

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791574

研究課題名（和文） 矯正治療時に生じる疼痛の発生機序とその抑制

研究課題名（英文） Clarification of pain mechanism and pain control during orthodontic treatment

研究代表者

藪内 利憲（YABUUCHI TOSHINORI）

岡山大学・岡山大学病院・医員

研究者番号：00452582

研究成果の概要（和文）：

歯の移動に伴う痛み刺激により中枢においても様々なマーカーに経時的変化が生じていることが分かった。実験的歯の移動時の侵害刺激が三叉神経脊髄路核において、マイクログリアとアストロサイトを活性化することを見出した。さらに、この活性化が生じる部位が、Fos 陽性神経細胞周囲に限局的に生じることも明らかにした。これらの最近の研究結果により、グリア細胞が歯の移動時の侵害刺激にも深く関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We found that the distribution of various markers in central have been changed over time during tooth movement. In trigeminal ganglion, we found that microglia and astrocytes were activated during tooth movement. In addition, activated glial cells were localized around the Fos-positive neurons. The results of studies were suggested glial cells may have been deeply involved in noxious stimulation during tooth movement.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：神経ペプチド、痛み、共焦点顕微鏡、組織学的形態計測

## 1. 研究開始当初の背景

実験的歯の移動モデルにおいて、さまざまな神経ペプチドが歯の移動に伴って放出されることが明らかにされてきた。また、歯に矯正力が加わると、歯周組織に圧迫側と牽引側が生じ、部位特異的に骨の形成や吸収が生じることは組織学的にすでに明らかにされている。一方神経ペプチドの一つであるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) が骨組織に直接作用することが最近明らかにされている。また我々の研究グループは歯の移動時に神経ペプチドが破骨細胞の出現数に影響をおよぼすことを明らかにしてきた。しかしながら、神経ペプチドは3次元に分泌し、歯周組織の形成や吸収も空間的に特異的な分布をするため、従来の2次元的な組織学的解析では、神経ペプチドの分布と歯周組織の改造機転を客観的に捉えることは困難であった。そこで、今回、我々の研究グループが開発した神経組織のような突起をもつ骨細胞のin vivoにおける3次元計測の手法を用いて、歯の移動時に硬組織と神経系（痛み）がどのように関連しているかを3次元的位置関係から明らかにするという着想に至った。

## 2. 研究の目的

歯の移動時における様々な神経ペプチドの分

布ならびに歯周組織の形成と吸収を3次元的に明らかにし、さらに神経ペプチドの役割を明らかにすることで、神経系と硬組織の関連を示すことである。

## 3. 研究の方法

### 1) 実験的歯の移動および切片作成

ラットの上顎第一、第二臼歯間に矯正用ゴムを挿入し実験的歯の移動を行う。実験的歯の移動後に灌流固定を行い、さらに十分に脱灰させた後にマイクロームにて連続凍結切片を作成する。また、中脳路核や三叉神経節に関しても連続凍結切片を作成する。

### 2) 免疫染色およびin situ hybridization

作成した連続凍結切片をCGRP、Galaninなどの様々な神経ペプチドに関して免疫染色ならびに蛍光免疫染色を行う。また、一部の切片についてはin situ hybridizationを行う。in situ hybridizationを行うことによりCGRP、ガラニンなどの神経ペプチドを特異的に観察することができる。

### 3) 三次元構築および組織学的定量化

作成した連続凍結切片をCGRP、Galaninなどの様々な神経ペプチドに関して蛍光免疫染色を行い、反応部位における神経伝達物質の産生

及び代謝について検討を行う。また、それぞれの神経ペプチドの局在を共焦点レーザー顕微鏡にて観察を行い、共焦点レーザー顕微鏡から得られる蛍光像の三次元的な立体構築を行い、三次元的立体モデルを作成する。作成された三次元的立体モデルにおいて三次元距離計測ソフト (IMARIS NEURON-TRACER) および体積・表面積測定ソフト (Surpass) を用い、神経ならびに組織の三次元的な定量化を行う。

4) 骨芽細胞、破骨細胞と神経伝達物質の関連性を調べる。

脛骨、大腿骨から骨髄幹細胞を取り出し、骨芽細胞、破骨細胞に分化させる。その後、神経ペプチドを加えて培養を行う。一定期間培養した後、PCR法を用いて骨芽細胞、破骨細胞の活性を調べるため遺伝子の発現を調べる。

5) 中枢神経組織における実験的歯の移動の影響

中脳路核および三叉神経節において、様々な神経ペプチドと c-fos などのマーカーとの共存関係を調べ、画像解析ソフト (Win-Roof) を用いて、これらの mRNA を有するニューロンの細胞体の大きさや、染色濃度、量的変化を分析する。

#### 4. 研究成果

歯の移動に伴う痛み刺激により中枢においても様々なマーカーに経時的変化が生じていることが分かった。特に痛みのマーカーと考えられる Fos や近年、痛みの発生に直接関すると思われるようになってきたグリア細胞に

ついて分布を検証した結果、実験的歯の移動時の侵害刺激が三叉神経脊髄路核において、マイクログリアとアストロサイトを活性化することを見出した。さらに、この活性化が生じる部位が、Fos陽性神経細胞周囲に限局的に生じることも明らかにした (2009年日本矯正歯科学会にて報告)。これらの最近の研究結果により、グリア細胞が歯の移動時の侵害刺激にも深く関与している可能性が示唆された。これらの結果は、歯の移動時に生じる痛みの原因となる反応が、“空間的にどの部位で生じているのか”、さらに“時間的にどの様に変遷するのか”が明らかにするものである。本研究をさらに進展させる事により痛みや歯周組織の改造現象をコントロールする研究が大きく進展することが予想され、矯正歯科臨床において治療期間の短縮や痛みのコントロール、さらに歯根吸収の抑制が可能となると考える。

#### 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. 足立 理恵、実験的歯の移動時における c-fos の発現とグリア細胞の動態との関連性について、日本矯正歯科学会、2009年11月16・17・18日、福岡
2. 藪内 利憲、実験的歯の移動時におけるグリア細胞ならびにアストロサイトの三次元組織学的形態計測、日本矯正歯科学会、2008年9月16・17・18日、千葉

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藪内 利憲 (YABUCHI TOSHINORI)

岡山大学・岡山大学病院・医員

研究者番号 : 00452582