

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：32404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861799

研究課題名(和文)矯正誘発疼痛モデルの評価と新規疼痛管理薬物の探索

研究課題名(英文) Pharmacological evaluation of the animal model of orthodontic treatment-induced pain.

研究代表者

佐々木 会 (SASAKI, Au)

明海大学・歯学部・助教

研究者番号：60580230

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、矯正力によって発現する疼痛を、定量評価可能なモデルを作成した。ラット門歯と第一臼歯に装着したコイルスプリングにて与え、左右の上顎第一臼歯の歯頸部に電気刺激を与え開口反射を誘発する電流値を左右で比較することで、疼痛を定量評価した。その結果、開口反射誘発閾値は、矯正力負荷一日後にいて右側(矯正側)で左側(対照側)に比較して有意な減少が認められた。その後、矯正力負荷三日後には開口反射誘発閾値の有意差はなくなり、七日後には反転するという結果が得られ、国内外の学会にて報告を行った(Neuroscience 2013, 2014 & 2015, 第74回日本矯正歯科学会：優秀ポスター賞受賞)。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the animal model for quantitative evaluation of the experimental orthodontic force-induced pain was established. The experimental orthodontic force was applied between maxillary incisors and right maxillary first molar by coil-spring. At one (D1), three (D3) and seven (D7) days after orthodontic force application, passing current was applied to bilateral maxillary first molar gingiva to evoke jaw-opening reflex then threshold for inducing jaw-opening reflex was compared between left and right side stimulations. At D1, significant reduction of the threshold for inducing jaw-opening reflex in right (orthodontic) side compared with that of left (control) side was observed. The significant reduction of right side threshold was disappeared at D3 and it was exceeded the left side threshold at D7. These results were presented at several congress meetings (e.g., Neuroscience 2013, 2014 & 2015, 74 th Japan Orthodontic Society: Poster Award).

研究分野：歯科矯正学分野

キーワード：電気生理刺激 矯正装置 ラット

## 1. 研究開始当初の背景

矯正治療は不正咬合の改善や審美的な要因から求められ、小児から成人まで幅広い年齢層を対象として行われている。矯正処置を開始して間もない時期には、患者の多くは頬粘膜に生じる矯正装置由来のびらんや歯の移動に伴う激しい疼痛を訴える。このような激しい疼痛は、摂食障害を引き起こし、矯正治療継続に対するモチベーションを低下させる原因となる。歯科領域の疼痛管理には酸性非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) が頻用される。NSAIDs は、シクロオキシゲナーゼを阻害してプロスタグランジン (PG) 類の産生を抑制し、炎症部位で鎮痛・消炎効果を示す。しかしながら、PG 類は生体内で様々な機能を持っており、その一つに破骨細胞前駆細胞の分化誘導が挙げられる。つまり、NSAIDs の投与が疼痛緩和とともに破骨細胞の抑制 (骨吸収抑制) を引き起こすことから、歯の移動を目的とした治療時に NSAIDs の投与は避けるべきと考えられている。また、歯科領域でもオピオイドなどの中枢作用性鎮痛薬が用いられることもあるが、耐性や依存の問題が存在し、矯正治療時に使用するの是一般的ではない。これらのことから、歯の移動時の疼痛管理については有効な手段がなく、患者の苦痛軽減のためにも確立が強く求められている。治療効果が期待される候補物質の効果測定には、実験動物を用いた検討が確実かつ一般的である。例えば抗炎症薬の鎮痛効果は、腹腔内に酢酸を投与して発現する体躯の伸展反応を指標とした酢酸 Writhing syndrome 法 (飯塚ら、薬理と治療、1986; Noguchi et al., Eur J Pharmacol, 2005) などで定量的に評価されている。しかしながら、歯の移動に伴う疼痛とその治療薬の効果を定量的に評価可能な動物モデルは存在していなかった。そこで応募者は、コイルスプリングを上顎右側の門歯と第一大臼歯に設置したラットの開口反射を指標として、歯の移動を目

的として矯正力負荷がもたらす疼痛を経時的に定量評価可能な動物モデルを考案し、その有効性を検討した。

## 2. 研究の目的

矯正治療は患者やその家族のデンタル IQ 向上に伴い、症例数が増加している。また、矯正装置と矯正理論の進歩から矯正期間の大幅な短縮などがもたらされ、患者の満足度も向上している。しかし歯の移動には疼痛が伴い、患者は苦痛に耐えなければならない。事実、無痛処置を謳う方法でも、個人差はあれ、疼痛は存在する。そこで、歯の移動時に生じる疼痛の管理方法の確立を目的とし、本申請では矯正力負荷に由来する疼痛の強度を評価可能な動物モデルを作製し、その妥当性の確認と、本モデルを用いた新規疼痛管理薬物の探索を行うことを目的とする。

## 3. 研究の方法

動物モデル作製：イソフルラン全身麻酔下のラットの上顎両側門歯と上顎右側第一大臼歯 (移動歯) をニッケルチタンコイルスプリング矯正装置にて連結し、30~50g の矯正力を負荷する。ラットを矯正装置装着から1日ごとに7日目までの群に分け、以下の実験に用いた。

歯の移動距離：装置装着前と装置装着1・3・7日にシリコーン印象採得後に上顎模型を作製し、2/100mm まで計測可能なキャリパーで測定した。

頭部回避閾値の経時的変化の評価：矯正スプリングが装着されたラットの鼻根部を von Frey hair にて刺激し、頭部を回避させる刺激強度 (回避閾値) を左右で検討する。刺激閾値は矯正装置装着から数日後には回復するので、この検討は最低でも7日間継続させ、同一個体の回避閾値の変動を経日的ならびに定量的に評価する。

開口反射誘発閾値の経時的変化の評価：1、

3, 7日後のラットをイソフルランにて麻酔導入し, 侵害受容反射の抑制された麻酔深度を維持する (2~3%, 1.0 ml/min)。テフロンコーティングステンレスワイヤにて心電図, 筋電図 (両側顎二腹筋前腹, 両側咬筋, オトガイ舌筋) 採取用の電極を留置する (Adachi et al., Mol Pain, 2010)。次いで電気刺激用の電極を上下左右の第一大臼歯部に留置する。麻酔深度を侵害受容反射 (hind limb withdrawal) 誘発レベルまで浅くし, 筋活動性を記録しながら, 刺激電極から段階的に電流刺激を右側上顎第一大臼歯に与え開口反射が生じる刺激閾値を測定する。各刺激強度における筋活動発現までの潜時ならびに筋活動の強度 (AUC), 持続時間, 周波数を解析し, 移動歯ならびにその他の第一大臼歯のデータを比較する。実験終了後, ラットに深麻酔を施し (イソフルラン5% + ペントバルビタール65 mg/kg, ip), 4%パラフォルムアルデヒドにて灌流固定する。左右の上顎第一大臼歯部ならびに三叉神経節を摘出し, 3日間後固定する。脱灰し5  $\mu\text{m}$ の薄切標本を作製し, TRAP 染色にて破骨細胞浸潤を矯正側と非矯正側で比較する。三叉神経節は30%スクロースに浸漬後, 10  $\mu\text{m}$ の薄切連続切片標本としGFAPにて免疫染色し, 活性化サテライトグリア細胞の分布特性を囲まれた神経細胞の数と合わせて評価し, 矯正側ならびに非矯正側で比較する。

#### 4. 研究成果

コイルスプリングを門歯と上顎右側の第一大臼歯に装着したラットの開口反射を指標として, 歯の移動を目的とした矯正力負荷がもたらす疼痛を経時的に定量評価可能な動物モデルを考案し, その妥当性・有効性を検討した。本モデルでは, 上顎両側第一大臼歯部歯肉に電気刺激を加え, 開口反射を誘発する閾値を左右で比較することで疼痛を評価することが可能で閾値は装置装着後1日目では

右側が有意に低く, 3日目ではほぼ左右差が消滅し, 7日目には左右差が反転するという結果を得た。また, 矯正力負荷後1-3日間は鼻根部刺激に反応して頭部を回避させる刺激閾値も, 左側に比較して右側が有意に減少していることも報告した (Neuroscience 2014, 2013 第72回日本矯正歯科学会: 優秀ポスター受賞)。これらは, 臨床的に認められる矯正力負荷後の疼痛レベルの経時的变化や関連痛の有無などを反映しており, 動物モデルに求められる face validity (表現型類似の妥当性), constructive validity (病因性類似の妥当性) の要件を証明したと考える。動物モデルに求められる要件の最後の一つである predictive validity (既存治療薬への応答性の類似) に関しては, アスピリンは有意に開咬反射閾値を回復させるがアセトアミノフェンは奏効しないことから証明がなされた (Neuroscience2015にて発表)。

#### 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16件)

1. A case of Unilateral Cleft Lip and Palate with Postoperative Skeletal Stability after Maxillary Distraction Osteogenesis.

A.Sasaki, E.Tanaka, D.Frank, R.Shinagawa, Y. Kato, M. Fujimoto, Y. Oku, H. Shigematu, M.Mano, H.Sakashita and N.Suda. 日本顎変形症学会雑誌 25 [3] (2015) p223-233

2. Le Fort 型骨切り術後に吸収性骨接合プレートにより骨片固定を行った3例。

久保 迪, 大塚 雄一郎, 金子 浩巳, 成田 亜希子, 佐々木 会, 遠藤 則和, 三條 恵介, 龍田 恒康, 嶋田 淳, 松井 成幸, 須田 直人. 日本顎変形症学会雑誌. 24 (3) pp269-279(2014)

3. Immunolocalization of Heat Shock Protein (Hsp25) in Developing Secondary

Palate of Mouse Embryos.  
Tohru Yamada, Au Sasaki, Yasuhiko Bando,  
Naoto Suda, Haruhide Kanegae and Osamu  
Amano. Pediatric Oral and Maxillofacial  
Surgery 24[1] (2014) p22-37

4. 睡眠時の呼吸障害を伴うCrouzon 症候群  
の1例.

真野樹子, 佐々木 会, 藤本 舞, 金子  
優, 三條 恵介, 品川 令, 箕田 碧,  
富田 至保, 菅原 康志, 須田 直人.

日本顎変形症学会雑誌 24 [ 4 ] (2014)  
p325-335

5.Characteristics and Effects of Muscle  
Fibers surrounding Lingual Carcinoma

Koji Sakiyama, Shota Takizawa, Yasuhiko  
Bando, Katsuyuki Inoue, SasakiAu,  
Katsuhide Kurokawa, Yoshiaki Shimoo,  
Masafumi Suzuki, Shinichi Abe and Osamu  
Amano. Journal of Hard Tissue

Biology.22(2) pp215-220(2013)

6.マウスメッセル軟骨の発生過程における  
アポトーシスの役割

土居 孝資, 山田 亨, 佐々木 会, 坂東 康  
彦, 崎山 浩司, 鐘ヶ江 晴秀, 須田 直人,  
天野 修. 明海歯学誌 .4(22) pp75-86(2013)

7. 明海大学病院矯正歯科における過去10年  
間の外科的矯正治療の検討

成田 亜希子, 大塚 雄一郎, 久保 迪, 遠藤  
則和, 佐々木 会, 龍田 恒靖, 重松 久夫,  
松井 成幸, 嶋田 淳, 坂下 英明, 須田 直  
人. 日本顎変形症学会雑誌, 23(3)  
pp181-190(2013)

[学会発表](計48件)

1. 矯正治療に伴う疼痛に対する動物モデル  
の薬理学的評価

佐々木 会, 長谷川 尚哉, 坂上 宏, 天  
野 修, 安達 一典, 須田 直人

第56回 歯科基礎医学会, 博多(2014)

2. 矯正治療に伴う疼痛に対する動物モデル  
を用いた評価系の開発 -第2報 歯の移動距  
離と発痛のタイミング-

長谷川 尚哉, 佐々木 会, 坂上 宏, 天  
野 修, 安達 一典, 須田 直人

第73回 日本矯正歯科学会大会, 幕張(2014)

3.Morphological and physiological  
alterations evoked by orthodontic force in  
rats

A. Sasaki, N. Hasegawa, K. Takahashi, G.  
Yun, T. Nagao, N. Suda, H. Sakagami and K.  
Adachi

Neuroscience 2014, Washington DC(2014)

4. 矯正治療に伴う疼痛に対する動物モデル  
を用いた評価系の開発

佐々木 会, 安達 一典, 天野 修, 加藤  
悠歩, 藤本 舞, 田中 恵理, 真野 樹子,  
坂上 宏, 須田 直人

第72回日本矯正歯科学会, 松本(2013)

5. Animal model for investigating  
orthodontic treatment-induced pain  
related features

Au Sasaki, Kenjiro Takahashi, Mikiko Mano,  
Naoto Suda, Osamu Amano, Hiroshi Sakagami  
and Kazunori Adachi

Neuroscience 2013, Sandiego(2013)

6. 思春期性成長前より長期観察を行った骨  
格性下顎前突症例における頭蓋底の成長

佐々木会, 松井成幸, 大塚雄一郎, 吉武崇,  
成田亜希子, 須田直人

第21回顎変形症学会, 東京(2011)

[図書](計 件)

[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

明海大学 形態機能成育学講座

歯科矯正学分野 助教 佐々木 会

研究者番号：60580230

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：