

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：32665

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893288

研究課題名(和文) 歯髄炎に起因した異所性異常疼痛に対する三叉神経節細胞間機能連関の分子機構解明

研究課題名(英文) The nerve mechanisms underlying tongue-referred pain associated with tooth pulp inflammation in trigeminal ganglion cells

研究代表者

大原 絹代 (OHARA, Kinuyo)

日本大学・歯学部・専修医

研究者番号：10731606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、歯髄炎に伴う異所性異常疼痛の発症機構を解明する目的で遂行した。歯髄炎を生じると、炎症歯髄を支配する三叉神経節細胞活動が著しく亢進し、三叉神経節細胞にToll-like Receptor 4が強く発現し、舌に異所性異常疼痛が発症することを確認した。さらに、Heat shock protein 70が炎症歯髄組織で合成されて三叉神経節に運ばれ、三叉神経節細胞から放出されて口腔顔面領域を支配している三叉神経節細胞上のTLRに結合することにより、炎症歯髄神経を支配する三叉神経節細胞だけでなく、その周辺部に存在する三叉神経節細胞にも作用し、活動性の増強をもたらすことを明らかにしている。

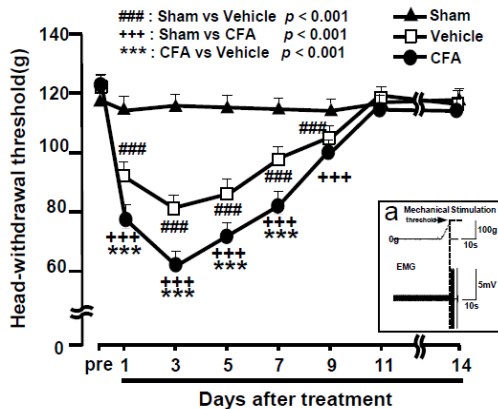
研究成果の概要(英文)：The purpose of the present study is to evaluate the mechanisms underlying tongue-referred pain associated with tooth pulp inflammation through TLR4 signaling in trigeminal ganglion cells. These results are the first documentation that TLR4 is involved in the ectopic tongue pain associated with M1TP inflammation. Following M1TP inflammation, Hsp70 is expressed in the pulpal tissues, transported to the cell bodies of the trigeminal ganglion neurons, or Hsp70 is expressed in TG cells, and then released from TG neurons innervating the inflamed M1TP. Hsp70 binds to TLR4 in TG neurons innervating the tongue, and the excitability of TG neurons innervating the tongue may be enhanced, resulting in ectopic tongue pain.

研究分野：歯内療法学

キーワード：歯髄炎 三叉神経節 異所性異常疼痛

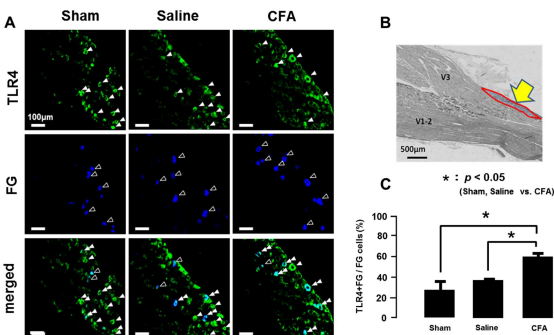
1. 研究開始当初の背景

歯髄に慢性炎症が引き起こされると、三叉神経節細胞は強く活性化され、高頻度の持続的な活動電位を誘発することが知られている。三叉神経節神経細胞におけるこのような活動性の増加は、炎症歯髄痛だけでなく顔面や舌の痛みを増強する可能性があると考えられている。このような長期間に及ぶ三叉神経節細胞活動の増強は、さらにグリア細胞の活性化を導き、神経細胞活動をより強く増強させ、末梢神経系の感作が誘導される。しかしながら、歯髄炎に起因する口腔顔面の異所性疼痛がどのようなメカニズムで引き起こされるかについては不明な点が多く残されている。これまで、歯髄炎が引き起こされると、炎症歯髄を支配する三叉神経節細胞活動が著しく亢進することにより三叉神経節細胞に Toll-like Receptor (TLR) が発現し、舌に異所性異常疼痛が発症することを報告した。



さらに、Heat shock protein70 (HSP70) (TLRのリガンド) が炎症歯髄組織で合成されて三叉神経節に運ばれ、三叉神経節細胞から放出されて口腔顔面領域を支配している三叉神経節細胞に存在する TLR に結合することによって、炎症歯髄神経を支配する三叉神経節細胞だけでなく、その周辺部に存在する三叉神経節細胞にも作用し、活動性の増強をもたらすことを明らかにした (J Neuroinflammation Ohara et al. 2014)。

また、三叉神経節細胞からは HSP70 だけでなく、種々の神経ペプチドや一酸化窒素なども放出され、周辺部に存在する三叉神経節細胞の活動性を増強させることも明らかにした。

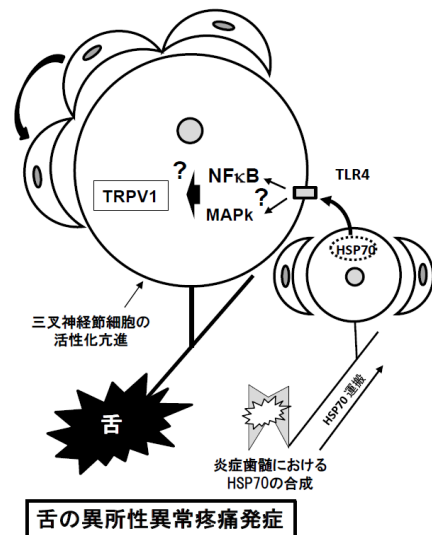


このような結果から、三叉神経節細胞どうしの機能的な相互作用が異所性異常疼痛の発症に対して重要な役割を成していることが明らかになった。しかし、TLR4 を介した三叉神経節細胞の活性化がいかなるメカニズムで炎症歯髄以外の口腔顔面領域を支配する三叉神経節細胞の活動性亢進に関与するかについては全く不明である。

歯髄に慢性的な炎症が引き起こされると、歯髄以外の部位(顔面皮膚、顎関節、歯根膜、舌あるいは口腔粘膜)に異所性異常疼痛として症状が生じる場合があるが、口腔顔面痛を熟知していない歯科医師は、このような異常疼痛を口腔や顔面痛による疾患と誤認し、誤った治療を行ってしまうことがある。歯髄炎に起因する口腔顔面領域の異所性異常疼痛は症状が多岐にわたるため、疾患箇所以外に異所性異常疼痛という形で全く異なる部位に慢性の痛みを引き起こす。そのため、正確な審査・診断を困難にし、臨床上非常に大きな問題を引き起こすことがある。歯髄炎に伴う異所性異常疼痛を解明することは、原因不明の口腔顔面痛により苦しんでいる患者に適切な治療を施し、不適切な歯科治療から患者を救うことに役立つと考えられる。

2. 研究の目的

本プロジェクトでは、歯髄炎によって誘導される異所性異常疼痛に対する三叉神経節細胞間における機能連関の分子メカニズムを明らかにする。



2014 年に Journal of Neuroinflammation (Ohara et al.) で報告したモデル動物を用い、舌に引き起こされる異所性異常疼痛の発症機構を解明する。同モデルラットの舌を支配する神経節細胞と TLR4 の発現状態を免疫組織学的に解析し、情報のやり取りがあるかどうかについて形態学的に明らかにする。さらに、TLR4 の下流には NFkB および MAPkinase の経路が存在し、これらのカスケードを介して熱感受性の受容体である TRPV1 の合成が亢

進すると考えられる。このような仮説に元づいて、舌あるいは口腔顔面領域を支配する三叉神経節細胞において TRPV1 合成が亢進するか否かについて形態学および生化学的に解析を行った。さらに、それぞれの受容体あるいは分子に対するブロッカーあるいは合成阻害薬を三叉神経節あるいは異常疼痛を発症している末梢組織に投与することによって、異所性の異常疼痛が抑制されるか否かについても検索を行った。

以上、本プロジェクトでは TLR4 の発現から TRPV1 合成に至る細胞内情報伝達経路を解明することによって、歯髄炎に起因する異所性異常疼痛発症に関する三叉神経節細胞内における分子メカニズムの解明を行動解析、三叉神経節細胞の活動性変化および各種物質の合成変化に関して免疫組織学手法および生化学的手法を用いて検討することを計画した。

3. 研究の方法

(1)モデルラットの作製

Sprague-Dawley (SD)系雄性ラットを pentobarbital Na (50 mg/kg, i.p.) で麻酔し、左側下顎の第一大臼歯 (M1) 歯髄を露髄させ、デンタルペーパーポイントに起炎物質である complete Freund's adjuvant (CFA) を投与し、ガラスアイオノマーにて仮封を行った歯髄炎モデルラット作製した。

(2)行動薬理学的解析

CFA 歯髄投与後、熱刺激用プローブおよび機械刺激用ホーセップスを使って舌の機械的および熱刺激に対する逃避閾値を経日的に計測した。覚醒下での舌痛覚テストは不可能なため、浅麻酔下にて行う。本教室では顎顔面領域における機械的および熱刺激に対する逃避閾値の計測に関して、浅麻酔下にて頭板状筋の EMG の変化を指標とした計測法を確立している (Honda et al., Mol Pain, 2008)。また、3 日目の歯髄炎モデルラットを用いて舌に TRPV1 の拮抗薬である SB366791 を局所投与し熱刺激用プローブにて、熱刺激に対する逃避閾値を経時的に計測した。

(3)免疫組織学的解析

舌に FG を投与し、TG 細胞における TLR4 および TRPV1 発現を歯髄炎モデル群および Sham 群において免疫組織化学的に検討した。

4. 研究成果

(1)TRPV1 の拮抗薬 (SB366791) 投与による行動薬理学的解析

舌に TRPV1 の拮抗薬である SB366791 を局所投与し行動学的観察を行った結果、SB366791 投与群では Saline 投与群に比較して機械および熱刺激に対する HWT の低下が有意に抑制された。このことから、TRPV1 受容体が異所性の異常疼痛に関与していると考えられる。

(2)TRPV1 の免疫組織学的解析

M1 歯髄炎後、舌の外側部に FG を注入により標識された TG 細胞において TRPV1 および TLR4 発現について解析を行った結果、歯髄炎ラットにおいて、FG で標識された TG 細胞を比較すると、歯髄炎ラット群の方が Sham ラット群よりも有意に多くの TG 細胞が TRPV1 および TRPV1 + TLR4 の陽性を示した。ゆえに、歯髄炎が発症したラットの舌を支配する TG 細胞では Sham 群に比べ歯髄炎群の方が TRPV1 の合成が亢進したと考えることができる。これは、TG 細胞に検出された TRPV1 が末梢の終末部および中枢ターミナルへと運ばれ、機能を発揮するものと推察される。おそらく、歯髄炎モデルでは、舌を支配する細径神経線維の神経終末部により多くの TRPV1 が集積して機能を発揮することによって舌に痛覚異常が引き起こされる可能性があると考えられる。

(3)総括

歯髄炎発症後、Hsp70 が歯髄組織に発現し、三叉神経節細胞体に軸索輸送され、歯髄を支配している TG 神経細胞体から細胞外分泌され、舌を支配している TG 神経細胞の TLR4 と結合し、舌を支配している TG 神経細胞の興奮性を増強する可能性が考えられている。この研究結果と今回の結果を勘案すると、興奮性を増した TG 神経細胞では、興奮性の亢進だけでなく TRPV1 受容体の合成も増加している可能性が明らかになった。また、少数ではあるが、M1 歯髄および舌を二重支配する TG 細胞の存在も確認されており、この細胞が歯髄炎によって興奮性が増加すると、舌の感覚も担っていることから、舌の痛覚亢進にも直接的に関与する可能性が考えられる。

本研究では上記の2つのメカニズムによって歯髄炎に起因する舌の痛覚異常が引き起こされると考えられるが、その詳細は不明である。さらに、これらの2つのメカニズムに関してより詳細な分子機構の解析を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

清水康平、羽鳥啓介、大原絹代、篠田雅路、小木曾文内、歯内療法における打診痛を考察する、日本歯科評論、76(3)巻、2016、47-58、査読無

Shimizu K, Matsumoto K, Noma N, Matsuura S, Ohara K, Komiya H, Watase T, Ogiso B, Tsuboi Y, Shinoda M, Hatori K, Nakaya Y, Iwata K、Involvement of trigeminal transition zone and laminated subnucleus caudalis in masseter muscle hyper sensitivity associated with tooth inflammation、PLoS One、9 巻、2014、1-11、査読有

〔学会発表〕(計 2件)

Kinuyo Ohara, Kohei Shimizu, Masamichi Shinoda, Bunnai Ogiso and Koichi Iwata, Toll-like receptor 4 in the trigeminal sensory neurons is involved in tongue-referred pain following tooth pulp inflammation, 9th Congress of the EUROPEAN PAIN FEDERATION EFIC, VIENNA(AUSTRIA)、2015年9月3日

大原 絹代、清水 康平、林 誠、井比 陽菜、小木曾 文内、歯髄の炎症は Toll-like Receptor 4 の働きを介して舌の異常疼痛を誘導する、第 141 回日本歯科保存学会秋季学術大会、山形テルサ(山形県山形市)、2014年10月31日

6 . 研究組織

(1)研究代表者

大原 絹代 (OHARA , Kinuyo)

日本大学・歯学部・専修医

研究者番号： 10731606

