

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10171

研究課題名（和文）GABAAサブユニット作動薬を用いたバーニングマウス症候群の新規治療法開発

研究課題名（英文）Development of a novel therapeutic approach for burning mouth syndrome using GABAA subunit agonists.

研究代表者

野間 昇（NOMA, Noboru）

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：70386100

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：Burning mouth syndromeは舌痛症とも呼ばれ、舌にビリビリした痛みが生じる原因不明の慢性疼痛疾患である。研究では、中枢性感作スコア（CSI）を使用し、BMSと二次性BMS（SBMS）を鑑別するテストを評価した。CSIスコア、味覚閾値、疼痛持続時間の関連を疾患によって異なるかどうか調査した。BMS患者では味覚の感覚が低下することから味の神経と舌の神経が関連していることが分かった。また卵巣摘出（OVX）を行ったラットでは舌の痛みが出現することから舌痛症には性ホルモンの異常が関与することも明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では一次性BMSのCSIスコアが二次性BMSと比較して高くなることから簡易的に鑑別診断が可能となり口腔顔面痛研究においてインパクトが大きい。一次性BMSの病脳期間が長い程、また中枢性感作が強い程、味覚閾値が低下した。このことから鼓索神経の入力が低下して三叉神経を介して痛み情報伝達の脱抑制が生じている可能性が示された。また動物実験において卵巣摘出ラットにおいて機械刺激に対する舌の痛覚過敏が誘発され、舌粘膜上皮の神経線維が減少した。GABAA受容体のサブユニット構成の変化が神経障害性疼痛様の症状を惹起した可能性を示唆する。BMSの新規治療開発の一助になることが考えられる。

研究成果の概要（英文）：Burning Mouth Syndrome (BMS) is a chronic pain disorder primarily affecting the tongue, with unclear etiology and established treatment methods. Research using quantitative sensory testing has identified dysfunction in the chorda tympani nerve, suggesting involvement of the central nervous system, as evidenced by elevated thresholds and occurrence of symptoms on both sides even with unilateral dysfunction. This study aimed to evaluate the use of Central Sensitization Inventory (CSI) scores at the site of burning sensation as a diagnostic test to differentiate between BMS and Secondary Burning Mouth Syndrome (SBMS), investigate the relationship between CSI scores, taste thresholds, and pain duration varying by disease (BMS vs SBMS). Finally, it examined the pain thresholds and anatomical changes in the tongues of OVX rats to elucidate a portion of the pathogenesis of BMS.

研究分野：口腔内科学分野

キーワード：口腔灼熱痛症候群 口腔顔面痛 味覚

### 1. 研究開始当初の背景

(1)BMS 患者において食事により疼痛が軽減されるが、このメカニズムは解明されていない。味刺激によって疼痛抑制に作用するのか、どのような機序を介して疼痛が抑制されるかについては、詳細は不明である。そこで研究開始当初は臨床研究(第1研究)としてBMS患者と健康成人において、カプサイシン投与前後で疼痛強度をVASで評価したのち、各種味覚(甘味、塩味、酸味、苦味)のいずれがその疼痛強度を修飾しうるかを全口腔法により調べる(カプサイシン投与前の疼痛修飾はBMS患者のみ計測)。いずれかの味刺激で疼痛修飾がみられるようであれば、片側舌前方2/3、片側舌後方1/3、両側舌前方2/3、両側舌後方1/3にそれぞれ当該味刺激を加えて、その変化を主観的・定量的に観察し、BMS患者で医療用医薬品(GABAAサブユニット作動薬)の効果を定量観察する計画を立案した。

(2)第2の研究として、BMS患者においてストレスが疼痛にどのように関わっているかを明らかにする。BMSでは、閉経後の女性に好発することから、その病態に性ホルモンが関与することが示唆されており、性ホルモンは、neuroprotective steroids (NPS)として神経の保護に働くことが知られている。これらのGABAA受容体のサブユニット構成の変化はベンゾジアゼピン(BZD)への親和性も変化させる。そこで、BMSにおいてこのようなGABAA受容体のサブユニット構成の変化が症状にどのように関わりうるかという点を、ヒトと卵巣摘出(OVX)ラットを用い研究計画をたてた。OVXラットを作製して、舌粘膜表面の細径神経の状態を観察するとともに、疼痛関連運動を観察し、NPSと神経傷害の関係を検討する。クロナゼパム、 $\alpha$ 5-PAM、etifoxine、オキシトシンの薬剤をそれぞれ舌表面に局所塗布して疼痛逃避運動の変化を調査する。

### 2. 研究の目的

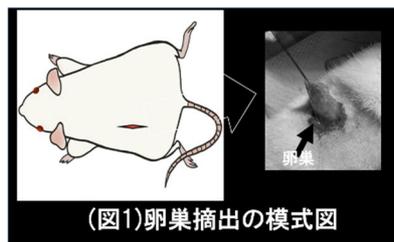
(1) BMS患者における味覚検出閾値と強度スケールに関する心理物理学的研究は、主観的な味の異常の臨床的所見を裏付けている。BMS患者は、健康な対照群と比較して、塩味や苦味の刺激の検出閾値が高く、純粋な甘い刺激の閾値も著しく上昇する。その他の味覚研究では、BMS患者は、蔗糖、クエン酸、塩化ナトリウム、および塩化キニーネ水溶液に対して、健康被検者群よりも感受性が低いことが示されている。最近、味覚感覚(鼓索神経)の機能障害は、中枢神経系(下降性疼痛抑制系)の破綻が口腔領域の灼熱感を引き起こす可能性が報告された。臨床研究の目的は、灼熱感のある部位での中枢感作質問票(CSI)スコアを適用して、一次性BMSと症候性のBMS(二次性BMS)を区別する鑑別診断として使用できるかどうかを評価した。さらに味覚閾値とCSIスコアおよび疼痛持続期間と疾患(一次性BMS vs 二次性BMS)の間の関連性を調査した。

(2) BMSは、閉経後の女性に好発するため、本疾患の発症には性ホルモンの関与が疑われる。近年、一次性BMS患者の茸状乳頭の神経線維は減少傾向を示すという報告がある。また卵巣を摘出(OVX)して性ホルモンを枯渇させたOVXラットでは、腔粘膜の厚さが減少し、粘膜を支配する感覚神経線維の有意な減少が見られたという報告もある。したがって神経線維の密度と舌痛に関係があると考えられるが詳細は不明である。よって本研究ではOVXラットを用いて疼痛閾値と舌の神経線維の変化を解析し、BMSの疼痛発症機構の一端を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

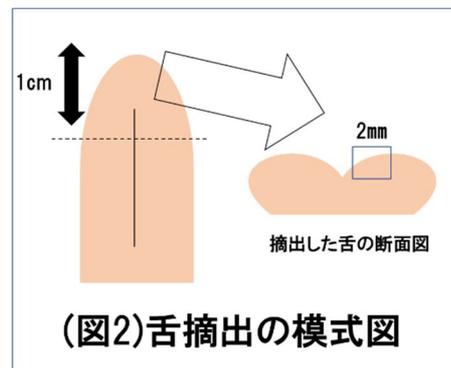
(1)一次性BMS患者26名(61.5+13.0歳)及び二次性BMS患者11名(65.8+10.4歳)(口腔扁平苔癬:6名、口腔カンジダ症:2名、Sjögren症候群:1名、甲状腺機能低下症:1名、舌線維腫+低亜鉛血症:1名)を対象に、病悩期間、初診時visual analogue scale(VAS)を聴取した。味覚検査用試薬を用い、全口腔法で甘味・塩味・酸味・苦味の認知閾値を測定した。味覚評価は、全口腔法を用いて実施した。味の溶液は、それぞれの溶液について5つの濃度段階(濃度1~5)で構成し、甘味は蔗糖、塩味は塩化ナトリウム、酸味は酒石酸、苦味はキニーネ塩酸塩を用いた。被検者に舌を前方に突き出し、舌の前方中央から約5cm上方に、溶液容器の先端を舌に直接触れないように配置された。低濃度から高濃度に向けて行われ、味覚を変える際には蒸留水でうがいを指示した。4種の甘味・塩味・酸味・苦味の認知閾値(最小濃度)を計算した。

(2) 動物研究は日本大学歯学部動物実験委員会の承認(AP19DEN010)を得て、雌性Sprague Dawleyラット(200-250g)を用いて行った。深麻酔下にてラットの両側背面を2cm切開し、卵巣を摘出して卵管を結紮したラットを卵巣摘出(ovariectomized:OVX)モデルとした(図1)。また卵巣の剖出のみを行ったものをShamモデルとした。行動学的観察としてSham処置の前(pre)、6、8、10、12、14日に、両群の舌に対し温度刺激装置



による温熱刺激およびフォーセップスを用いた機械刺激を加え、舌ひっこめ反射閾値 (tongue-withdrawal reflex threshold: TWT) を測定した。

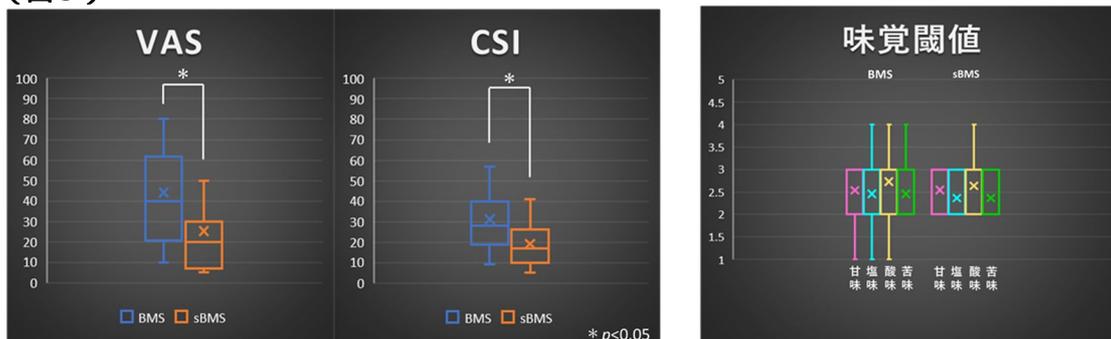
(3)免疫組織学的研究では OVX および Sham 処置後 7 日目に OVX および Sham ラットを生理食塩水で灌流し、舌尖 ~ 1 cm までの舌を摘出し、厚さ 30  $\mu\text{m}$  で舌組織切片を作製、舌正中溝から 2.0 mm の舌粘膜における茸状乳頭の神経線維を観察するため抗 Protein gene product (PGP) 9.5 抗体を用いて実施した(図 2)。また同部位における角化層から基底層までの厚さをランダムに 5 か所測定し、その平均値を比較検討した。



#### 4. 研究成果

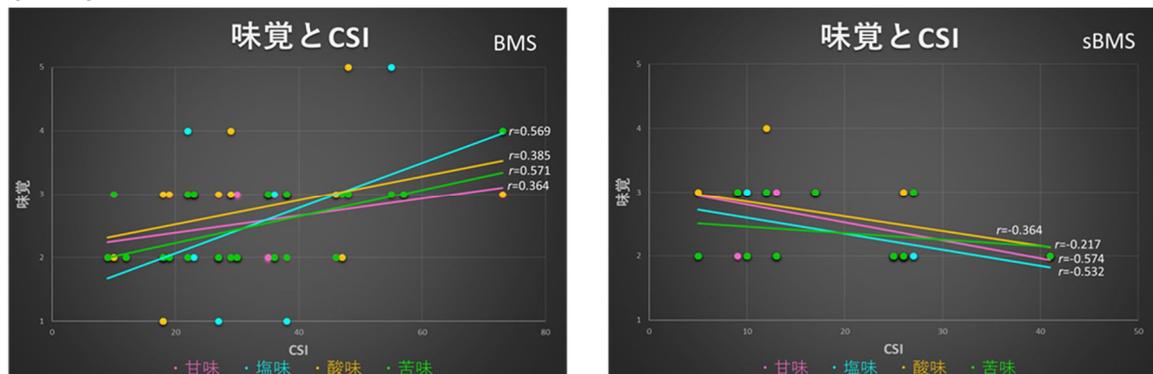
(1) VAS スコアと CSI スコアは、一次性 BMS 群と二次性 BMS 群とを比較して有意に高かった ( $p < 0.05$ )。4 種の味覚の基本的な閾値に関しては、一次性 BMS 群と二次性 BMS 群との間に有意な違いは見られなかった (図 3)。また、以下の変数 (変数: 年齢、疼痛持続期間、CSI、味覚溶液 (甘味・塩味・酸味・苦味)) についてスピアマンの相関分析を行った。一次性 BMS 群では、CSI と塩味と苦味の間には正の相関が見られ、甘さと酸味の間にも弱い正の相関が見られた。一方、二次性 BMS 群では、CSI と甘味と塩味の間には負の相関が見られ、酸味と苦味の間にも弱い負の相関が見られた (図 4)。一次性 BMS 群では、VAS は年齢と不快感の持続時間と正の相関がある。さらに、年齢と疼痛持続期間、および VAS と塩味の間にも弱い正の相関が見られた。二次性 BMS 群では、疼痛持続期間と CSI の間に正の相関があり、VAS は酸味と負の相関があった。また、年齢と酸味の間には弱い正の相関が見られ、VAS と CSI、疼痛持続期間、および年齢と塩味の間には弱い負の相関が見られた。以上のことから一次性 BMS は年齢・病悩期間が疼痛に影響を及ぼす可能性が高いことが示された。二次性 BMS と比較した場合の各味の味覚閾値に有意差がないものの、CSI との正の相関を認めることから、一次性 BMS 患者の味覚異常感には心因的側面が強いことが考えられた。

(図 3)



一次性 BMS 群・二次性 BMS 群間で、VAS と CSI に有意差が認められた。一方、基本 4 味の味覚閾値に有意差は認められなかった。

(図 4)



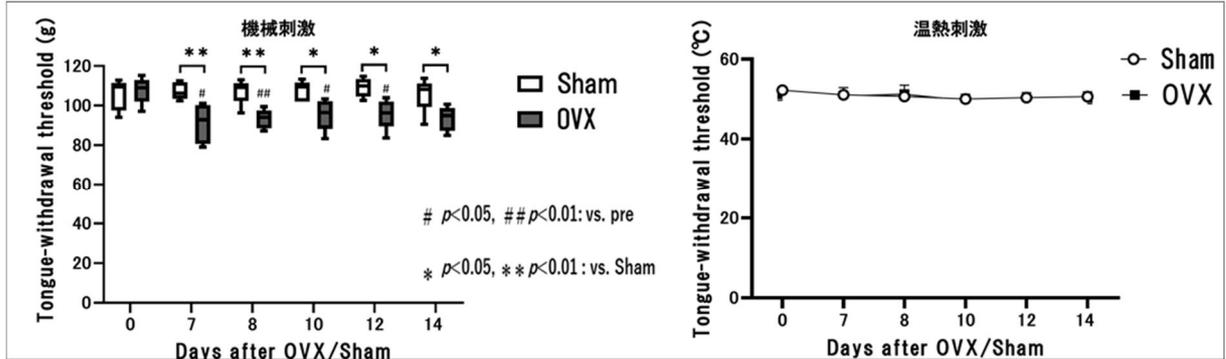
一次性 BMS 群では、CSI と塩味・苦味に正の相関を認め、甘味・酸味にも弱い正の相関を認めた。二次性 BMS 群では、CSI と甘味・塩味に負の相関を認め、酸味・苦味にも弱い負の相関を認めた。

(2)

### OVXによる舌の逃避反射閾値の変化

機械刺激では7日目、8日目では sham 群と比較し、OVX 群の舌逃避反射閾値が低下した ( $p < 0.01$ )。舌逃避反射閾値の低下は術後14日まで持続した(10日、14日までは  $p < 0.05$ )。また術前(pre)と比較して術後7日、14日まで舌逃避反射閾値が低下した。一方、温熱刺激ではOVX群とSham群において有意な差はみられなかった(図5)。

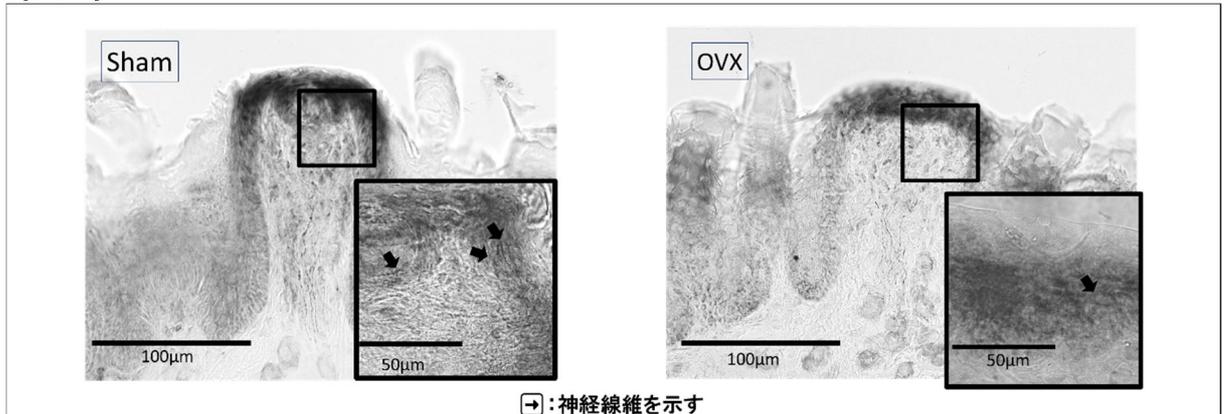
(図5)



### OVXによる茸状乳頭の神経線維の変化

免疫組織学的研究ではOVXおよびSham処置後7日目において舌組織切片をそれぞれ作製した。OVX群の舌粘膜上皮表層の細径神経線維はsham群と比較し減少、味蕾は萎縮していることが確認できた(図6)。

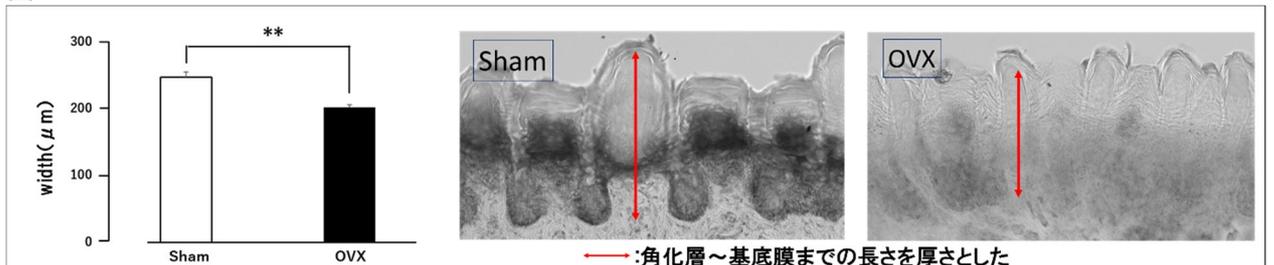
(図6)



### OVXによる舌粘膜上皮の厚さの変化

と同様にOVXおよびSham処置後7日目において舌組織切片をそれぞれ作製し、角化層~基底膜までの長さを舌粘膜上皮の厚さと定義した。OVX群の舌粘膜上皮の厚さはsham群と比較して、有意に低下した(図7)。

図7



(3) これまでの味覚研究によると、BMS患者の11~69%が味の異常を報告している(文献1)。BMS患者のうち、67~88%が原因不明の味覚を経験し、59~67%がdisgeusiaを報告している(文献1)。BMS患者によって報告される味覚異常には、苦い味、金属的な味、またはその両方の組み合わせが含まれている(文献1)。塩味、甘味、酸味、苦味の知覚に関する変化も観察されて

おり、例えば、酸味と苦味は通常より強く、甘味は弱く、塩味は強いが弱いかのいずれかとして知覚される場合がある。

味覚閾値と味覚強度に関する心理物理学的研究は、一次性 BMS における主観的な味覚異常の臨床的所見が支持されており、塩味と苦味の検出閾値が上昇していることが観察されている。BMS 患者は、蔗糖、クエン酸、塩化ナトリウム、水中に溶解されたキニーネ塩酸塩などのさまざまな味の溶液に対して、コントロール群よりも著しく感度が低いことが示されている。その他の BMS 研究では甘味、塩味、旨味、苦味の味認識閾値に影響はなかったが、酸味の味閾値は BMS グループで有意に高かったと報告している。本研究では、一次性 BMS 群と二次性 BMS 群間に甘味、塩味、酸味、苦味の味覚における有意な違いはみられなかった。一次性 BMS 群では、CSI が高い程、塩味および苦味の刺激の検出閾値が高くなることと正の関連が認められ、二次性 BMS 群では CSI と味の閾値の間に負の相関がみられた。電気味覚測定 (EGM) を用いた研究により、一次性 BMS 群における味覚系の機能低下が示され、一次性 BMS 群が味覚と鼓室神経の機能障害と関連しているという考えを支持する証拠が提示されている。Eliav らによる味覚研究では、一次性 BMS、二次性 BMS および健康被検者の間で電気味覚と刺す感覚の閾値が比較された (文献 2)。一次性 BMS 患者では、味覚検出閾値と平均電気味覚/刺す感覚閾値比率が他の 2 つのグループよりも著しく高いことが分かった。被験者間の味覚検出閾値の統一性はなかったものの、電気味覚/刺激検出閾値比率が臨床診断ツールとして有用であるとしている。さらに一側性鼓室神経の機能低下が中枢感作過程によって二側性の灼熱感を引き起こすのに十分であることを示唆している。

(4) 第 2 研究では OVX による性ホルモンの減少により、舌の機械アロディニアを呈する可能性が示された。また、舌粘膜上皮の茸状乳頭の感覚神経線維に減少傾向が見られ、粘膜上皮の厚さは有意に減少した。性ホルモンであるプロゲステロンはステロイドホルモンであり、主に卵巣から分泌される。プロゲステロンは神経保護作用や神経修復作用などの重要な作用を有している。BMS 患者のように高齢で閉経に至ると、プロゲステロンの合成が減少し、生理的変化が生じる。Jääskeläinen らは閉経によりステロイドホルモンが減少すると同時に副腎皮質ホルモンも減少し、これが神経保護作用の破綻を生じ、口腔灼熱痛の症状にいたることを報告した (文献 3)。以前、当講座で行った BMS 研究では舌に Tri-nitro Benzene Sulfate (TNBS) を塗布した BMS モデルラットを作製し行動学研究、免疫組織学研究を実施した (文献 4)。TNBS ラットの機械刺激に対する逃避閾値は有意に低下したが、温度刺激では変化はなく、本研究と同様の結果を得た。BMS モデルラットの舌表皮にはリンパ球の集積がほとんど認められず、炎症が生じている可能性は低い結果となった。卵巣摘出や TNBS 処置により、機械刺激に対する舌の痛覚過敏が生じ、性ホルモンが BMS 発症に関与している可能性が示唆された。動物実験ではラットにおいて異なる GABA サブユニット作動薬の効果の違いを観察するため、クロナゼパム (1、2 アゴニスト)、α5-PAM (5 アゴニスト)、etifoxine (アゴニスト、allosteric)、オキシトシン (アゴニスト) の薬剤をそれぞれ舌表面に局所塗布して疼痛逃避運動の変化を観察し、BMS 患者に有効な治療法を確立していきたい。

#### <引用文献>

- 1 . Grushka M, Sessle BJ, Howley TP, Psychophysical assessment of tactile, pain and thermal sensory functions in burning mouth syndrome, Pain, 28 巻、1987、169-184
- 2 . Eliav E, Kamran B, Schaham R, Czerninski R, Gracely RH, Benoliel R, Evidence of chorda tympani dysfunction in patients with burning mouth syndrome, J Am Dent Assoc, 138 巻、2007、628-33.
- 3 . Jääskeläinen SK, Woda A, Burning mouth syndrome, Cephalalgia, 37 巻、2017、627-647
- 4 . 関根 尚彦、卵巣摘出ラットにおける舌痛発症機構の検討、日本口腔顔面痛学会雑誌、12 巻、2019、25-31

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Wu S, Zhang W, Yan J, Noma N, Young A, Yan Z.	4. 巻 28
2. 論文標題 Worldwide prevalence estimates of burning mouth syndrome: A systematic review and meta-analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oral Dis	6. 最初と最後の頁 1431-1440.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.13868.	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Ozasa K, Noma N, Kobayashim M, Takizawa K, Young A, Eliav E, Imamura Y	4. 巻 36
2. 論文標題 Association between anxiety and descending pain modulation of thermal stimuli in patients with burning mouth syndrome: a cross-sectional study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Oral Facial Pain Headache	6. 最初と最後の頁 67-77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11607/ofph.3050.	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Ozasa K, Noma N, Young A, Korczeniewska OA, Eliav E, Imamura Y	4. 巻 17
2. 論文標題 Potential differences in somatosensory function during premenopause and early and late postmenopause in patients with burning mouth syndrome: An observational case-control study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Dent Sci	6. 最初と最後の頁 399-406.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jds.2021.08.010. Epub 2021 Sep 2.	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Nishihara C, Watanabe K, Ozasa K, Khan J, Eliav E, Imamura Y, Noma N.	4. 巻 26(8)
2. 論文標題 Altered pain modulation to noxious heat thermal stimuli in burning mouth syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Dis	6. 最初と最後の頁 1777-1782.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.13486.	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林桃代、岡田明子、野間昇、篠田雅路
2. 発表標題 卵巣摘出ラットにおける舌痛発症機構の検討
3. 学会等名 第27回日本口腔顔面痛学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小笹 佳奈, 篠崎 貴弘, 今村 佳樹, 野間 昇
2. 発表標題 自律訓練法介入によるBMS患者の口唇および前腕部のconditioned pain modulation効果に及ぼす影響
3. 学会等名 第44回日本疼痛学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小笹 佳奈、野間 昇、西原 千紗、渡邊 広輔、田中 玲那、加茂 博士、今村 佳樹
2. 発表標題 熱条件刺激によるBMS患者の口唇部および前腕部のconditioned pain modulation効果
3. 学会等名 第25回 一般社団法人 日本口腔顔面痛学会総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野間 昇、小笹 佳奈、今村佳樹
2. 発表標題 熱条件刺激によるBMS患者のconditioned pain modulationの変調
3. 学会等名 第42回日本疼痛学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野間昇
2. 発表標題 口腔顔面痛の薬物療法 -現状と展望-
3. 学会等名 第25回 一般社団法人日本口腔顔面痛学会総会・学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020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

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