

令和元年6月5日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11269

研究課題名(和文) 下歯槽神経損傷後の知覚回復メカニズムにおける加齢的变化の解析

研究課題名(英文) Experimental study on involvement of the central nervous system in inferior alveolar nerve damage-associated hyperalgesia of the mental region

研究代表者

代田 達夫 (Shirota, Tatsuo)

昭和大学・歯学部・教授

研究者番号：60235760

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの下歯槽神経を縫合糸で結紮することで下歯槽神経に損傷を加え、術後の経日的な行動学的変化を42日間観察した。また、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)におけるマイクログリア、アストログリアの活性化を解析するとともに、c-fos抗体陽性細胞の発現量を定量的に評価してニューロンの興奮状態を解析した。model群の逃避閾値は、術後5日目ではsham群と比較して最も有意に低下し、その後経時的な回復傾向を認めた。また、model群のVc領域では術後5日目でマイクログリアおよびアストログリアの活性化が認められ、c-fos抗体陽性細胞の発現量も有意に高い値を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

下顎枝矢状分割術は基本術式通りに施行しても、比較的高い頻度でオトガイ神経知覚異常が発症することが知られている。術後このような神経症状が残存した場合には、ステロイド剤の投与、ビタミンB複合体の投与あるいはATTP製剤の投与などが行われているが、その効果は明らかではなく、効果的な治療法は未だ確立されていない。

下歯槽神経損傷に伴うオトガイ部の痛覚過敏の慢性化には中枢神経系におけるマイクログリア-アストログリア-ニューロン間の相互作用の関与を示唆した本研究の成果は術後のオトガイ神経知覚異常の診断、治療そして予防に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The rat inferior alveolar nerve was damaged by ligation with thread, and the course of behavioral changes after surgery was observed for 42 days. In addition, activation of microglia and astroglia in the trigeminal spinal subnucleus caudalis (Vc) was analyzed using immunohistochemistry, and anti-c-fos antibody-reactive cells were quantitatively evaluated to analyze the state of neuron excitement. Withdrawal threshold was significantly decreased 5 days after surgery in the inferior alveolar nerve ligated (IANL) group compared with that in the sham group, and subsequently recovered over time. In addition, microglia and astroglia were activated in the Vc region 5 days after surgery in the model group, and anti-c-fos antibody-reactive cells were also significantly more frequent in the IANL group.

研究分野：口腔外科学

キーワード：下歯槽神経損傷 経因性疼痛 マイクログリア アストログリア 三叉神経脊髄路核尾側亜核 機械的痛覚過敏 神経

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

下顎枝矢状分割術は基本術式通りに施行しても、比較的高い頻度でオトガイ神経知覚異常が発症することが知られている。申請者らは下顎枝矢状分割術の合併症として起こるオトガイ神経知覚異常に関与する因子について共分散分析による統計学的な解析を行った結果、オトガイ神経知覚異常の残遺は患者の年齢が高くなるほど顕著であることを報告している。

一方、術後このような神経症状が残存した場合には、ステロイド剤の投与、ビタミン B 複合体の投与あるいは ATTP 製剤の投与などが行われているが、その効果は明らかではなく、効果的な治療法は未だ確立されていない。

2. 研究の目的

下歯槽神経損傷後に生じるオトガイ部の知覚障害への中枢神経系の関与について、下歯槽神経損傷モデルを用いて検討した。

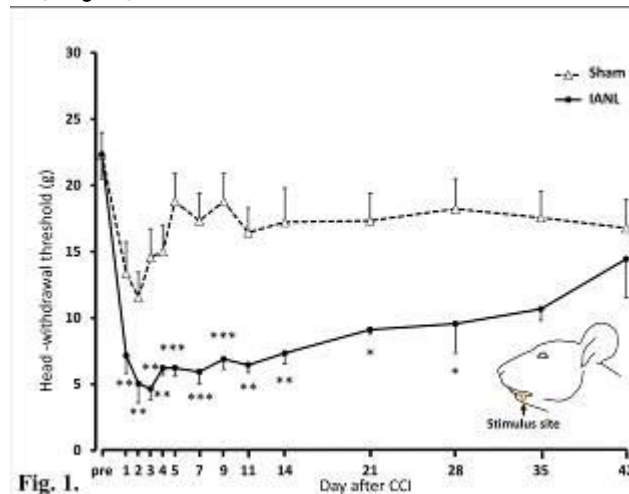
3. 研究の方法

ラットの下歯槽神経を縫合糸で結紮することで下歯槽神経に損傷を加え、術後の経日的な行動学的変化を 42 日間観察した。また、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)におけるマイクログリア、アストログリアの活性化を解析するとともに、c-fos 抗体陽性細胞の発現量を定量的に評価してニューロンの興奮状態を解析した。

4. 研究成果

(1) オトガイ部の機械刺激に対する逃避反射閾値

model 群の逃避閾値は、術後 5 日目では sham 群と比較して最も有意に低下し、その後経時的な回復傾向を認めた (Fig.1)。



(2) 下歯槽神経結紮術後の延髄および上部頸髄における抗 Iba 抗体陽性細胞

Model 群では術後 5 日目に太い突起と大きな細胞体を有する抗 Iba1 抗体陽性細胞が、延髄および上部頸髄にて観察された (Fig.2A)。一方、sham 群では抗 Iba1 抗体陽性細胞は僅かであった (Fig.2B)。抗 Iba 抗体陽性細胞の密度は、全ての計測領域で model 群の方が sham 群と比較して有意に高い値を示した (Fig.2C)。術後 21 日目では、model 群及び sham 群ともに抗 Iba1 抗体陽性細胞は僅かであり、各計測領域における抗 Iba1 抗体陽性細胞の密度も両群間に有意な差を認めなかった (Fig.2D-F)。術後 42 日目においても同様であった (Fig. 2G-I)。

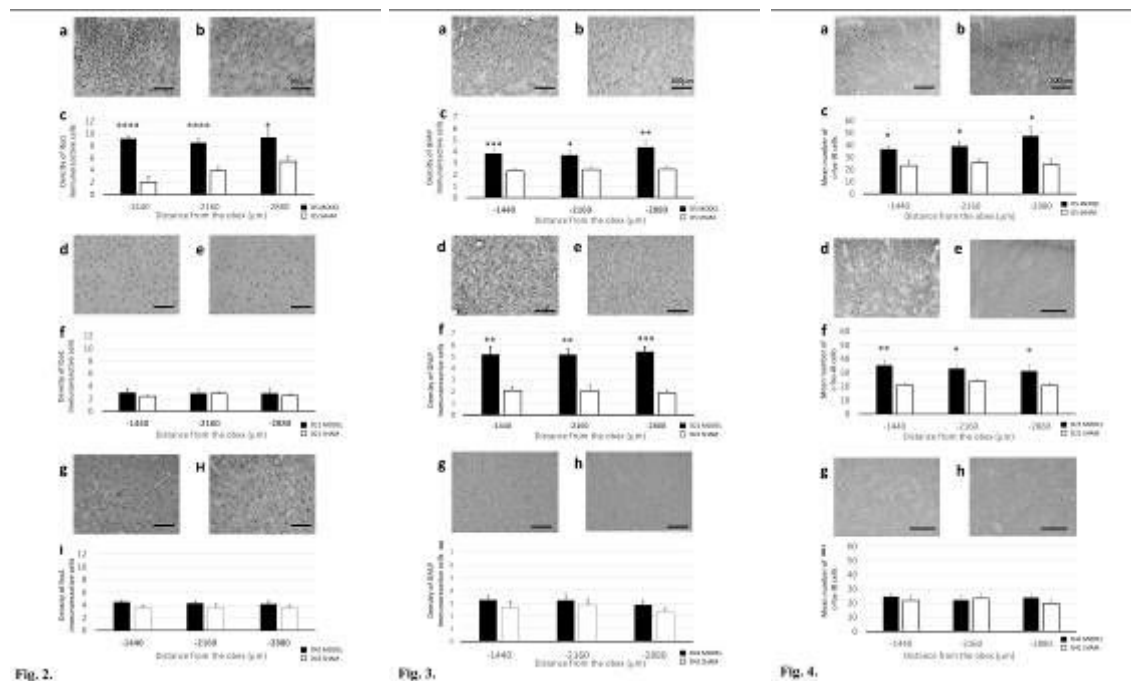
(3) 下歯槽神経結紮後の延髄・上部頸髄における抗 GFAP 抗体陽性細胞発現

術後 5 日目では GFAP 抗体陽性細胞は model 群では多く観察されたが (Fig.3A), sham 群では比較的少なかった (Fig.3B)。GFAP 抗体陽性細胞の密度は全ての計測領域で model 群の方が sham 群よりも有意に高い値を示した (Fig.3C)。術後 21 日目においても model 群では抗 GFAP 抗体陽性細胞は比較的多く見られたが、sham 群では僅かであった (Fig.3D,E)。GFAP 抗体陽性細胞の密度も術後 5 日目と同様に model 群の方が sham 群よりも有意に高い値を示した (Fig.3E)。術後 42 日目では両群ともに抗 GFAP 抗体陽性細胞わずかであった (Fig.3G, H)。また、GFAP 抗体陽性細胞の密度は両群間に有意差を認めなかった (Fig3I)。

(4) 下歯槽神経結紮モデルの延髄・上部頸髄における抗 c-fos 抗体陽性細胞発現

術後 5 日目では model 群には抗 c-fos 抗体陽性細胞が認められたが、sham 群では抗 c-fos 抗体陽性細胞は僅かであった (Fig4.A,B)。また、model 群では抗 c-fos 抗体陽性細胞の密度は sham 群に比べて有意に高い値を示した (Fig.4C)。21 日目においても、model 群では抗 c-fos 抗体陽性細胞が見られたが、sham 群では僅かであった (Fig4.D,E)。加えて model 群では抗 c-fos 抗体陽性細胞の密度は sham 群に比べて有意に高い値を示した (Fig.4F)。42 日目では、model 群および sham 群は共に抗 c-fos 抗体陽性細胞の発現は僅かであった (Fig.4G,H)。さら抗 c-fos 抗

太陽性細胞の密度でも両群間に統計学的有意差を認めなかった (Fig.4I)。



今回の結果より、下歯槽神経が損傷されてマイクログリアとアストログリアの活性化が導かれ、アストログリアより放出された CCL2 はニューロンに存在する受容体(CCR2)と結合することで二次ニューロンが活性化され、さらに Extracellular Signal-regulated Kinase (ERK) や glial-neuronal G protein-coupled receptor kinase 2(GRK2)経路が活発に活動したことによって中枢感作が引き起こされたと考えられる。

以上のことから、下顎枝矢状分割術などで下歯槽神経が外科的な侵襲を受けた場合には、中枢神経系におけるマイクログリア - アストログリア - ニューロン間の相互作用が関与してオトガイや下唇部に知覚異常の慢性化が生じる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Masaaki Kiyomoto, Tatsuo Shiota, Takashi Moriya, Hitoshi Sato, Shiro Nakamura, Tomio Inoue: Experimental study on involvement of the central nervous system in inferior alveolar nerve damage-associated hyperalgesia of the mental region. J Oral Maxillofac Surg, 2018 Oct;76(10): 2089.e1-2089.e8.doi: 10.1016/j.joms. (査読あり)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

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

取得状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：

取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

氏名：清本聖文 (韓 仁陽)

ローマ字氏名：Kiyomoto Masafumi

所属研究機関名：昭和大学

職名： 非常勤講師

研究者番号：(00712556)

研究分担者

氏名：近藤誠二

ローマ字氏名：Kondo Seiji

所属研究機関名：昭和大学

職名： 非常勤講師

研究者番号：(10432634)

(2)研究協力者

研究協力者氏名：中村雅典

ローマ字氏名：Nakamura Masanori

氏名：井上富雄

ローマ字氏名：Inoue Tomio

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。