

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10167

研究課題名(和文) 心理的ストレスが咀嚼筋痛を慢性化するメカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism by which psychological stress makes masticatory muscle pain chronic.

研究代表者

左合 徹平 (Teppeï, Sago)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：80710574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：咀嚼筋痛モデルラットにおいて自発顔面ラビング時間は増大し、頭部引っ込み反射閾値が低下した。心理的ストレス負荷咀嚼筋痛群においては咀嚼筋痛モデルラットと比較して自発顔面ラビング時間は増大したが、頭部引っ込み反射閾値は低い傾向にあったが有意な低下は認めなかった。これらの結果から心理的ストレスは自発痛を感じる時間は増大させるが、局所の痛覚過敏は惹起しない可能性が示唆された。ヒトにおける慢性疼痛は必ずしも痛覚過敏が発生するわけではないため、これらの結果はより臨床に近い結果であると言えるのかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科臨床において遭遇する咀嚼筋痛は慢性化し治療に難渋することが多い。咀嚼筋痛の慢性化には心理的ストレスが関与していることが示唆されているが、その詳細なメカニズムは不明である。代表的な慢性疼痛の研究では癌性疼痛や神経障害性疼痛に関する研究が数多くあり、グリア細胞の活性化が影響を与えていることは明らかになっているが、心理的ストレスによる疼痛の慢性化とグリア細胞との関連は明らかではない。本研究において咀嚼筋痛が慢性化し、難治性疼痛となるメカニズムの一端を明らかにし、新規治療法の開発をすることは慢性的な咀嚼筋痛に苦しむ多くの患者の福音となることに疑いの余地はない。

研究成果の概要(英文)：In the masticatory muscle pain model rats, spontaneous face rubbing time was increased and the head retraction reflex threshold was decreased. In the psychological stress-loaded masticatory muscle pain group, spontaneous face rubbing time increased compared to the masticatory muscle pain model rats, but the head retraction reflex threshold tended to be lower, but was not significantly decreased. These results suggest that psychological stress may increase the duration of spontaneous pain but not induce local hyperalgesia. Since chronic pain in humans does not necessarily cause hyperalgesia, these results may be more clinically relevant.

研究分野：口腔顔面痛

キーワード：咀嚼筋痛

1. 研究開始当初の背景

歯科臨床において遭遇する咀嚼筋痛の多くは鎮痛薬が奏功せず、その痛みは慢性化し治療に難渋することが多い。また過去の報告では成人の12-14%が咀嚼筋痛に苦しんでおり、憂慮すべき社会的問題になっていることや、咀嚼筋痛の慢性化には心理的ストレスが関与していることが報告されているがそのメカニズムは明らかではない。咀嚼筋痛の慢性化には心理的ストレスが関与していることが示唆されているが、その詳細なメカニズムは不明である。これまで多くの咀嚼筋痛モデルが開発されているが、急性期の疼痛に関するものが多い。代表的な慢性疼痛の研究では癌性疼痛や神経障害性疼痛に関する研究が数多くあり、グリア細胞の活性化が影響を与えていることは明らかになっているが、心理的ストレスによる疼痛の慢性化とグリア細胞との関連は明らかではない。申請者らは心理的ストレスが咀嚼筋痛を慢性化させるメカニズムにおいて、神経細胞の生存や発達機能発現のための脳内環境の維持と代謝的支援を行うグリア細胞の関与に着目した。咀嚼筋痛が慢性化し、難治性疼痛となるメカニズムを明らかにし、新規治療法の開発をすることは慢性的な咀嚼筋痛に苦しむ多くの患者の福音となることに疑いの余地はない。

2. 研究の目的

心理的ストレスによる咀嚼筋痛の発生および慢性化とグリア細胞の関係性を明らかにし、難治性の慢性咀嚼筋痛に対する新規治療法の開発を目指すことである。

3. 研究の方法

心理的ストレス負荷には拘束水浸ストレスを用いる。6週齢雌性 Sprague-Dawley ラットに拘束水浸ストレス(拘束ケースに固定し、胸骨中央部まで20 cmの水に3時間/日浸す)を7日間連続して負荷する。実験的咀嚼筋痛は6週齢雌性 Sprague-Dawley ラットに三種混合麻酔を行い、左側咬筋に31G注射針を用いて神経栄養因子(NGF)を40 µg注入することで作製する。対照群には生理食塩水を注入する。

実験群は4群(MP群;咀嚼筋痛群、s-MP群;心理的ストレス負荷咀嚼筋痛群、Sham群;咀嚼筋痛対照群、s-Sham群;心理的ストレス負荷対照群)を作製し、疼痛関連行動を計測する。

心理的ストレス負荷はNGFまたは生理食塩水の注入7日前から行う。各モデルラット作製後1、3、5、7日後にプラスチックボックス(30×30×30cm)にラットを入れ、自発痛の指標として知られている自発顔面ラビング時間を10分間計測する。また左側咬筋にフロンフライフィラメントを用いて機械的刺激を与え、頭部引っ込み反射閾値(HWT)を測定する。咬筋へ機械的刺激を5分間隔で3回与え、3回の平均値をHWTとして算出する。これにより心理的ストレスによる疼痛関連行動の経日的変化を明らかにする。

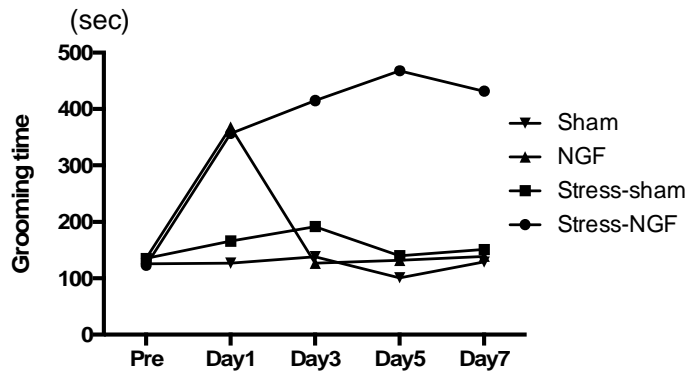
本モデルの上述した4群において、痛みのマーカーとしてc-Fosタンパクの発現を検討する。前述の方法で各4群を作製し、1、3、5、7日後に屠殺し、灌流固定後に脳幹を取り出し、c-Fos蛋白の免疫染色を施す。観察部位として、侵害受容経路の中継核である三叉神経脊髄路核尾側亜核を選択し、c-Fos陽性ニューロンの数を計測し、統計処理を行う。これらによって評価することにより、心理的ストレス負荷を与えた咀嚼筋痛モデルラットの経日的な侵害刺激応答と疼痛関連行動との関連性を明らかにする。

前述した4群の作製(NGFまたは生理食塩水注入)4日前に、咬筋支配TG細胞を標識するため、逆行性トレーサーであるFluoro Gold(FG)を左側咬筋に注入する。各4群作製後1、3、5、7日後に屠殺し、灌流固定後にTGと脳幹を取り出し、咬筋支配TG細胞と三叉神経脊髄路核尾側亜核におけるGFAPの発現を免疫組織化学的に解析する。これにより経日的な疼痛関連行動とグリア細胞の活性化との関連性を明らかにする。

前述の4群作製後にFAまたは生理食塩水を腹腔内投与する。投与後1、3、5、7日後に自発顔面ラビング時間とHWTを測定する。自発顔面ラビング時間とHWT測定後に屠殺し、灌流固定後にTGと脳幹を取り出し、GFAPの発現を免疫組織化学的に解析する。これにより心理的ストレスによって慢性化した咀嚼筋痛に対するグリア細胞代謝阻害薬の疼痛抑制効果について明らかにする。

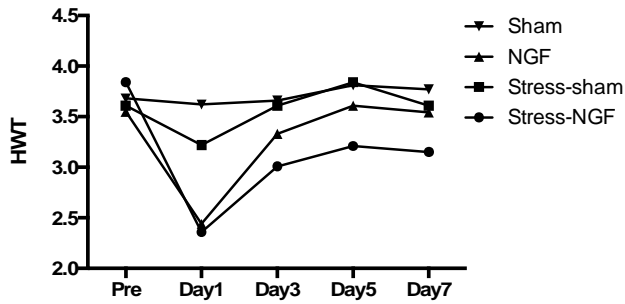
4. 研究成果

咀嚼筋痛モデルラットにおいて自発痛の指標として知られている自発顔面ラビング時間は増大し、痛覚過敏の指標である頭部引っ込み反射閾値が低下した。心理的ストレスのみを与えて群では対照群と比較して一時的に頭部引っ込み反射閾値が低下傾向を見せた。このことから心理的ストレスのみでも咀嚼筋痛を発症する可能性が示唆された。心理的ストレス負荷咀嚼筋痛群においては咀嚼筋痛モデルラットと比較して自発顔面ラビング時間は増大し、長期間遷延した(図1)。これにより心理的なストレスが咀嚼筋痛を増悪、慢性化させる可能性が示唆された。



(図1) 自発顔面グルーミング時間の経時的変化

頭部引っ込み反射閾値は NGF 注入直後は低くなったが3日目からは心理的ストレス負荷咀嚼筋痛群において他の群と比較して低い傾向にあったが有意な低下は認めなかった(図2)。これらの結果から心理的ストレスは自発痛を感じる時間は増大させるが、一時的な局所の痛覚過敏は惹起するが、それらは遷延しない可能性が示唆された。ヒトにおける慢性疼痛は必ずしも痛覚過敏が発生するわけではないため、これらの結果はより臨床に近い結果であると言えるのかもしれない。



(図2) 頭部引っ込み反射閾値の経時的変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sago Teppei, Takahashi Osamu, Ogawa Mika, Kawabata Kazune, Matsukawa Ibuki, Shiiba Shunji	4. 巻 10
2. 論文標題 Effects of stellate ganglion block on postoperative trigeminal neuropathy after dental surgery: a propensity score matching analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12316- 13463
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-70533-w	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawabata Kazune, Sago Teppei, Oowatari Tsuneto, Shiiba Shunji	4. 巻 64
2. 論文標題 Prolonged blockade of the cervical sympathetic nerve by stellate ganglion block accelerates therapeutic efficacy in trigeminal neuropathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Oral Science	6. 最初と最後の頁 6~10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2334/josnusd.21-0245	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 左合徹平
2. 発表標題 口腔顔面領域における関連痛の発生・調節メカニズム
3. 学会等名 第50回日本歯科麻酔学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 左合徹平
2. 発表標題 咬筋の関連痛発生・調節と下行性疼痛抑制系の関連
3. 学会等名 第27回日本口腔顔面痛学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	椎葉 俊司 (Shunji Shiiba) (20285472)	九州歯科大学・歯学部・准教授 (27102)	
研究 分担者	小野 堅太郎 (Kentaro Ono) (40316154)	九州歯科大学・歯学部・教授 (27102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------