

## 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31日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592229

研究課題名（和文） 精神的ストレスが口腔神経因性疼痛に与える影響と唾液腺における BDNF 発現について

研究課題名（英文） Neuropathic pain and psychological stress: special reference to the BDNF expression on salivary gland

## 研究代表者

太田 嘉英 (OTA YOSHIHIDE)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：60233152

## 研究成果の概要（和文）：

①ラットのストレスモデル(immobilization stress)において中枢神経における NGF, BDNF NT-3 の発現が抑制されるという報告 (Ueyama T, et al. Neurosci Res. 1997; 28, :103-110.) より、ストレスにともなう唾液腺内の BDNF mRNA 発現の変化を検討した。

②当科で手術を行う患者を対象に、周術期の精神状態と疼痛スコアを採取し検討を行った。予後のよい良性疾患では術後に精神状態の改善を示すが、悪性腫瘍患者のなかには、術後に抑うつ状態を示す患者も散見され、疼痛の遷延や機能障害の大きさに比例する傾向も認められた。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the neuropathic pain and psychological outcome of patients following oral surgery.

## 交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,200,000 | 360,000 | 1,560,000 |
| 2011年度 | 900,000   | 270,000 | 1,170,000 |
| 2012年度 | 500,000   | 150,000 | 650,000   |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総計     | 2,600,000 | 780,000 | 3,380,000 |

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：神経因性疼痛、精神的ストレス、BDNF、唾液腺、口腔

## 1. 研究開始当初の背景

痛みを伝える一次ニューロンは後根神経節・三叉神経節の細胞であり、その情報は脊髄後角・三叉神経脊髄路核などに伝えられさまざまな修飾を受ける。近年、神経自体の損傷によって生じる neuropathic pain の発生機序の研究が進み、特に神経損傷後に起こる中枢神経の機能異常、いわゆる central sensitization が注目されている。末梢から C

fibers を通じた侵害入力、1 次侵害性ニューロンに伝わり、興奮性神経伝達物質産生され、2 次ニューロンの鋭敏度が変化し、aspartate、glutamate などの興奮性アミノ酸が分泌され、N-methyl-D-aspartic acid (NMDA)受容体を興奮させる。これによりカルシウムイオンの流入が促進し slow prolonged potentiation が生じ慢性疼痛が生じることが報告されている。このように、痛

みは単なる受動的な情報ではなく、機能的変化や immediate early gene である *c-fos* などの遺伝子発現をもたらし、慢性的な痛みの病態を作り出すと考えられている。

近年、このようにして生じる central sensitization・慢性疼痛に、中枢神経における cyclooxygenase (COX)-2 の発現が関与していることがわかった (Samad TA, et al. Nature 410, 471-5, 2001.)。そこで、われわれは、三叉神経領域における慢性疼痛に NMDA や COX-2 発現が関与している可能性に注目し、NMDA antagonist や COX-2 inhibitor の先制鎮痛効果について検討を行ってきた (Ota Y, et al. Int J Oral Maxillofac Surg. 2006; 35:613-7.)。その実験過程で、末梢神経損傷により神経ペプチドである CGRP (calcitonin gene related peptide) が増加することや、この発現制御に神経栄養因子群の NGF (nerve growth factor) や BDNF (brain derived neurotrophic factor) が働き、ニューロンの発生・分化・生存に重要な役割を果たし、central sensitization の発生に関与していることが示唆された。さらに、痛みのみならずストレスでも BDNF が発現し、唾液腺にも多く分泌することが明らかとなり、現在、唾液中の BDNF 値を心因的ストレスマーカーとして応用できるのではないかと考えている (Tsukinoki K, et al. Immobilization stress induces BDNF in rat submandibular glands. J Dent Res. 2006; 85: 844-8.)。

さらに、情動や心因的ストレスが慢性疼痛に関与していることは知られているが、その詳細なメカニズムはいまだに明らかとなっていない。その理由として情動や心因的ストレスを客観的に評価することが困難であったことが挙げられる。しかし、われわれが行ったストレスによる唾液腺導管細胞中の BDNF 発現や、すでに明らかになっている中枢神経レベルにおける neurokinin receptor、integrin- $\alpha 5$  の発現をストレスマーカーとして用いることで客観的評価を行うことが可能となる。これを応用することで、三叉神経領域の慢性疼痛・神経因性疼痛に、心因的ストレスがどのように影響し増幅するかメカニズムの一端を解明できると考える。

手術による神経因性疼痛は、時に遷延化し、非ステロイド系消炎鎮痛剤やオピオイドにも抵抗性を示すことを経験する。このような病態は、術後の患者の activity を抑制し回復を遅らせるのみならず、合併症を併発する可能性をはらんでいる。神経因性疼痛・慢性疼痛とストレスの関係の一端を明らかとし、治療法確立の一助になれば、患者の負担軽減になり QOL 向上につながると考えられる。

## 2. 研究の目的

① 三叉神経領域の神経因性疼痛・慢性疼痛に対し、ストレスが中枢神経レベルでどのように影響しているか動物実験 (ラット) によりそのメカニズムを明らかにする。

② 術後疼痛において心因的ストレスがどのように影響しているか、ヒューマンボランティアからアンケートと唾液を経時的に採取し解析することで明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 神経因性疼痛にともなう中枢神経での神経ペプチドと神経栄養因子の発現について本実験には、三叉神経損傷モデルを用いた。

① □ 8 週齢 Sprague-Dawley male rat のオトガイ孔を結紮損傷し、神経因性疼痛を発生させる。神経損傷後、1 日後、3 日後、7 日後、14 日後の各群と control 群 (それぞれ 3 匹ずつ) を経心的還流固定後、脳幹部、左右下歯槽神経、左右顎下腺を取り出し切片を作成する。

② □ 取り出した各組織に対し NGF、BDNF、NT-3、neurokinin receptor を免疫染色しそれぞれの発現部位、強度、経時的変化について解析する。

③ □ 脳幹部に対し疼痛時に発現する脳内の immediate early gene である *c-fos* も同様に免疫組織染色を行う。さらに、NGF、BDNF、NT-3、neurokinin receptor の発現と *c-fos* の発現を比較検討することで、疼痛とストレスの関連を解析する。

④ □ 免疫染色で NGF、BDNF、NT-3、neurokinin receptor、*c-fos* の発現部位を Laser Capture Microdissection を用いて取り出し遺伝子定量解析を行った。

(2) ストレスにともなう中枢神経、唾液腺における神経ペプチドと神経栄養因子の発現について

① 8 週齢 Sprague-Dawley male rat を用いて immobilization stress model で実験を行う。ラットを木箱内で仰臥位にベルト固定し動けない状態でストレスを与える。ストレスを与える時間は 30 分、60 分、180 分とする (6 匹ずつ)。終了後、脳幹部、顎下腺を取り出し連続切片を作成する。

② 取り出した脳幹部、顎下腺に対し NGF、BDNF、NT-3、neurokinin receptor を免疫組織染色し、それぞれの発現部位、強度、経時的変化について解析を行う。

③ 脳幹部に対し、疼痛時に発現する脳内の immediate early gene である *c-fos* についても同様に免疫組織染色を行う。さらに、NGF、BDNF、NT-3、neurokinin receptor の発現と *c-fos* の発現を比較検討し、ストレスとの関連を解析する。

④ 免染で NGF、BDNF、NT-3、neurokinin

receptor、*c-fos* の発現部位を Laser Capture Microdissection を用いて細胞を取り出し mRNA を抽出し遺伝子定量解析し発現強度の比較検討を行う。

- ⑤ 前年度に行った三叉神経損傷モデルと immobilization stress model を比較し、神経因性疼痛とそれが引き起こすストレスが、単純なストレスとどのように違うかを解析する。

(3) 口腔外科手術患者における周術期ストレスと神経因性疼痛の関係について

- ① 東海大学付属病院口腔外科で入院・全身麻酔下で手術を行う患者ボランティアを対象 (250 + 100 = 350 名/年の見込み)。
- ② 術前 (入院時)、術後 3 日目、7 日目、14 日目に、Goldberg より開発された GHQ 精神健康調査票を記入し、同時に Visual Analog Scale (VAS)、唾液を採取する。
- ③ 採取した唾液中の BDNF、CgA の発現量は、ELISA 法で測定する。
- ④ 対照として、健康人ボランティアから GHQ チャートスコア、VAS スコア、唾液中 BDNF、CgA を採取する。
- ⑤ 唾液中 BDNF や CgA と GHQ スコアの相関関係を検定し、ストレスマーカーとしての有用性を明らかにする。
- ⑥ GHQ チャートスコア、VAS スコア、唾液中 BDNF、CgA を比較することで、慢性疼痛とストレスの関係を明らかにする。
- ⑦ 疾患別に、GHQ チャートスコア、VAS スコア、唾液中 BDNF、CgA を比較することで周術期の管理について検討する。

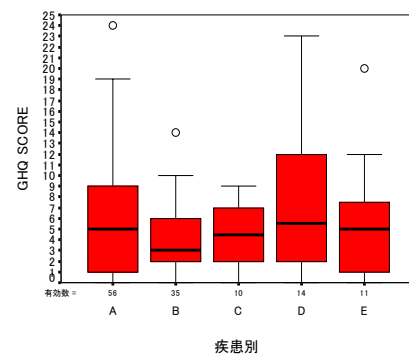
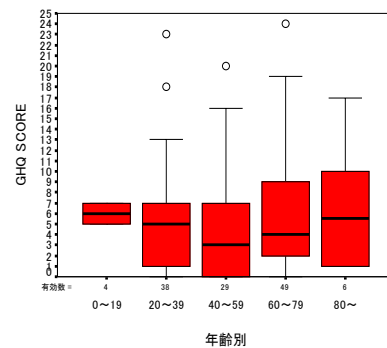
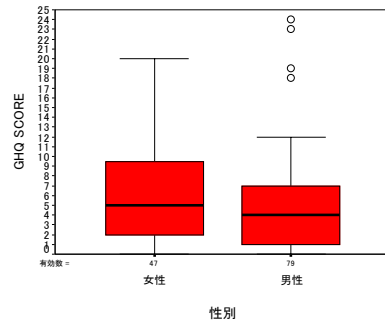
#### 4. 研究成果

ラットのストレスモデル (immobilization stress) において中枢神経における NGF、BDNF、NT-3 の発現が抑制されるという報告 (Ueyama T, et al. Neurosci Res. 1997; 28, :103-110.) より、ストレスにともなう唾液腺内の BDNF mRNA 発現の変化を検討した。その結果、immobilization stress によりラットの唾液腺導管部分は、BDNF を多く発現していることを確認した。

当科で入院・手術を行う患者のうち、本研究に対し説明のうえ同意・協力が得られたボランティアを対象に、周術期の精神状態と疼痛スコアを採取し検討を行った。予後のよい良性疾患では術後に精神状態の改善を示すが、悪性腫瘍患者のなかには、術後に抑うつ状態を示す患者も散見され、疼痛の遷延や機能障害の大きさに比例する傾向も認められた。さらに、ストレスにより唾液腺導管細胞に BDNF が発現することを応用し、唾液中の BDNF や CgA を測定し、ストレスマーカーとしての有用性との関連につき解析を行

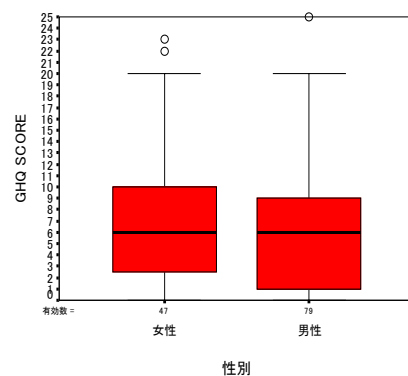
った。BDNF や CgA は、ストレスマーカーとして一定の評価は認められるが、日内変動があり、その他の修復因子も予想されることから現段階では安定したスケールとして用いるには難があると考えられた。今後もさらに検討を重ねる予定である。

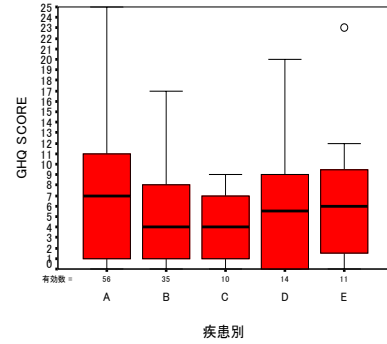
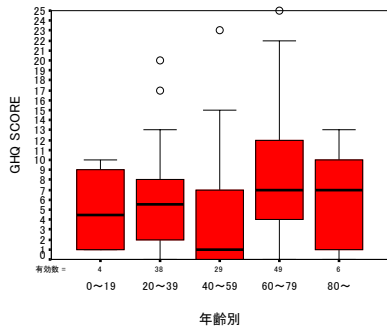
(術前の精神的ストレス状態)



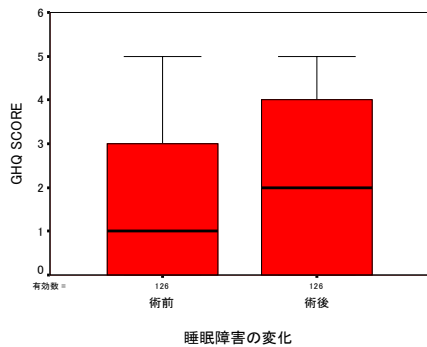
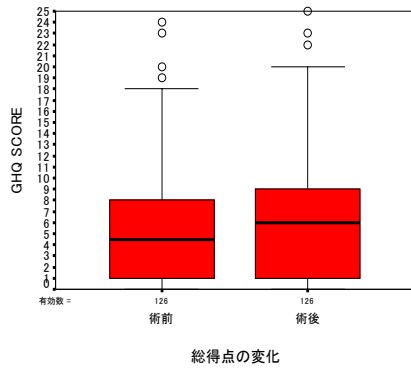
A 悪性腫瘍 B 嚢胞性疾患 C 良性腫瘍  
D 外傷・骨折 E その他

(術後の精神的ストレス状態)

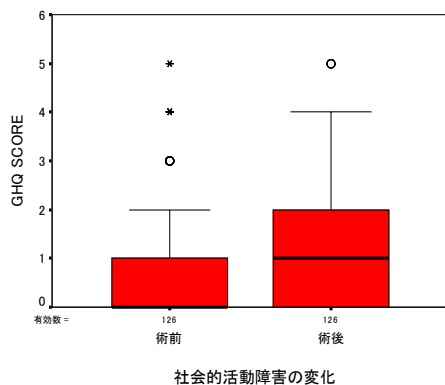




(術前・術後のストレス変動)



睡眠障害は術前と比較して術後には有意に増悪していた。Wilcoxon の符号付順位検定 ( p=0.016 \*)



社会的活動障害は術前と比較して術後には有意に増悪していた。Wilcoxon の符号付順位検定 ( p=0.002 \*)

## 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 15 件)

- ① Aoki T, Karakida K, Sakamoto H, Yamazaki H, Otsuru M, Sasaki M, Sakamoto Y, Aoyama K, Ota Y, Kaneko A. Successful treatment by intralesional steroid injection in management of central giant cell granuloma of the jaw—Report of two cases. J Oral Maxillofac Surg Med Pathol. ; 24: 213-217: 2012. 査読有 (10.1016/j.ajoms.2011.11.007.)
- ② Sato Y, Aoki T, Ota Y, Ogura G, Arai T, Sakamoto Y, Aoyama K, Kaneko A. IgG4-related disease of the infratemporal fossa: A case report. J Oral Maxillofac Surg Med Pathol. ; 25: 69-73:2013. 査読有 (10.1016/j.ajoms.2012.05.010.)
- ③ Yamazaki H, Ota Y, Aoki T, Kaneko A. Lung Metastases of Epithelial-Myoepithelial Carcinoma of the Parotid Gland Successfully Treated With Chemotherapy: A Case Report. J Oral Maxillofac Surg. ; 71: 220-6: 2013. 査読有 (10.1016/j.joms.2012.03.031.)
- ④ Kato H, Ota Y, Sasaki M, Karakida K, Kaneko A, Sekido Y, Tsukinoki K. Peripheral ameloblastoma of the lower molar gingiva: a case report and immunohistochemical study. Tokai Exp Clin Med. ; 37: 30-4: 2012. 査読有 (<http://mj.med.u-tokai.ac.jp/pdf/370201.pdf>)
- ⑤ Kato H, Ota Y, Sasaki M, Arai T, Sekido Y, Tsukinoki K. A phlebolith in the anterior portion of the masseter muscle. Tokai Exp Clin Med. ; 37: 25-9: 2012. 査読有 (<http://mj.med.u-tokai.ac.jp/pdf/370106.pdf>)
- ⑥ Ota Y, Aoki T, Otsuru M, Hirabayashi K, Nakamura N, Tsukinoki K. Huge ameloblastoma associated with hypercalcemia,

- leukocytosis, and elevated tumor markers via production of parathyroid hormone-related protein and granulocyte colony-stimulating factor. *J Oral Maxillofac Surg.* ; 70: 1380-5: 2012. 査読有  
( 10.1016/j. joms.2011.06.003.)
- ⑦ Yamazaki H, Shirasugi Y, Kajiwara H, Sasaki M, Otsuru M, Aoki T, Ota Y, Kaneko A, Nakamura N. Concurrent onset of an eosinophilic ulcer of the oral mucosa with peripheral eosinophilia in a human T-cell leukemia virus type I carrier. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 114: e43-8: 2012. 査読有  
( 10.1016/j.oooo.2011.12.012.)
- ⑧ Yamazaki H, Nakatogawa N, Ota Y, Karakida K, Otsuru M, Kaneko A, Shirasugi Y, Kajiwara H. Development of follicular lymphoma of the cervical lymph nodes in a postoperative patient with tongue cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 113: e35-9: 2012. 査読有  
( 10.1016/j.tripleo.2011.08.026.)
- ⑨ Sasaki M, Aoki T, Karakida K, Otsuru M, Takahashi M, Akamatsu T, Sakamoto H, Ota Y. Postoperative follow-up strategy in patients with oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg.* 69: e105-11: 2011. 査読有  
(10.1016/j.tripleo.2008.12.019.)
- ⑩ Sasaki M, Yamazaki H, Aoki T, Ota Y, Sekiya R, Kaneko A. Bilateral numb chin syndrome leading to a diagnosis of Burkitt's cell acute lymphocytic leukemia: a case report and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 111: e11-6: 2011. 査読有  
(10.1016/j.tripleo.2010.09.066.)
- ⑪ Yonenaga K, Tohnai I, Mitsudo K, Mori Y, Saijo H, Iwai T, Yonehara Y, Ota Y, Torigoe K, Takato T. Anatomical study of the external carotid artery and its branches for administration of superselective intra-arterial chemotherapy via the superficial temporal artery. *Int J Clin Oncol.* 16: 654-9: 2011. 査読有  
(10.1007/s10147-011-0238-y.)
- ⑫ Karakida K, Aoki T, Ota Y, Yamazaki H, Otsuru M, Takahashi M, Sakamoto H, Miyasaka M. Analysis of risk factors for surgical-site infections in 276 oral cancer surgeries with microvascular free-flap reconstructions at a single university hospital. *J Infect Chemother.* 16: 334-9: 2010. 査読有  
(10.1007/s10156-010-0108-y.)
- ⑬ Kurabayashi H, Kaneko A, Sekiya R, Karakida K, Sasaki M, Nakatogawa N, Aoki T, Ota Y, Sakamoto H. Identification of oral bacteria by 16S rRNA gene analysis in elderly persons requiring nursing care. *J Infect Chemother.* 17: 40-4: 2010. 査読有  
(10.1007/s10156-010-0181-2.)
- ⑭ Karakida K, Aoki T, Sakamoto H, Takahashi M, Akamatsu T, Ogura G, Sekido Y, Ota Y. Ameloblastic carcinoma, secondary type: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 110: e33-7: 2010. 査読有  
(10.1016/j.tripleo.2010.08.018.)
- ⑮ Karakida K, Ota Y, Aoki T, Akamatsu T, Kajiwara H, Hirabayashi K. Multiple giant cell tumors in maxilla and skull complicating Paget's disease of bone. *Tokai Exp Clin Med.* ; 35: 112-7: 2010. 査読有  
(<http://mj.med.u-tokai.ac.jp/pdf/350307.pdf>)
- [学会発表] (計 23 件)
- ① Takayuki Aoki, Yoshihide Ota, Kazunari Karakida, Hiroshi Yamazaki, Mitsunobu Otsuru, Miho Takahashi, Muneo Miyasaka, Sachi Suzuki. CLINICOPATHOLOGICAL STUDY OF AMELOBLASTIC CARCINOMA. 21th Congress of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery. 11-15 September 2012 Dubrovnik, Croatia.
- ② Mitsunobuo Otsuru\*, Yoshi Hide Ota, Takayuki Aoki, Hiroshi Yamazaki, Miho Takasahi, Kazunari Karakida. DECISION ANALYSIS AND TREATMENT THRESHOLD IN MANAGEMENT OF TONGUE CANCER WITH NO NECK STATUS. 21th Congress of the European

Association for Cranio-Maxillo- Facial Surgery. 11-15 September 2012  
Dubrovnik, Croatia.

- ③ 新井 俊弘、太田 嘉英、青木 隆幸、客観的基準を用いて切除を行った口底癌 68 例の検討、第 57 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2012 年 10 月 20 日、神奈川
- ④ 青木 隆幸、太田 嘉英、エナメル上皮癌の臨床病理学的検討、第 57 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2012 年 10 月 19 日、神奈川
- ⑤ 高橋 美穂、青木 隆幸、太田 嘉英、腔扁平上皮癌の骨転移における接着因子発現異常の影響について、第 57 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2012 年 10 月 19 日、神奈川
- ⑥ 傳田 祐也、太田 嘉英、青木 隆幸、口腔がん遊離再建術症例における術後早期離床の検討、第 57 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2012 年 10 月 19 日、神奈川
- ⑦ 唐木田 一成、太田 嘉英、青木 隆幸、術野外感染 (RI) のリスクファクターとしての手術部位感染 (SSI) の臨床的検討、第 57 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2012 年 10 月 19 日、神奈川
- ⑧ 太田 嘉英、東海大学大学院がんプロフェッショナル養成プラン口腔顎顔面外科学分野の現状、第 66 回NPO法人日本口腔科学会学術集会、2012 年 5 月 18 日、広島
- ⑨ 金子 明寛、太田 嘉英、歯性感染症閉鎖膿瘍から分離したPrevotella属におけるceftriaxone耐性株の解析第、32 回日本歯科薬物療法学会、2012 年 7 月 1 日、大阪
- ⑩ 太田 嘉英、臨床型分類の再検討、第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、2012 年 1 月 27 日、埼玉
- ⑪ 山崎 浩史、太田 嘉英、青木 隆幸、当科で行った口腔扁平上皮癌に対する化学療法の検討、第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、2012 年 1 月 27 日、埼玉
- ⑫ 大鶴 光信、太田 嘉英、青木 隆幸、口腔扁平上皮癌に対するNCCNガイドラインに基づいた術後化学放射線療法の検討、第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、2012 年 1 月 27 日、埼玉
- ⑬ 新井 俊弘、太田 嘉英、青木 隆幸、頭頸部癌に対するCisplatinを含む化学療法・化学放射線療法による有害事象の検討、第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、2012 年 1 月 27 日、埼玉
- ⑭ 坂本 由紀、太田 嘉英、青木 隆幸、腹直皮弁の経時的変化の検討、第 30 回

日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、2012 年 1 月 27 日、埼玉

- ⑮ 鈴木 崇嗣、太田 嘉英、青木 隆幸、当科における原発性下顎骨内扁平上皮癌の臨床的検討、第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、2012 年 1 月 27 日、埼玉
- ⑯ 太田 嘉英、口腔がんの標準手術 Pull-through法による舌半側切除術、第 56 回(社)日本口腔外科学会総会・学術大会、2011 年 10 月 22 日、大阪
- ⑰ 新井 俊弘、太田 嘉英、頭頸部癌に対するTPF療法による低Na血症の臨床的検討、第 56 回(社)日本口腔外科学会総会・学術大会、2011 年 10 月 22 日、大阪
- ⑱ 大鶴 光信、太田 嘉英、青木 隆幸、口腔扁平上皮癌N0 症例における予防的頸部郭清の検討、2011 年 10 月 21 日、大阪
- ⑲ 鈴木 崇嗣、太田 嘉英、青木 隆幸、当科におけるビスフォスフォネート関連顎骨壊死 18 例の臨床的検討第 56 回(社)日本口腔外科学会総会・学術大会、2011 年 10 月 21 日、大阪
- ⑳ 青山 謙一、太田 嘉英、青木 隆幸、舌癌MRI画像における腫瘍と傍舌感覚の距離と頸部リンパ節転移の検討、第 56 回(社)日本口腔外科学会総会・学術大会、2011 年 10 月 21 日、大阪
- ㉑ 太田 嘉英、ビスフォスフォネート製剤投与患者への対応の現状、第 4 回神奈川県歯科医師会・口腔外科学術集会、2010 年 11 月、神奈川
- ㉒ 太田 嘉英、病理医に知っていただきたい歯科口腔疾患の知識、第 91 回神奈川県病理医会例会、2010 年 7 月、神奈川
- ㉓ 青木 隆幸、太田 嘉英、当科における下顎歯肉扁平上皮癌の臨床的検討、第 64 回NPO法人日本口腔科学会、2010 年 6 月、北海道

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

**太田 嘉英 (OTA YOSHIHIDE)**  
東海大学・医学部・教授  
研究者番号：60233152

### (2) 研究分担者

**青木 隆幸 (AOKI TAKAYUKI)**  
東海大学・医学部・准教授  
研究者番号：80297209