

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792116

研究課題名(和文)顎関節症に随伴する咀嚼筋痛の新規治療開発

研究課題名(英文)Development of novel treatment on masticatory muscle pain with TMD

研究代表者

野間 昇(NOMA, Noboru)

日本大学・歯学部・准教授

研究者番号：70386100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：持続的咬筋収縮後7日目に圧痛閾値はsham群に比較し有意に低下した。7日目における持続的咬筋収縮後のIL-1 および300g刺激後のATP放出量はsham群に比較して有意に上昇した。また、刺激側咬筋へのA-317491投与により圧痛閾値の低下が抑制された。咬筋へのIL-1ra連日投与は持続的咬筋収縮により増加したP2X3受容体陽性細胞が減少した。【結論】持続的咬筋収縮後、咬筋においてATPおよびIL-1遊離が亢進し、さらに神経終末に発現したP2X3受容体にATPが結合することによって、咬筋痛覚過敏発症する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The mean percentage of FG-labeled P2X3R-positive neurons was significantly increased in TG following successive IL-1beta injections into the MM for 7 days. Successive administration of an IL-1beta receptor-antagonist into the MM attenuated the increase of P2X3-IR cells in the TG. ATP release from MM after 300-g pressure stimulation of MM was also significantly enhanced after CMM. Administration into MM of the selective P2X3,2/3 receptor antagonist A-317491 attenuated the decrement of HWT in CMM rats. A significant increase in HWT was also observed at 30 min after A-317491 (60 μg) injection in IL-1beta-injected rats. These findings suggest that P2X3R expression associated with enhanced IL-1beta expression and ATP release in MM has a possible important role in MM mechanical hyperalgesia after excessive muscular contraction.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：持続的咬筋収縮 ATP

1. 研究開始当初の背景

顎関節症に含まれる筋・筋膜疼痛症候群は体性痛の深部痛に分類される。これらの病態はくいしばりや歯ぎしりなどで咀嚼筋が慢性的に疲労して索状硬結(こり)またはトリガーポイントが形成されると咀嚼筋から離れた場所(歯牙や歯槽骨など)に関連痛として痛みを生じる。口腔顔面痛を熟知していない歯科医師はこの関連痛(健全歯)を歯髄炎と誤診し、非可逆的な歯科治療を行うことがある。また抜髄しても痛みが消失しないため、隣接歯を次々に抜髄し、最終的に複数本を抜歯される深刻な医療過誤も稀ではない。筋性疼痛が非歯原性疼痛の中で最も多くみられる病態であるが、表在性疼痛などの炎症性疼痛や神経因性疼痛の研究に比較し筋性疼痛(深部痛)の研究は圧倒的に少なく、筋性疼痛発症機構を解明することは急務である。

2. 研究の目的

歯科臨床において非歯原性疼痛の中で、最も多くみられる病態は顎関節症、筋・筋膜性疼痛症候群などであり、咀嚼筋からの関連痛(健全歯)を歯髄炎と誤診し歯内処置、抜歯をされ苦しんでいる患者は多い。筋性疼痛は筋肉および筋膜などの深部組織から侵害受容性疼痛が中枢へと伝達されるため(深部痛)患者や歯科医師は痛みの部位を特定することは困難である。また患者は咀嚼筋の触診に対して圧痛を訴え、触診直後に口腔顔面領域に関連痛を引き起こす。今回申請者は、筋性疼痛(圧痛覚過敏)とそれに伴う関連痛に焦点をあて、顎顔面領域の異常疼痛および関連痛の神経機構の一端を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

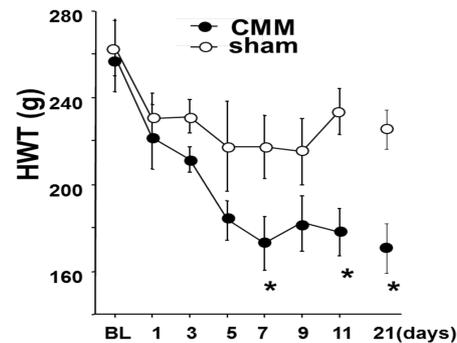
ラット咬筋皮下に刺激電極を挿入し電気刺激(10Hz, 10V)を11日間(30分間/日)を施行。行動学的実験では咬筋へ圧刺激を加え逃避行動を示した圧を閾値として、1日目, 3日目, 5日目, 7日目, 11日目と経時的にcone-shaped plastic tip(直径, 5mm)を用いて咬筋の圧逃避閾値を測定した。免疫組織化学実験では、咬筋のHE染色を施行。逆行性トレーサー-FGを咬筋に注入したあと7日目に三叉神経節内のP2X3レセプターの分布様式を免疫組織化学的に検索した。次に圧痛閾値が最も低下した時点においてELISA法を用いて咬筋中のサイトカイン(IL-6, IL-1)を測定。同様に咬筋を取り出し圧依存的刺激10g, 200g, 300g)を加えATP放出量をバイオルミネッセンス法を用いATP遊離量を測定。刺激側咬筋に連日1週間、IL-1受容体拮抗薬IL-1 antagonist (IL1ra)を注入し圧痛閾値を測定した。刺激側咬筋に連日IL-1 antagonist (IL1ra)を注入(100nmol in 50 μl/day from day 0 to day 7)し灌流固定後、三叉神経節(TG)のP2X3陽性細胞(IR cells)の分布様式を免疫組織化学的に検索した。また7日目でP2X3およびP2X2/3受容体に対する選択的拮抗薬を投与し痛覚過

敏に影響があるかどうかを調べた。

4. 研究成果

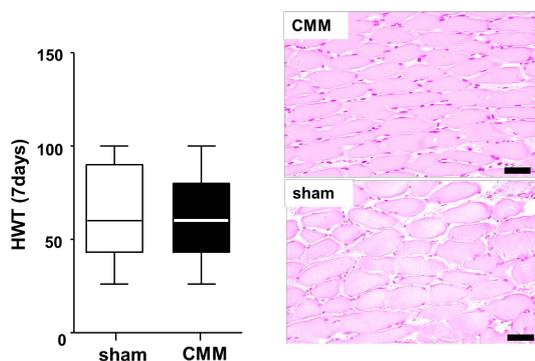
(1)持続的咬筋収縮後3日目より徐々に閾値の低下がみられ、7日目に圧痛閾値はsham群に比較し有意に低下した。7日目以降、継続して痛覚過敏がみられた。本研究では7日目に痛覚過敏が発症していたため、7日目にフォーカスをあて研究を遂行した。(持続的咬筋収縮後7日目で圧痛閾値はsham群に比較し有意に低下した。顔面皮膚においては、機械痛覚過敏はみられなかった。)

A



(2)

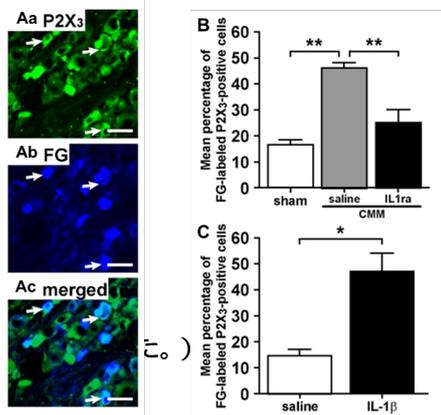
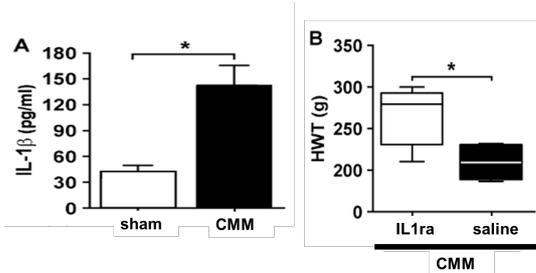
sham群とCMM群と比較して有意な差はみられなかった。CMMとshamのHE染色では炎症性細胞の浸潤はなかった。CMM群とsham群を比較して有意な上昇がみられた。連日1週間、IL-1受容体拮抗薬を末梢投与し圧痛閾値を測定した。IL1ra群ではsaline注入群に比較し圧痛閾値の上昇を認め、痛覚過敏は有意に抑制された。



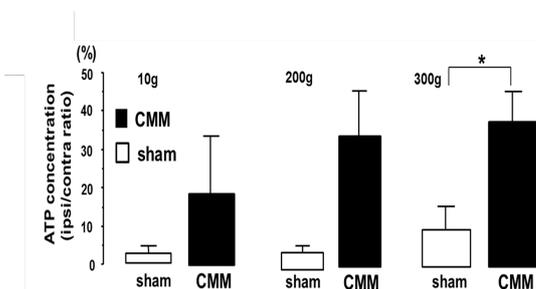
(3)

三叉神経節内でのFGに標識されたP2X3R陽性細胞の数をカウントし分布様式を検索した。CMMに連日1週間saline投与を行った群と比較し、連日IL-1受容体拮抗薬を投与した群ではFGに標識されたP2X3R陽性細胞の数は有意に減少した。次にIL-1をインタクトラットに咬筋注入を行い、FGに標識されたP2X3R陽性細胞の数を解析した。IL-1群は

saline 投与に比較し有意に増加した。このことから P2X3R の合成発現には IL-1 が関与していると言える。(持続的咬筋収縮後 7 日目での TG(第三枝領域:V3)の P2X3-IR cells は sham 群に比較して有意に増加した。一方、連日 IL-1 antagonist (IL1ra) の咬筋内局所注入により P2X3-IR cells は減少した。) 圧痛閾値が最も低下した時点において ELISA 法を用いて咬筋の IL-1 を測定した。持続的咬筋収縮後 7 日目での CMM 群における刺激側咬筋の IL-1 レベルは sham 群に比較し有意に上昇した。



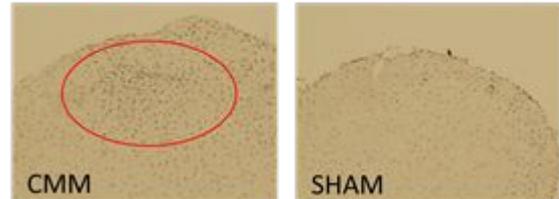
(4) 咬筋刺激 1 週間後の機械刺激に対する咬筋 ATP 濃度 (10 g) では CMM は sham と比較し上昇した。300g 刺激後の ATP 放出量では sham 群に比較して有意に上昇した。200g では上昇傾向にあったが有意な差はなかった。(CMM 群における 300g 圧刺激後の ATP 濃度の ipsi/contra ratio は sham 群に比較して有意に上昇した。10g 圧刺激後の ATP 濃度の ipsi/contra ratio は両群間で有意な差はみられなかった。)



(5) von Frey filament の刺激部位の支配領域である三叉神経節第 2 枝領域にて astrocyte

の特異的マーカーである GFAP を用い、また脊髄路核尾側亜核(Vc)及び第 1 第 2 頸髄後角(C1-C2)にて microglia の特異的マーカーである Iba1 を用いて microglia を標識し、活性化した面積を解析した。三叉神経節内の Satellite Glial Cell, 脊髄後角内の microglia は Sham 群に比較し有意に増加した。

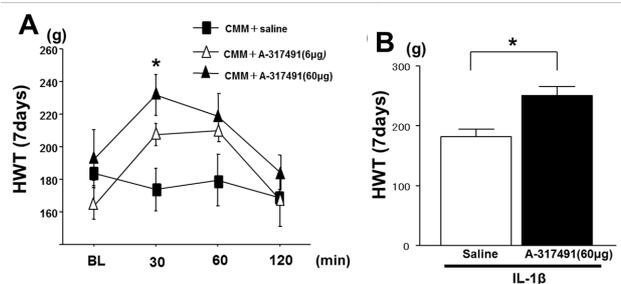
筋性疼痛モデルラットにおける脊髄後角のマイクログリアの発現はshamに比較し優位に増加



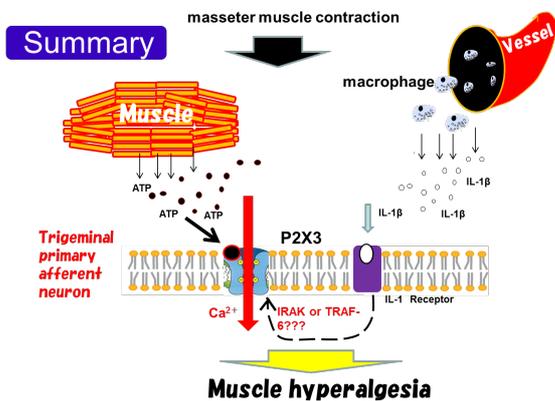
筋性疼痛モデルラットにおける三叉神経節内のSatellite Glial Cellの発現はshamに比較し優位に増加



(6) 1 週間持続収縮後の P2X3 受容体に対する選択的拮抗薬 A317491 を調べた。咬筋に saline, A317491 低濃度, A317491 高濃度を注入し投与後 30 分で 60  $\mu$ g で咬筋痛覚過敏 (圧痛閾値の低下) は抑制された。IL-1 連日投与後の A317491 の影響を調べた。A317491 後 30 分で IL1 で誘発された痛覚過敏が抑制された。



(7) 結論として P2X3 受容体の発現は咬筋持続性収縮または IL-1 により誘発された痛覚過敏と関与している可能性を示す。



## 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 14 件)

野間 昇, 森蔭 直広, 今村 佳樹: 口腔顔面領域における特発性疼痛(総説)ペインクリニック 34 巻 2 号 Page233-241(2013)

Noma N, Shinoda M, Honda K, Kiyomoto M, Dezawa K, Nakaya Y, Komiyama O, Imamura Y, Iwata K. Interaction of IL-1 and P2X3 Receptor in Pathologic Masseter Muscle Pain. J Dent Res (査読有り) 92(5):456-60. (2013)

Noma N, Kamo H, Nakaya Y, Dezawa K, Young A, Khan J, Imamura Y. Stellate ganglion block as an early intervention in sympathetically maintained headache and orofacial pain caused by temporal arteritis. Pain Med. (査読有り) 14(3):392-7. (2013)

Kiyomoto M, Shinoda M, Okada-Ogawa A, Noma N, Shibuta K, Tsuboi Y, Sessle BJ, Imamura Y, Iwata K. Fractalkine signaling in microglia contributes to ectopic orofacial pain following trapezius muscle inflammation. J Neurosci (査読有り). 33(18):7667-80. (2013)

Koike K, Shinozaki T, Hara K, Noma N, Okada-Ogawa A, Asano M, Shinoda M, Eliav E, Gracely RH, Iwata K, Imamura Y. Immune and Endocrine Function in Patients with Burning Mouth Syndrome. (査読有り) Clin J Pain. Feb;30(2):168-73. (2013)

Teramoto K, Tsuboi Y, Shinoda M, Hitomi S, Abe K, Kaji K, Tamagawa T, Suzuki A,

Noma N, Kobayashi M, Komiyama O, Urata K, Iwata K: Changes in expression of growth-associated protein-43 in trigeminal ganglion neurons and of the jaw opening reflex following inferior alveolar nerve transection in rats. Eur J Oral Sci. (査読有り) 121(2):86-91. (2013)

Chen IF, Khan J, Noma N, Hadlaq E, Teich S, Benoliel R, Eliav E. Anti-nociceptive effect of IL-12p40 in a rat model of neuropathic pain. (査読有り) Cytokine. Jun;62(3):401-6. (2013)

Komiyama O, Nishimura H, Makiyama Y, Iida T, Obara R, Shinoda M, Kobayashi M, Noma N, Abe O, De Laat A, Kawara M. Groupcognitive-behavioral intervention for patients with burning mouth syndrome. J Oral Sci (査読有り), 55(1):17-22. (2013)

Kato Y, Kamo H, Kobayashi A, Abe S, Okada-Ogawa A, Noma N, Kukimoto N, Omori H, Nakazato H, Kishi H, Ikeda M, Imamura Y. Quantitative evaluation of oral function in acute and recovery phase of idiopathic facial palsy; a preliminary controlled study. Clin Otolaryngol. (査読有り);38(3):231-6. (2013)

松本邦史, 野間 昇, 今村佳樹, 本田和也. 日常臨床における「噛み合わせ日記」活用の誘い: The Quintessence. Vol.32.No.8 P35-37(2013)

Komiyama O, Obara R, Uchida T, Nishimura H, Iida T, Okubo M, Shimosaka M, Narita N, Niwa H, Shinoda M, Kobayashi M, Noma N, Abe O, Makiyama Y, Hirayama T, Kawara M. Pain intensity and psychosocial characteristics of patients with burning mouth syndrome and trigeminal neuralgia. J Oral Sci (査読有り) 54(4):321-7. (2012)

野間 昇: 口腔顔面痛. Practice of Pain Management, 12月号 Vol.3 No.4, Page18-21(2012)

今村 佳樹, 岡田 明子, 野間 昇, 篠崎貴弘: 【難治性顔面痛の診断と治療】 口腔領域からみた難治性顔面痛(解説/特集): 神経内科 77 巻 5 号 Page456-461(2012)

Plaza-Villegas F, Heir G, Markman S, Khan J, Noma N, Benoliel R, Patel J, Eliav E. Topical Pregabalin and Diclofenac for the Treatment of Neuropathic Orofacial Pain in Rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. (査読有り) Oct 114(4);449-56 (2012)

〔学会発表〕(計 4件)

野間 昇, 篠田 雅路, 今村 佳樹, 岩田 幸一: ラット咬筋痛における P2X3 受容体および IL-1 の関与, 日本疼痛学会, 2013 年 7 月 12 日, 13 日, 埼玉

野間 昇, 出澤 幸, 篠田雅路, 岩田 幸一, 今村佳樹: ラット咬筋圧痛における ATP, IL-6, IL-1 の関与, 日本口腔顔面痛学会, 2012 年 11 月 3 日, 東京

出澤 幸, 野間 昇, 原 和彦, 大澤 憲二, 今村 佳樹: ラット咬筋圧痛における ATP, IL-6, IL-1 の関与, 日本口腔診断学会, 2012 年 9 月 14 日, 東京

Noboru Noma, Yoshiki Imamura, Masamichi Shinoda, Koichi Iwata: Involvement of ATP, IL-6 and IL-1beta in rat model of masseter muscle pathological pain. IASP, 2012 年 8 月 27-31 日: Milan, Italy

〔図書〕(計 2件)

野間 昇: 顎関節症. 痛みの診療 ベストプラクティス. 小川節郎, 牛田亨宏 編, メディカルレビュー社, Page24-25(2014)

野間 昇: 非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) 口腔顔面痛の診断と治療 ガイドブック, 日本口腔顔面痛学会 編, 医歯薬出版株式会社, Page102-107(2013)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野間 昇 (NOMA, Noboru)  
日本大学・歯学部・准教授  
研究者番号: 70386100

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: