

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 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592257

研究課題名（和文）慢性口腔顔面痛モデルを用いた、片頭痛発症の誘発因子としての三叉神経系感作の解明

研究課題名（英文）Sensitization of trigeminal nervous system by infraorbital nerve injury exacerbates the pathophysiology of migraine.

研究代表者

森本 佳成（YOSHINARI MORIMOTO）

大阪大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号：00264870

研究成果の概要（和文）：慢性口腔顔面痛ラットモデルとして右側眼窩下神経結紮（IoN-CCI）モデル（神経障害性疼痛モデル）の確立を行った。結紮3週間後に脳硬膜にカプサイシンを投与して片頭痛モデルを作成し、投与4分後の三叉神経脊髄路核における ERK のリン酸化（pERK）を免疫組織化学的手法にて確認した。その結果、ION-CCI モデルラットにカプサイシン処置を行った群では、右側の Obex から 1440 μ m 尾側にかけて、抗 pERK 抗体陽性細胞数がカプサイシン処置のみの群に比べて有意に増加した。

硬膜へのカプサイシン刺激により活性化された三叉神経第1枝により誘発される pERK 発現に三叉神経第2枝感作が影響を与えることが示唆された。これらの結果より、口腔顔面領域の慢性疼痛疾患の存在は片頭痛の増悪因子になり得る可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：We established the chronic constriction injury of the infraorbital nerve (ION-CCI) rat model as a chronic orofacial pain model (neuropathic pain model) by ION loose ligation. At 3 weeks after ION-CCI, the dura was stimulated by 10mM capsaicin, which was the one of the migraine models, followed by checking the expression of the phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (pERK) at the trigeminal spinal subnucleus caudalis by immunohistochemical staining method. It showed that the pERK-immunoreactive neurons statistically increased between ovex and 1440 μ m caudally in ION-CCI + capsaicin stimulating group compared to capsaicin stimulating group. Taken together, the sensitization of 2nd branch of trigeminal nerve by ION-CCI affected the activation of 1st branch of trigeminal nerve by capsaicin, suggesting that chronic orofacial pain may exacerbates the pathophysiology of migraine.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：歯科麻酔学、片頭痛、三叉神経系、慢性口腔顔面痛、眼窩下神経結紮、カプサイシン、pERK

1. 研究開始当初の背景

片頭痛は人口の 10%近くが罹患する疾患である。片頭痛は単なる頭痛とは異なり、特徴として片側性、拍動性で、動作による頭痛の悪化と悪心・嘔吐、音や光や臭いなどに対する感覚過敏を特徴とする。月に数回、発作が起こり日常生活の継続が困難となる。

片頭痛との合併疾患に関する疫学調査の結果、temporomandibular disorder (TMD)患者の約3割が片頭痛を合併し (Shimshak DG et al, Medical claims profiles of subjects with temporomandibular joint disorders. *Cranio*. 1997 Apr;15(2):150-8.)、また TMD患者は 1.8 倍片頭痛に罹患しやすい (Ciancaglini R et al, The relationship of bruxism with craniofacial pain and symptoms from the masticatory system in the adult population. *J Oral Rehabil*. 2001 Sep;28 (9):842-8.) ことが判明した。その他、上顎洞炎や頸部や背部の筋骨格系の痛みを合併する頻度も高いという。一方、片頭痛患者の多くは、発作の前兆として、閃輝暗点などの視覚異常、四肢脱力、頭部から上肢にかけてのアロディニア、生あくびなどの随伴症状がみられ、特に頭部皮膚のアロディニアは治療薬であるトリプタン製剤の早期服薬の指標として注目されている。

片頭痛の発生機序はいまだ解明されていないが、(1)片頭痛患者は口腔顔面痛を呈する疾患を高頻度に合併すること、(2)片頭痛前兆として頭頸部のアロディニアが出現すること、(3)片頭痛発症には三叉神経第1枝が関与しているという報告があることを考慮すると、片頭痛の発生に三叉神経系の感作が少なからず関与していることが強く推測される。したがって、口腔顔面領域の痛みの一次中継核である三叉神経脊髄路核の痛みによる感作は、片頭痛の発生に大いに関与しているものと考えられるが、これまで実験的にその影響を証明した研究は行われていない。

本研究の学術的な特色・独創性は、片頭痛動物モデルを用いて、三叉神経領域の慢性痛が片頭痛に対してどのような影響を与えるかを実験的に明らかにすることにある。近年、片頭痛に罹患している患者が増加しているものの、その発症メカニズムを解明するための基礎研究を行っている施設は国内では少なく、そういった点からも本研究は大変有意義なものであると考えられる。本研究結果より、三叉神経の感作と片頭痛発生の関連が明

らかとなった場合には、片頭痛を有する患者における口腔顔面領域の慢性疼痛疾患の存在は片頭痛の誘発または増悪因子となり得ることを意味する。したがって、片頭痛の発作のコントロールの一環として、歯科における慢性口腔顔面痛の治療が重要性を持つこととなる。

2. 研究の目的

近年、痛覚伝達には extracellular signal-regulated kinase のリン酸化 (pERK) が関与していることが明らかとなった (Ji R-R et al, Nociceptive-specific activation of ERK in spinal neurons contributes to pain hypersensitivity. *Nat Neurosci*. 1999; 2(12): 1114-1119)。そこで、本研究では pERK を疼痛評価の指標として、片頭痛動物モデルの一つであるカプサイシン脳硬膜刺激モデルを用いて、三叉神経領域に慢性痛を与えた場合の、三叉神経脊髄路核における pERK 発現の変化を検討し、片頭痛の発生機序および増悪因子としての三叉神経系感作の影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 眼窩下神経結紮モデル (神経障害性疼痛モデル) の確立 (Kernisant M et al, Chronic constriction injury of the infraorbital nerve in the rat using modified syringe needle. *J Neurosci Methods*. 2008; 172(1): 43-47)

①250g-300g の雄性 Sprague-Dawley (SD) ラットをペントバルビタールにて麻酔をかけた。

②右側内眼角と鼻尖を結んだ線の内眼角より3分の1の皮膚に約5mmの縦切開を入れ、筋組織等をよけて眼窩下神経を5mmほど露出させた。

③4-0 ナイロン糸を眼窩下神経の下に通した。2mm間隔をあけて、2ヶ所緩く結紮した。

(2) 上記モデルの疼痛行動評価

von Frey filament により Whisker pad に機械刺激を与え、それに対する逃避行動を経時的に評価した。tactile allodynia を発症しているラットのみを以下の実験に使用した。

(3) 脳硬膜へのカプサイシン刺激による ERK リン酸化の検討

① 結紮3週間後、ペントバルビタール麻酔下に、脳定位固定装置に頭部を固定し、右側頭蓋骨の一部に直径10mmのburrholeを作成

し、硬膜を露出させた。

② 1時間後、burrhole 硬膜上に 10mM カプサイシンを投与した。

③ 4分後、4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定し、延髄から頸髄にかけて摘出した。

④ 摘出した組織から 40 μm の連続切片を作成し、pERK 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。

⑤ カプサイシン刺激のみのグループにおいては、ION-CCI を行っていないラットの脳硬膜をカプサイシンで刺激したのち、同様に組織を摘出し、pERK 抗体による免疫組織化学染色を行った。

⑥ これらのグループの抗 pERK 抗体陽性細胞平均数を算出し、比較検討した。

4. 研究成果

(1) 眼窩下神経結紮後、機械刺激に対して逃避行動を起こす疼痛閾値が徐々に低下し、3週間目で有意に低下した (図 1)。

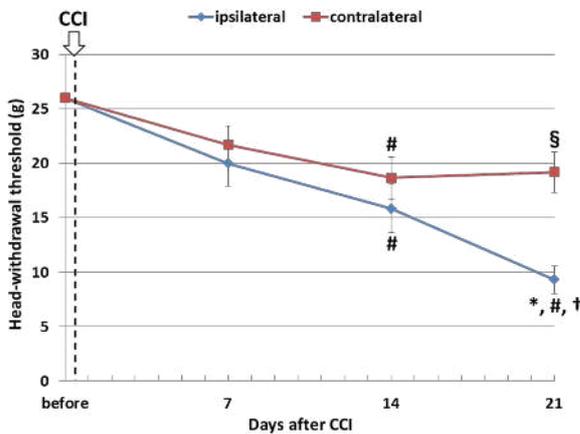


図 1 CCI後の機械刺激に対する疼痛閾値の経時的变化

Data are expressed as mean ± SEM.

* : P<0.01 vs contralateral, # : P<0.01 vs before,

† : P<0.01 vs Day 7, § : P<0.05 vs before

(2) 結紮 3週間後に右側硬膜にカプサイシン刺激を行ったところ、obex から 1440 μm 尾側にかけて、ION-CCI3週間後にカプサイシン刺激したグループでは pERK 抗体陽性細胞数がカプサイシン刺激のみのグループと比較して有意に増加していた (図 2、3)。

本研究により、三叉神経第 2 枝の神経障害による慢性疼痛刺激は、第 2 枝だけでなく第 1 枝も感作し、それに関連した疼痛を増悪することが示唆された。この結果は、口腔顔面領域の慢性疼痛疾患の存在は片頭痛の増悪因子となりうる可能性を示すものである。今後、免疫組織化学的手法により三叉神経節での pERK 発現も検討するとともに、行動実験や神経伝達物質放出量測定などによる検討や Cortical Spreading Depression モデルな

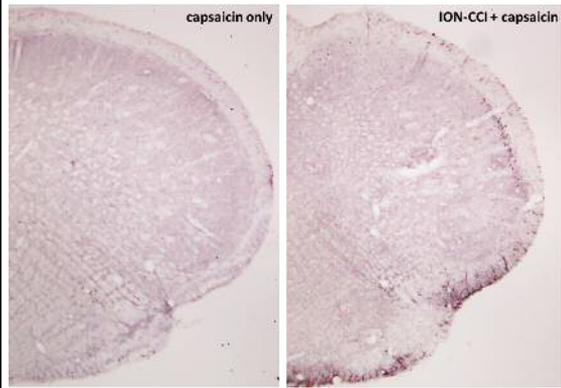


図 2 右側眼窩下神経結紮ラットの脳硬膜へのカプサイシン刺激により三叉神経脊髄路核に発現した抗pERK抗体陽性細胞の組織標本写真(右側、obexより720μm尾側)

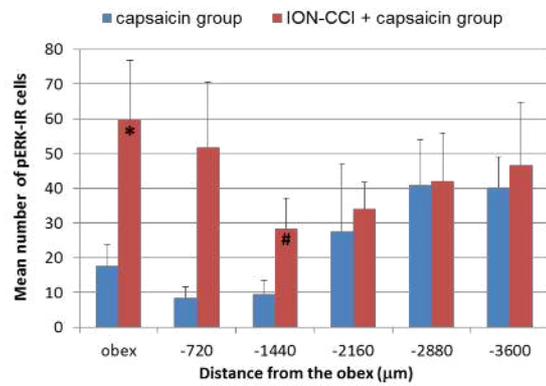


図 3 硬膜にカプサイシンを投与して4分後、三叉神経脊髄路核尾側亜核に発現した抗pERK抗体陽性細胞の吻尾方向の分布

Data are expressed as mean ± SD.

* : P<0.01 vs capsaicin group

: P<0.05 vs capsaicin group

どの他の片頭痛モデルを用いたさらなる検討が必要と思われる。

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)

[学会発表] (計 1 件)

① 遠山 緑、森本佳成、工藤千穂、丹羽 均 慢性口腔顔面痛モデルを用いた、片頭痛発症の誘発因子としての三叉神経系感作の解明、第 41 回日本歯科麻酔学会総会・学術大会、2013. 10. 3、新横浜国際ホテル、神奈川県横浜市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本 佳成 (YOSHINARI MORIMOTO)

大阪大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号 : 0 0 2 6 4 8 7 0

(2)研究分担者

①工藤 千穂 (CHIHO KUDO)

大阪大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：20533110

②丹羽 均 (HITOSHI NIWA)

大阪大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：30218250