

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21592583

研究課題名（和文） 口腔急性疼痛の心筋への影響に関する研究

研究課題名（英文） Effect of acute pain stimulation for mouth floor on myocardium

研究代表者

杉岡 伸悟 (SUGIOKA SHINGO)

大阪歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：90278573

研究成果の概要（和文）：

口腔顔面痛を再現できるモデルは多く報告されているが、急性痛による全身への影響を念頭に置いたモデルについては提唱されていない。我々は、モルモット心筋虚血再灌流モデルを用いて、麻酔薬等の影響を検討してきたが、今回はモルモット口腔内電気刺激による侵害刺激が疼痛反応を惹起し得るか否かを検討する目的で、脳波変化ならびに三叉神経脊髄路核における phospho-extracellular signal-regulated kinase (pERK) 発現を観察した。モルモット三叉神経脊髄路角の連続切片を用いて、pERK 免疫組織化学染色を行い、同部位での反応を光学顕微鏡で観察した。2%、4%セボフルラン麻酔状態のモルモットは、いずれも口腔底への電気侵害刺激により SEF (spectral edge frequency) 95 の上昇を認め (P<0.05)、さらに 2min の侵害刺激で三叉神経脊髄路核への pERK の発現も観察された。電気刺激は炎症等を伴わない純粋な侵害刺激として捉えられているが、今回の結果からはモルモット急性口腔顔面痛モデルの作成が十分可能と考えられ、現在このモデルを用いた心筋への影響を検討中である。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the effect of acute pain stimulation for mouth floor on expression of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in the spinal nucleus of trigeminal nerve using immunohistochemical staining. Electrical noxious stimulation for mouth floor for 2 min increased spectral edge frequency 95 on electroencephalography accompanied by increased phosphorylation of ERK in the spinal nucleus of trigeminal nerve. This model can be applied to evaluate the effect of acute pain stimulation for mouth floor on cardioprotection by remote preconditioning in the future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
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：口腔急性疼痛・心筋虚血再灌流障害・リモートプレコンディショニング

1. 研究開始当初の背景

近年の高齢化社会により、基礎疾患である高血圧、虚血性心疾患、不整脈などの循環器

系疾患を有する患者が急増し、歯科治療の際に、基礎疾患の増悪により重篤な状態に陥り、中には死に至ることもある。このような致死

的合併症を如何に防ぐかが急務である。しかし、口腔領域における疾患の代表的な徴候である疼痛が、虚血心筋や循環動態に与える影響について検討された研究はないが、関連痛として心筋虚血のサインが口腔痛として表現されることもあり、口腔領域と全身状態との相互関係における詳細な検討が必要であると考えられる。

我々はこれまで Ischemic Preconditioning (PC:長時間虚血前の反復する短時間虚血再灌流が、続発する長時間虚血による心筋梗塞巣を劇的に縮小する現象)による心筋代謝の改善 (Circulation 1993, Exp Clin Cardiol 2003) および、慢性軽度～中等度のアルコール摂取による虚血心筋保護作用が PC に匹敵し (Proc Natl Acad Sci USA 1997)、その機序として ϵ protein kinase C (ϵ PKC)が関与すること (Proc Natl Acad Sci USA 1998)などを報告した。また麻酔領域では、イソフルランやセボフルランなどの揮発性吸入麻酔薬が心筋に対して PC 様の虚血心筋保護効果を有するとの報告が多いことを受け、これらのアルコールによる保護作用が、セボフルランによって増強され、その機序として PKC ならびにミトコンドリア K_{ATP} チャンネルの関与を解明し、両者の相乗による有益性を報告した (Anesth Analg, 2008; 106: 9-16)。これら心筋保護作用のメカニズムとしての詳しい細胞内シグナル伝達は不明である。そこで我々は、これらの観点ならびに経験から、口腔領域における疼痛、とくに急性痛が虚血心筋ならびに再灌流障害に与える影響を検討し、心機能についてどのような影響を及ぼしているのかを明らかにしたい。さらに、揮発性麻酔薬セボフルランによる相乗的な影響も観察し、口腔急性疼痛を有する循環器系疾患の患者に対して、最も有益な麻酔法や維持濃度なども明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

循環器系疾患をはじめとする基礎疾患を有する患者が歯科治療に際し、基礎疾患の増悪により重篤な状態に陥り、中には死に至ることもある。このような致死合併症を如何に防ぐかが急務であるが、口腔領域における疾患の代表的な徴候である疼痛が、虚血心筋や循環動態に与える影響について検討された研究はない。逆に、関連痛として心筋虚血のサインが口腔痛として表現されることもあり、口腔領域と全身状態との相互関係における詳細な検討が必要であると考えられる。我々はこれまで吸入麻酔薬をはじめとする薬物による preconditioning (PC) のメカニズムについて検討してきた。口腔領域における疼痛、とくに急性痛が虚血心筋ならびに再灌流障害に与える影響を検討し、その影響が心機能についてどのような影響を及ぼしているのかを

明らかにする事を目的とする。

3. 研究の方法

セボフルランにより麻酔した雄性成熟モルモットを用い、気管切開後にレスピレータを用いて人工呼吸を行った。静脈路を確保してベクロニウム持続投与下に左右頭頂部から脳波を導出し、連続記録した。侵害刺激として口腔底への電気刺激を選択し、generator を使用して 100Hz, 5-10V, 15min の刺激を与え、麻酔状態からの脳波覚醒変化を spectral edge frequency 95% (SEF 95) を算出することで評価した。さらに、別モデルで 2min のみ電気刺激を与えてから 4%ホルマリン灌流固定を行った、モルモット三叉神経脊髄路角の連続切片を用いて、pERK 免疫組織化学染色を行い、同部位での反応を光学顕微鏡で観察した。

4. 研究成果

2%, 4%セボフルラン麻酔状態のモルモットは、いずれも口腔底への電気侵害刺激により SEF 95 の上昇を認め ($P < 0.05$)、さらに 2min の侵害刺激で三叉神経脊髄路核への pERK の発現も観察された。電気刺激は炎症等を伴わない純粋な侵害刺激として捉えられているが、今回の結果からはモルモット急性口腔顔面痛モデルの作成が十分可能と考えられ、今後、同モデルを用いた全身への影響を検索できる可能性が示唆された。

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 4 件)

① INAMURA Y, MIYAMAE M, SUGIOKA S, DOMAE N, KOTANI J. Sevoflurane postconditioning prevents activation of caspase 3 and 9 through antiapoptotic signaling after myocardial ischemia-reperfusion. J Anesth 2010 ; 24 : 215-224. 査読有

② OKUSA C, MIYAMAE M, SUGIOKA S, KANEDA K, KOTANI J. Activation of extracellular signal-regulated kinase after ischemia-reperfusion is required for cardioprotection of sevoflurane-induced preconditioning. J Osaka Dent Univ 2009 ; 43 : 1-10. 査読有

③ OKUSA C, MIYAMAE M, SUGIOKA S, KANEDA K, INAMURA Y, ONISHI A, DOMAE N, KOTANI J, FIGUEREDO VM. Acute memory phase of sevoflurane preconditioning is associated with sustained translocation of protein kinase C- α and ϵ , but not δ ,

in isolated guinea pig hearts. Eur J Anaesthesiol 2009 ; 26 : 582-588. 査読有

④ INAMURA Y, MIYAMAE M, SUGIOKA S, KANEDA K, OKUSA C, ONISHI A, DOMAE N, KOTANI J, FIGUEREDO VM. Aprotinin abolishes sevoflurane postconditioning by inhibiting nitric oxide production and phosphorylation of protein kinase C- δ and glycogen synthase kinase 3 β . Anesthesiology 2009 ; 111 : 1036-1043. 査読有

[学会発表] (計 18 件)

① SUGIOKA S. DAM algorithm and dental consideration. The 4th Annual Meeting of Federation of Asian Dental Anesthesiology Societies, 2011.10.8, 神戸国際会議場 (神戸市)

② Mei X-P, Zhang H, Xu L-X, Fang Y-R, SUGIOKA S, KOTANI J. Post-injury administration of minocycline: an effective treatment for nerve-injury. The 4th Annual Meeting of Federation of Asian Dental Anesthesiology Societies, 2011.10.8, 神戸国際会議場 (神戸市)

③ NAKATSUKA M, SUGIOKA S, INUI-YAMAMOTO C, KOTANI J, IWAI Y. Nociceptive oral mucosa induce microglial activation in the trigeminal subnucleus caudalis. The 4th Annual Meeting of Federation of Asian Dental Anesthesiology Societies, 2011.10.8, 神戸国際会議場 (神戸市)

④ KANEDA K, MIYAMAE M, SUGIOKA S, OKUSA C, INAMURA Y, ONISHI A, SHIOMI M, OKAMURA S, DOMAE N, FIGUEREDO VM, KOTANI J. Cardioprotection by regular ethanol consumption is mediated through the bradykinin B2 receptor through increased nitric oxide production. American Heart Association Scientific Sessions 2010, 2010.11.17, Chicago, USA.

⑤ 金田一弘, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 大草知佳, 稲村吉高, 大西杏奈, 塩見真由美, 岡村 静, 堂前尚親, 小谷順一郎. 慢性中等度エタノール摂取は nitric oxide 産生を増加させた心筋プレコンディショニング様作用を発現する. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010.10.9, 横須賀芸術劇場 (横須賀市)

⑥ 大西杏奈, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 金田一弘, 大草知佳, 稲村吉高, 塩見真由美, 岡村 静, 堂前尚親, 小谷順一郎. セボフルランによる

エタノールプレコンディショニング増強効果は PI3 kinase-AKT-glycogen synthase kinase 3 β pathway を解する. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010.10.9, 横須賀芸術劇場 (横須賀市)

⑦ 大草知佳, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 金田一弘, 稲村吉高, 大西杏奈, 塩見真由美, 岡村 静, 堂前尚親, 小谷順一郎. ジピリダモール, セボフルラン, NO 供与薬による心筋プレコンディショニングの比較および相互作用. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010.10.9, 横須賀芸術劇場 (横須賀市)

⑧ 杉岡伸悟, 宮前雅見, 松田佳子, 讃岐拓郎, 金田一弘, 大草知佳, 稲村吉高, 大西杏奈, 塩見真由美, 岡村 静, 堂前尚親, 小谷順一郎. モルモット口腔内侵害刺激における脳波変化と三叉神経脊髄路核における pERK の発現. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2010.10.8, 横須賀芸術劇場 (横須賀市)

⑨ 大西杏奈, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 金田一弘, 堂前尚親, 小谷順一郎. セボフルランは慢性中等度エタノール摂取による心筋プレコンディショニング効果を glycogen synthase kinase 3 β のリン酸化を介して増強する. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会, 2010.6.4, 福岡国際会議場 (福岡市)

⑩ 稲村吉高, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 大西杏奈, 堂前尚親, 小谷順一郎. セボフルランによるポストコンディショニングは虚血再灌流後の Akt, ERK の活性化を介してカスパーゼ 3, 9 を減弱させる. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会, 2010.6.4, 福岡国際会議場 (福岡市)

⑪ 大草知佳, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 稲村吉高, 堂前尚親, 小谷順一郎. ジピリダモール, nitric oxide 供与薬による心筋プレコンディショニングの比較および相互作用. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会, 2010.6.4, 福岡国際会議場 (福岡市)

⑫ 金田一弘, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 大草知佳, 堂前尚親, 小谷順一郎. 慢性中等度エタノール摂取による心筋プレコンディショニング様作用への bradykinin 受容体の関与の検討. 日本麻酔科学会第 57 回学術集会, 2010.6.4, 福岡国際会議場 (福岡市)

⑬ ONISHI A, MIYAMAE M, SUGIOKA S, DOMAE N, FIGUEREDO VM, KOTANI J. Sevoflurane enhances moderate dose ethanol-induced preconditioning by augmenting

phosphorylation of glycogen synthase kinase 3 β in isolated guinea pig hearts. International Anesthesia Research Society 2010 Annual Meeting, 2010.3.20, Hawaii, USA.

⑭ 稲村吉高, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 堂前尚親, 小谷順一郎. セボフルランによるポストコンディショニングは虚血再灌流後の抗アポトーシスシグナル伝達経路を介してカスパーゼ 3, 9 の活性を防げる. 第 521 回大阪歯科学会例会, 2009.12.12, 大阪歯科大学 (枚方市)

⑮ 稲村吉高, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 金田一弘, 大草知佳, 大西杏奈, 堂前尚親, 小谷順一郎. セボフルランによる心筋ポストコンディショニングは虚血再灌流後の nitric oxide 産生を上昇させる. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009.10.9, 名古屋国際会議場 (名古屋市)

⑯ 大草知佳, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 金田一弘, 稲村吉高, 大西杏奈, 堂前尚親, 小谷順一郎. ジピリダモール摂取はセボフルランと同程度の心筋プレコンディショニング作用を有する. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009.10.9, 名古屋国際会議場 (名古屋市)

⑰ 大西杏奈, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 金田一弘, 大草知佳, 稲村吉高, 堂前尚親, 小谷順一郎. セボフルランは慢性中等度エタノール摂取による心筋プレコンディショニング効果を glycogen synthase kinase 3 β のリン酸化を介して増強する. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009.10.9, 名古屋国際会議場 (名古屋市)

⑱ 金田一弘, 宮前雅見, 杉岡伸悟, 大草知佳, 稲村吉高, 大西杏奈, 堂前尚親, 小谷順一郎. 慢性中等度エタノール摂取による心筋プレコンディショニング様作用には bradykinin 受容体が関与する. 第 37 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009.10.9, 名古屋国際会議場 (名古屋市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉岡 伸悟 (SUGIOKA SHINGO)
大阪歯科大学・歯学部・講師
研究者番号: 90278573

(2) 研究分担者

宮前 雅見 (MIYAMAE MASAMI)
大阪歯科大学・歯学部・講師
研究者番号: 20298821

小谷順一郎 (KOTANI JUNICHIRO)
大阪歯科大学・歯学部・教授
研究者番号: 40109327

堂前尚親 (DOMAE NAOCHIKA)
大阪歯科大学・歯学部・名誉教授
研究者番号: 60115889

金田一弘 (KANEDA KAZUHIRO)
大阪歯科大学・歯学部・研究員
研究者番号: 90533886

(3) 連携研究者

なし