様式Ｃ－１９

# 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２５年　５月　１０日現在

機関番号：12602
研究種目：基盤研究（Ｃ）
研究期間：2010～2012
課題番号：22592117
研究課題名（和文）　先天性無痛無汗症患者の歯髄感覚と歯髄神経支配との関連

研究課題名（英文）　Relations between sensation and innervation of dental pulp in patients with hereditary sensory and autonomic neuropathy(HSAN).

研究代表者
三輪　全三（MIWA ZENZO）
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師
研究者番号：30157705

研究成果の概要（和文）：歯の感覚を歯髄電気診(EPT)により測定したところ、先天性無痛無汗症(HSAN-Ⅳ型)では、pre-pain(pp)感覚が無いが、先天性無痛症(HSAN-Ⅴ型)では、健常者と同じように pp 感覚があった。 患者の智歯等の抜去歯の歯髄神経組織を免疫染色法等にて観察した。Ⅳ型では陽性に染まる有髄神経線維および無髄神経線維はほとんど観察されなかった。Ⅴ型では多く観察されたが、健常者よりは少ない。先天性無痛無汗症(Ⅳ型)の歯が電気診に感じないことの理由は、この神経線維の減少が理由と思われる。

研究成果の概要（英文）：By electrical pulp tester (EPT), patients with hereditary sensory and autonomic neuropathy (HSAN-Ⅳ) cases did not feel any sensation at all in their teeth, but HSAN-Ⅴ cases felt the pre-pain sensation similar to a normal person. Only a few myelinated fibers were observed in HSAN-Ⅳcases, on the other hand, many fibers were identified in the dental pulp of patients with HSAN-Ⅴ. The present result shows that remarkably reduced pulpal innervation might induce congenital insensitivity to pain in HSAN-Ⅳ.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合　計 |
|---|---|---|---|
| 2010 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2011 年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 2012 年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総　計 | 2,900,000 | 870,000 | 3,770,000 |

研究分野：小児歯科学
科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学
キーワード：　先天性無痛無汗症・歯髄電気診(EPT)・pre-pain 感覚・神経支配・免疫染色法・透過光光電脈波法(TLP)

１．研究開始当初の背景

先天性無痛無汗症は、全身性の痛覚・温度感覚障害、無汗症および知能障害を主徴とする遺伝性の疾患である。類似疾患の総称としての遺伝性感覚・自律神経ニューロパチー(Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathy; HSAN)は５つの型に分類されているが、このうち痛覚も発汗も無い典型的なⅣ型(先天性無痛無汗症 Congenital Insensitivity to Pain with Anhidrosis : CIPA) と、痛覚は無いが発汗はあるⅤ型(先天性無痛症 Congenital Insensitivity to Pain : CIP)が国内では多く報告されている。

研究代表者の三輪は本疾患の患者を３症例担当しているが、舌や口唇、頬粘膜の咬傷、潜行性う蝕、自己抜歯など、痛覚の欠如が原因で生じる歯科的に重篤な問題点を多く経験し、患者の治療や口腔ケアにおいて早急な対策を講じ、他に同様な症例を抱える医師らにも情報を広く提供する必要を感じた。患者の歯の感覚閾値測定のみならず、提供された生活歯（咬傷予防のための抜歯、自己抜去した歯、智歯など）の神経支配も観察し、生理学、解剖学の両側面から歯の痛覚（もしくはpre-pain感覚）のメカニズムを解明していく必要があると思われ、本研究を開始した。

以前より参画している無痛無汗症の会（登録患者数 70 名以上）において患者、家族、専門家（医療者）間の信頼関係も築かれており、治療法やケアの確立のためには基礎データー提供（歯の感覚閾値測定、抜去歯の組織観察など）に協力して頂ける患者や家族も多く、この研究を進めるきっかけとなった。

２．研究の目的

先天性無痛無汗症（HSAN Ⅳ型）と、先天性無痛症（HSAN Ⅴ型）では、仁平ら(1995)の報告では抹消神経支配が異なるとされている。すなわち、Ⅳ型では Aβ線維は存在するが C 線維と Aδ線維は欠如し、Ⅴ型では Aβ線維と C 線維は存在するが、Aδ線維は欠如しているとされている。歯も同じような神経支配であるとすれば、この疾患の患者の歯では痛覚は無いが、Aβ線維が存在するのでそれ以下で誘発する pre-pain 感覚はⅣ型もⅤ型も存在するという仮説が成り立つ。これを立証するために、EPT による患者の歯の感覚検査と提供された抜去歯の歯髄神経分布の観察を行うことで、歯の pre-pain 感覚の伝達機序を考察することであった。

３．研究の方法

（１）歯髄感覚の閾値測定

毎年、開催される無痛無汗症患者と各科専門家の集まる検診会とシンポジウムにおいて、研究代表者の三輪が研究目的を説明し同意の得られた患者に対して、歯科検診と一緒に電気歯髄診断(EPT: Electrical Pulp Test)を Pulp Vitality Tester (Analytical Technology Inc. USA)にて、上顎中切歯のpre-pain(pp)感覚閾値を測定した。すなわち、患者にとって痛覚ではなく何らかの感覚pre-pain(pp) を感じる EPT 値を、Ⅳ型 17 人（6-33 歳）、Ⅴ型５人（11-21 歳）について測定した。患者の歯に侵襲刺激を与えないために、Ⅳ型では健常者が感じるであろうpre-pain の最大閾値である 50 程度で、Ⅴ型については実際にpre-painを感じた値30-50程度で通電をやめている。また、精神発達遅滞が重度な患者は返答が曖昧なため、被験者からは除いた。

（２）抜去歯の歯髄組織観察

患者の同意のもとに提供された抜去歯は、あらかじめザンボニン固定液の入った試料瓶を渡しておくか、冷蔵保存直後に受け取りザンボニン固定液に入れるようにした。可及的に早く分担研究者の佐藤に送付して、組織標本作製を開始した。患者から直接送付された歯もかなりあったが、保存方法や送付方法に問題があり、残念ながら試料として使用できなかったものも多い。

抜去歯標本（埋伏歯、便宜抜去歯、智歯など生活歯を中心に 10 本）の解析は、神経線維の検出に有効な染色法を用いて行った。通法の HE 染色に加えて、神経線維全般を染色する鍍銀染色法、有髄神経を選択的に検出するルクソールファスト青染色法、さらにPGP9.5、βⅢtubulin に対する抗体による免疫組織化学法を行った。

４．研究成果

（１）歯髄感覚の閾値測定

症型ごとの閾値は表１に示したとおり、１人の例外を除いて、Ⅳ型とⅤ型で傾向が明確に異なることが分かった。すなわち、Ⅳ型ではAβ線維が存在するから、痛覚はなくても、pre-pain は感じるであろうという予想と異なり、全く何も感じなかった。Ⅴ型ではpre-pain 感覚の閾値は健常者と同程度であったが、許容電流値の範囲では歯に痛覚を感じたものはいなかった。

| Type | N | Pre-pain | | Innervation | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | no | yes | lack | existence |
| Ⅳ | 17 | 16 | 1 | C, Aδ | Aβ |
| Ⅴ | 5 | 0 | 5 | Aδ | C, Aβ |

表 1　歯髄電気診(EPT)による感覚

（２）抜去歯の歯髄組織観察

健常者の歯髄（図１）には、どの染色法にでも明確に染まる、太い有髄線維(1a,b)や細い無髄線維(1c)が豊富に観察されるが、先天性無痛無汗症（Ⅳ型）の歯髄（図２）では少数の太い有髄線維が鍍銀染色法で観察されるのみであった(2a)。しかしながら、これらの神経線維はβⅢtubulin に対する抗体を用いた免疫組織化学法では陰性であった(2b)。一方、βⅢtubulin 陽性の線維（2c）も認められることから、先天性無痛無汗症（Ⅳ型）の患者では神経線維の軸索輸送能の低下も起きている可能性が示唆された。

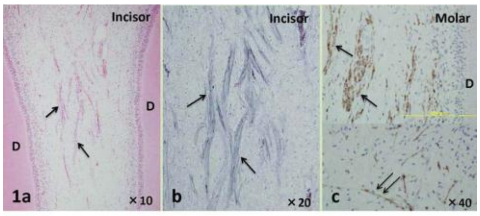

図 1 健常者

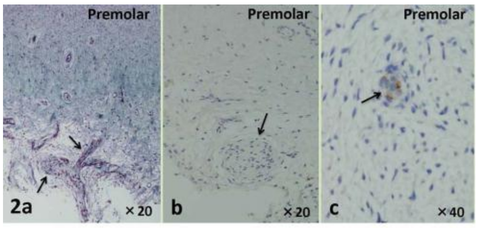

図 2 先天性無痛無汗症（HSANⅣ型）

先天性無痛症（Ⅴ型）の歯髄（図３）では、健常者の歯髄と同様、どの染色法にても太い有髄線維(3a,b,c)や細い無髄線維(3d)が観察されるが、健常者よりも神経線維の数は減少している。神経線維の種別Aβ、Aδ、C線維等の識別については、電顕による直径などの測定が必要であるが、少なくとも有髄線維（Aβ線維、Aδ線維）と無髄線維（C 線維）両者が存在している。

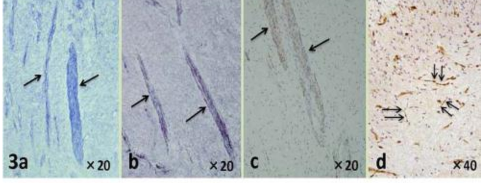

図 3 先天性無痛症（HSANⅤ型）

患者から提供された歯の数も少なく、また資料の固定、脱灰、包埋、染色、観察標本作成までの行程に少なくとも２～３ヶ月を要するため、結果として目標の数（Ⅳ型とⅤ型を 10 歯ずつ）には及ばなかったが、今回の研究で概ねⅣ型とⅤ型の神経支配の相違が把握できた。

すなわち、Ⅳ型では、太い有髄線維は観察されたとしても僅かであり、機能していない可能性もある。Ⅴ型では、健常者のように太い有髄線維も細い無髄線維も観察されるが、観察できる神経線維の総量は健常者の歯と比較するとかなり少ない。仁平らの腓腹神経の観察と我々の歯髄神経の観察は必ずしも同じとは言えないが、両型とも痛覚がなく、Ⅴ型のみ pre-pain 感覚があることの理由として､痛覚を伝達するC線維およびAδ線維、pre-pain を伝達するAβ線維の有無と分布密度、軸索機能が大きく関連していると思われた。

患者から提供された歯は歯髄が失活していたものも多く、このような歯では歯髄神経の観察は無意味であるが、健常者の歯と比較したところ、歯髄の石灰化が多く観察された。このことから、分担研究者の鶴見大学佐藤の指導で Suzuki K. と Kuroda N. は、無痛無汗症を想定した実験モデルとしてラットの下歯槽神経の切断により歯髄の神経支配の減少が見られ、象牙芽細胞に形質転換を誘導し、歯髄に骨様硬組織を促すという結果を得た。

Ⅳ型患者の歯髄感覚は全く無いことが、今回の調査で把握できていたため、研究代表者が担当している骨髄炎を発症したⅣ型患者（11 歳女子）の歯を現在開発中(特許取得H24.1.20)の透過型光電脈波測定装置(TLP)にて測定したところ、電気歯髄診(EPT)では不可能であった生死の診断が、TLP では可能であり、抜去すべき失活歯を断定できたことは成果の一つである。

また、Ⅳ型とⅤ型の鑑別診断は遺伝子診断が最も確実であるが、必ずしも実施できる病院は多くはない。これまでは、発汗や精神発達遅滞、自傷癖の有無、他の臨床所見から診断していたが、今回、歯の電気診(EPT)により、１例を除いて検査結果が型ごとにすべて同じであったために、本法も鑑別診断する際の決め手になる、と医科の専門家から注目されたことも成果である。

もし歯髄に Aβ線維が多く観察されているのにもかかわらず pre-pain を感じていないなら，pre-pain の発生機序がAβ線維ではなく C 線維という仮説も成り立つが，今回，pre-pain を全く感じないⅣ型の歯髄の組織観察においては神経線維そのものが非常に少ないという結果であり，やはり pre-pain は太い有髄線維由来の感覚の可能性であることも否定できない。さらに、資料を増やして観察を続け、歯の pre-pain 感覚の伝達機

序を解明していく予定である。

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）

〔雑誌論文〕（計３件）

① Haga N., Kubota M., Miwa Z.: Epidemiology of hereditary sensory and autonomic neuropathy type IV and V in Japan. Am J Med Genet A. 査読有、161A:871-874,2013. DOI:10.1002/ajmg.a.35803
② 三輪全三、柿野聡子、 上原奈緒子、 土橋なつみ、今村由紀、 高木裕三、 黒原一人: 先天性無痛無汗症児に発症した下顎骨骨髄炎の１例、小児歯科学歯誌、査読有、49(1):41-46,2011. http://search.jamas.or.jp/link/ui/2011210449
③ Suzuki K., Kuroda N.: Amputation of inferior alveolar nerve stimulates the formation of bone-like structures in the dental pulp of rats, Tsurumi Univ. Dent. J.査読有、37:9-18,2011.


〔学会発表〕（計６件）

① Miwa Z., Kubodera T., Ikeda M., Inoue K,, Sato T.: Sensation and Innervation of Dental Pulp in Patients with CIPA, 21th International Association for Disability and Oral Health (IADH), 2012 年 10 月 28 日～31 日、Melbourne (Australia).
② Tsuchihashi N., Uehara N., Miwa Z., Takagi Y., Sugimoto K.: Perception of pungent, taste and odor stimuli in the patients with congenital insensitivity to pain with anhidrosis(CIPA). 16th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT). 2012年6月23～27日、Stockholm (Sweden).
③ 上原奈緒子、土橋なつみ、三輪全三、高木裕三、杉本久美子：先天性無痛（無汗）症における味覚および辛味感覚の感受性について、第58回小児保健協会学術大会、2011年9月2日、名古屋.
④ 三輪全三：宿題委託研究報告、先天性無痛無汗症ライフステージに即した歯科的支援―実態把握とガイドライン作成を目指して―、先天性無痛無汗症の歯髄感覚と歯髄神経分布、第28回日本障害者歯科学会、2011年11月6日, 博多.
⑤ 三輪全三、柿野聡子、他: 下顎骨骨髄炎を発症した先天性無痛無汗症の腐骨範囲の決定に TLP(透過光光電脈波法)が有効であった１例、秋季日本小児歯科学会、2010年12月2日, 郡山.
⑥ Miwa Z., Kakino S., Sato T., et al: Objective pulp vitality test in a patient with CIPA using transmitted-light plethysmography, 20th International Association for Disability and Oral Health (IADH), 2010年8月28日, Ghent(Belgium).


〔図書〕（計１件）

① 三輪全三：先天性無痛無汗症、口から診える症候群・病気、池田正一、黒木良和監修、日本障害者歯科学会編、2012. p114～115.


〔産業財産権〕
○取得状況（計１件）
名称：歯髄腔内血液測定方法、装置及び歯髄腔内血液測定用アダプタ
発明者：三輪全三、柿野聡子、井川資英、高谷節雄、大内克洋、星　英男、高木裕三、桐本明子
権利者：国立大学法人 東京医科歯科大学
種類：特許
番号：特許第4909904
取得年月日：２４年１月２０日
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等
東京医科歯科大学産学連携推進本部　シーズ集一覧
http://www.tmd.ac.jp/tlo/visitor/ip/seeds/

６．研究組織
(1)研究代表者

三輪　全三（MIWA ZENZO）
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師
研究者番号：30157705


(2)研究分担者

佐藤　哲二（SATO TETSUJI）
鶴見大学・歯学部・教授
研究者番号：10162447


(3)連携研究者

柿野　聡子（KAKINO SATOKO）
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：30516307

井上孝二（INOUE　KOUJI）
鶴見大学・歯学部・助教
研究者番号：40097308