

## 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3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22592258

研究課題名（和文） 口腔内炎症モデルでの視床下部-下垂体-副腎皮質系と脳内サイトカインの反応について

研究課題名（英文） Reaction of HPA-axis and brain cytokines in oral inflammation model

研究代表者

前田 茂 (MAEDA SHIGERU)

岡山大学・岡山大学病院・准教授

研究者番号：50253000

研究成果の概要（和文）：感染や外傷によりストレス反応が亢進すると、うつ傾向がもたらされることがある。口腔領域は炎症の好発部位であるため、本研究では口腔内の炎症が炎症性サイトカインやストレス反応に与える影響を調べ、炎症に対するオピオイドの効果を検討した。その結果、口腔内の炎症モデルにおいてストレス反応が惹起された。そして炎症を伴うストレス反応はオピオイドによってコントロールできる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Depression can be induced by an activation of stress reaction related with infection, injury, etc. Since oral area is a favorite site for inflammation, affect of oral inflammation on both inflammatory reaction and stress reaction, was evaluated in this study. As a result, stress reaction was induced in oral inflammatory model, and it is suggested that stress related with inflammation may be controlled by an opioid.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：歯科麻酔学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：炎症，ストレス反応，HPA axis

### 1. 研究開始当初の背景

細菌やウイルスの罹患，外傷および手術などによって，仕事，外出，会話，食欲，性欲などの意欲が減退する。これは，うつ傾向または sickness behavior と呼ばれる症状であり，末梢で分泌された炎症性サイトカインが中枢へ作用することによって，中枢での炎症性サイトカインのレベルが上昇し，HPA

axis（視床下部-下垂体-副腎皮質系）を活性化することによって，このような症状が発現すると考えられている<sup>1)</sup>。

口腔内では歯牙が体内と体外を貫いているという特殊性から，歯周病，智歯周囲炎，根尖性歯周炎などの炎症が容易に惹起される。炎症はHPA axis を活性化し<sup>2)</sup>，疫学的に

もうつ患者において歯周病の罹患率が有意に高いことが報告されている<sup>8)</sup>。そこで、われわれは口腔内の炎症が HPA axis を活性化するという仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔内炎症モデルを用いて、HPA axis の反応を調べることで、およびそれに対する効果的な対応策を探ることとした。

## 3. 研究の方法

ラットの絹糸を臼歯の歯肉縁下に留置して歯周炎を惹起するという手法が、現在までに口腔内炎症モデルとして広く使われている。そこで、このモデルを作製し、視床下部の CRH (corticotropine releasing hormone) mRNA をリアルタイム PCR により定量的に測定し、血液中の糖質コルチコイド (GC: glucocorticoid) 濃度を測定した。次に、口蓋歯肉へ lipopolysaccharide を注射したモデルを作製し、同様に視床下部の CRH mRNA の測定と血液中 GC の濃度を測定した。さらに視床下部の IL-1 $\beta$  mRNA のレベルを調べ、視床下部室傍核における CRH mRNA の発現を in situ hybridization によって調べた。

また炎症のコントロール方法としてオピオイドの有効性を検証するため、オピオイドを持続的に投与したマウスに対して、LPS を腹腔内投与し、末梢臓器と中枢神経の炎症反応とストレス反応を調べた。

## 4. 研究成果

歯周炎のモデルでは、視床下部の CRH mRNA が絹糸留置から2週間後に増加したが、血液中糖質コルチコイドは上昇しなかった。次に、LPS を口蓋歯肉に注射したモデルでは、リアルタイム PCR による遺伝子定量によって、視床下部の IL-1 $\beta$  mRNA が上昇したが、CRH mRNA は有意な変化を認めなかった。CRH mRNA については in situ hybridization によって調べたところ、視床下部室傍核において特異的に発現していた。また代表的なストレスホルモンである糖質コルチコイドの血液中濃度も

上昇した。

LPS に対する反応をコントロールするために短時間作用性のオピオイドであるレミフェンタニルを持続的にマウスに投与した状態において、LPS を腹腔内に投与したところ、LPS によって惹起される視床下部と肝臓での炎症性サイトカインレベルの上昇が、レミフェンタニルによって抑制された。また糖質コルチコイドの上昇もレミフェンタニルによって抑制された。

歯周炎のモデルは、局所の状態が歯周病に似ており、炎症としては軽度であっても違和感や軽度の痛みとしてストレス反応を惹起する可能性が考えられた。一方で、炎症としては LPS を歯肉へ注射するモデルでは、炎症性サイトカインを介して生体に与える影響が大きいと思われ、この違いがモデル間での結果が異なった理由であろうと考えている。特に、CRH mRNA の発現が LPS 投与後にリアルタイム PCR で認められなかった点については、LPS 注射からサンプル採取に至るまでの時間が重要であり、本研究で正確にそのピークをとらえることができたか、という点に疑問が残る。

しかし、in situ hybridization によって CRH mRNA の著明な発現が認められたことから、視床下部室傍核では有意に CRH mRNA のレベルが上昇したと考えている。そして PCR では視床下部を切除してサンプルとしたが、室傍核が非常に小さな神経核であることを考慮すると、CRH の反応を調べるためには、今回行ったように in situ hybridization が的と津であろうと思われた。

炎症に対する反応および炎症に起因するストレス反応をコントロールする方法としては、ステロイドや非ステロイド消炎鎮痛剤が一般的であるが、本研究では強力な鎮痛作用を有するオピオイドの効果を調べた。その結果、炎症の指標としての炎症性サイトカインの発現とストレス反応としての糖質コルチコイドの上昇をよくせいすることができた。血液中の炎症性サイトカインレベルは、精神的ストレスのみによっても上昇するた

め、作用機序は明らかでないが、過去の報告ではオピオイドが直接免疫細胞に作用して炎症反応をコントロールするというものもある。いずれにしても、レミフェンタニルは痛みやそれに伴う苦痛を和らげることができ、免疫細胞に対する直接作用もこれに関与する可能性が考えられた。そして、臨床的には、重症の炎症患者に対して、苦痛を軽減するだけでなく、炎症反応をコントロールするということを目的として、レミフェンタニルが有効となる可能性が考えられた。

#### 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 11 件)

以下、すべて査読あり

1. Kawanishi S, Takahashi T, Morimatsu H, Shimizu H, Omori E, Sato K, Matsumi M, Maeda S, Nakao A, Morita K: Inhalation of carbon monoxide following resuscitation ameliorates hemorrhagic shock-induced lung injury. *Mol Med Report*, 7: 3-10, 2013.
2. Maeda S, Tomoyasu Y, Higuchi H, Mori T, Egusa M, Miyawaki T. Midazolam is associated with delay in recovery and agitation after ambulatory general anesthesia for dental treatment in patients with disabilities: a retrospective cohort study. *J Oral Maxillofac Surg* 70: 1315-20, 2012.
3. Ishii M, Higuchi H, Maeda S, Tomoyasu Y, Egusa M, Miyawaki T. The influence of oral VPA on the required dose of propofol for sedation during dental treatment in patients with mental retardation: a prospective observer-blinded cohort study. *Epilepsia* 53(1): e13-6, 2012.
4. Miyawaki T, Kohjitani A, Maeda S, Higuchi H, Arai Y, Tomoyasu Y, Shimada M. Combination of midazolam and a cyclooxygenase-2 inhibitor inhibits lipopolysaccharide-induced interleukin-6 production in human peripheral blood mononuclear cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 34(1): 79-83, 2012.
5. Sakaguchi M, Higuchi H, Maeda S, Miyawaki T. Dental Sedation for Patients with Intellectual Disability: A Prospective Study of Manual Control versus Bispectral Index-Guided Target-Controlled Infusion of Propofol. *Journal of Clinical Anesthesia* 23(8): 636-42, 2011.
6. Tomoyasu Y, Mukae K, Suda M, Hayashi T, Ishii M, Sakaguchi M, Watanabe Y, Jinzenji A, Arai Y, Higuchi H, Maeda S, Miyawaki T. Allergic reactions to local anesthetics in dental patients: analysis of intracutaneous and challenge tests. *Open Dent J* 5:146-9, 2011.
7. Arai Y, Maeda S, Higuchi H, Tomoyasu Y, Shimada M, Miyawaki T. Effects of midazolam and phenobarbital on brain oxidative reactions induced by pentylentetrazole in a convulsion model. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 34(2): 216-21, 2011.
8. Maeda S, Arai Y, Higuchi H, Tomoyasu Y, Mizuno R, Takahashi T, Miyawaki T. Induction of apoptotic change in the rat hippocampus caused by ferric nitrilotriacetate. *Redox Rep.* 2011;16(3):114-20.
9. Ohmori J, Maeda S, Higuchi H, Ishii M, Arai Y, Tomoyasu Y, Kohjitani A, Shimada M, Miyawaki T. Propofol increases the rate of albumin-unbound free midazolam in serum albumin solution. *J Anesth.* 2011 Aug;25(4):618-20.
10. Tomoyasu Y, Yasuda T, Maeda S, Higuchi H, Miyawaki T. Liposome-encapsulated midazolam for oral administration. *J Liposome Res* 21(2): 166-72; 2011.

11. Kanagawa F, Takahashi T, Inoue K, Shimizu H, Omori E, Morimatsu H, Maeda S, Katayama H, Nakao A, Morita K. Protective effect of carbon monoxide inhalation on lung injury after hemorrhagic shock/resuscitation in rats. J Trauma 69(1): 185-94; 2010.

[学会発表] (計 11件)

1. YABUKI, A. YAMANE, Y. TOMOYASU, H. HIGUCHI, S. MAEDA, and T. MIYAWAKI. Locally Injected Dexmedetomidine Induces Peripheral Vasoconstriction via Alpha-2 Adrenoceptors. IADR, Seattle (USA), 2013年3月20-23日
2. YAMANE, A. YABUKI, Y. TOMOYASU, H. HIGUCHI, S. MAEDA, and T. MIYAWAKI. Locally Injected Dexmedetomidine Enhances Local Anesthetic Potency in Humans. IADR, Seattle(USA), 2013年3月20-23日
3. Y. WATANABE, Y. TOMOYASU, H. HIGUCHI, S. MAEDA, and T. MIYAWAKI. Effect of Midazolam on Blood Pressure in Hypertensive Dental Patients. IADR, Seattle(USA), 2013年3月20-23日
4. H. HIGUCHI, A. YABUKI, S. MAEDA, Y. TOMOYASU, and T. MIYAWAKI. Drug Interaction between Adrenaline and Chlorpromazine. IADR, Seattle (USA), 2013年3月20-23日
5. Minako Ishii, Satoru Sakurai, Hitoshi Higuchi, Yumiko Tomoyasu, Sigeru Maeda, Takuya Miyawaki. Valproate increases the rate of protein-unbound free propofol in human serum. ASA, Wasington DC(USA), October 13-17, 2012
6. Takuya Miyawaki, Shintaro Skegawa, Miho Inoue, Hitoshi Higuchi, Yumiko Tomoyasu, Minako Ishii, Shigeru Maeda. Locally Injected Dexmedetomidine Inhibits Carrageenin-Induced TNF-Alpha

Production in Injected Region. ASA, Wasington DC(USA), October 13-17, 2012

7. Y. Tomoyasu, S. Maeda, H. Higuchi, M. Suda, M. Ishii, T. Miyawaki. Effects of Remifentanil against Septic Shock Model. SFN Washington, DC(USA) 2011年11月12-16日
8. Sinterou Sukegawa, Inoue M, Hitoshi Higuchi, Yumiko Tomoyasu, Sigeru Maeda, Takuya Miyawaki. Locally injected dexmedetomidine inhibits carrageenin-induced inflammatory reaction in injected region. ASA, Chicago (USA), October 15-19, 2011
9. M. Ishii, H. Higuchi, M. Sakaguchi, T. Hayashi, Y. Arai, Y. Tomoyasu, S. Maeda, T. Miyawaki. Locally injected dexmedetomidine inhibits carrageenin-induced inflammatory reaction in injected region. IADR/San Diego (USA)/ abstract 2691, 2011年3月14-19日
10. T. Hayashi, H. Higuchi, M. Ishii, Y. Tomoyasu, Y. Arai, S. Maeda, T. Miyawaki. Locally injected dexmedetomidine inhibits carrageenin-induced inflammatory reaction in injected region. IADR/San Diego (USA)/ abstract 2697, 2011年3月14-19日
11. Mai Sakaguchi, Hitoshi Higuchi, Yumiko Tomoyasu, Shigeru Maeda, Takuya Miyawaki. Locally injected dexmedetomidine inhibits carrageenin-induced inflammatory reaction in injected region. IADR/Barcelona(Spain)/abstract 1700, 2010年7月14-17日

[その他]

ホームページ等

<http://www.dent.okayama-u.ac.jp/masui/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

前田 茂 (MAEDA SHIGERU)  
岡山大学・岡山大学病院・准教授  
研究者番号：50253000

### (2) 研究分担者

宮脇 卓也 (MIYAWAKI TAKUYA)  
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・  
教授  
研究者番号：00219825

### (3) 研究協力者

樋口 仁 (HIGUCHI HITOSHI)  
岡山大学・岡山大学病院・講師  
研究者番号：30423320

友安弓子 (TOMOYASU YUMIKO)  
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・  
助教  
研究者番号：40594809