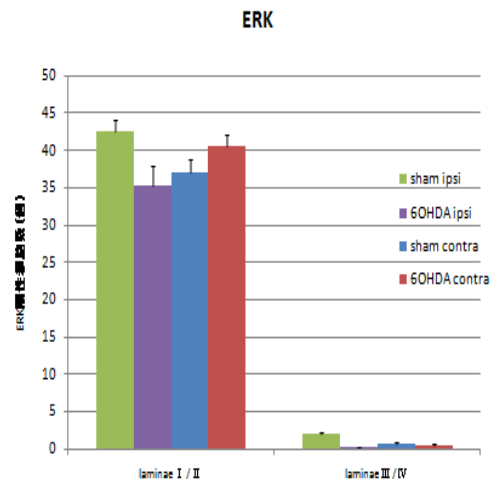
(図3. 0~60分のPRBの総数)

図3にはPRBの0~60分間の総数を示す。PRBの0~60分間の総数は、6-OHDA+contraと6-OHDA+ipsiの間で有意差が認められた。



(図4. 三叉神経脊髄路核尾側亜核のc-Fos陽性細胞数)

図4に示すように、Vc内のc-Fos陽性細胞数は、破壊側と同側にホルマリンを注射した場合(6-OHDA+ipsi)に有意な増加が認められた。反対側にホルマリンを注射した(6-OHDA+contra)場合はshamラットと比較してc-Fos陽性細胞数に有意な変化は認められなかった。



(図5. 第1相におけるVcのERK陽性細胞数の変化)

第1相におけるVcでの細胞の活動を検討するためホルマリンテスト5分後に灌流固定を行い、ERK陽性細胞数を計数した。図5

に示すように、破壊側と同側にホルマリンを注射した場合（6-OHDA+ipsi）における Vc 内の ERK 陽性細胞数は、コントロールラットと比較して有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、6-OHDA+ipsi で示された第2相における PRB の増加傾向と c-Fos 陽性細胞の増加は、PD ラットにおいては痛覚過敏状態となっていることを示唆している。一方、6-OHDA+contra では第1相において PRB が減少したが、ERK には変化が認められなかった。このことは、ホルマリン注射により Vc の細胞は活動しているが、それに対する関連行動が伴っていないことを意味する。これまでの片側 PD ラットにおける運動に関する研究では、破壊側と反対側の運動が障害されることが示されており、そのことが PRB の減少を引き起こしたものと推測できる。

#### 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）

〔学会発表〕（計2件）

- ① Maegawa H, Sugiyo A, Masawaki A, Oyamaguti A, Yoshida A, Kato T, Niwa H: Behavioral responses and Fos expression following facial painful stimuli in hemi-parkinsonian rats、Neuroscience 2010、2010年11月16日、サンディエゴ・インターナショナル・コンベンションセンター（USA）
- ② Maegawa H, Masawaki A, Morimoto Y, Kato T, Yoshida A, Niwa H: Behavioral responses and Fos expression following facial painful stimuli in hemi-parkinsonian rats、The 13<sup>th</sup> Asian Australasian Congress of Anesthesiologists、2010年6月3日、福岡市・マリンメッセ

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

丹羽 均 (NIWA HITOSHI)  
大阪大学・大学院歯学研究科・教授  
研究者番号：30218250

##### (2) 研究分担者

杉村 光隆 (SUGIMURA MITSUTAKA)  
大阪大学・大学院歯学研究科・准教授  
研究者番号：90244954