

令和元年6月20日現在

機関番号：32404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20653

研究課題名(和文) 歯の移動に伴う疼痛:新規治療薬の探索と発現機構の解明

研究課題名(英文) The pain associated with tooth movement : Search for new therapeutic agents and elucidation of expression mechanism

研究代表者

佐々木 会 (SASAKI, AU)

明海大学・歯学部・講師

研究者番号：60580230

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本動物実験モデルにて、開口反射閾値は矯正装置装着後1日目で有意に低くなり、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。これは、装置装着後1日目で、最大の痛みが発現することを示した。破骨細胞数は1日から7日目にかけ増加し、歯の移動量も同様に7日目で最大移動量を示すことも報告した。これらは、臨床的に認められる矯正力負荷後の痛みのレベルの経時的変化や関連痛などを表していた。また、アスピリン投与は、濃度依存的に有意に開咬反射閾値を回復することを証明した。これら理由から、新規疼痛管理薬物の探索ならびに矯正治療で生じる侵害受容機構の变化解明の一助となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請の特色は、矯正処置によって生じる疼痛をやわらげ、骨の代謝に影響しない鎮痛薬の探索をおこなう点である。今回研究を進めたことにより、痛みは装置装着後1日目で発現し、7日目には痛みが消失。骨を溶かす細胞数は1日から7日目にかけ増加し、歯の移動量も同様に7日目で最大移動量を示すことも報告した。また、鎮痛薬としてアスピリンの投与が痛みに及ぼす影響を検討した。アスピリンの投与により、痛みは減少し、骨を溶かす細胞も減少した。このような結果は疼痛の原因解明ならびに治療法確立に貢献する可能性も高い。以上から本研究は、矯正患者を苦痛から少しでも解放するために非常に重要なアプローチであったことが考えられた。

研究成果の概要(英文)： In this animal experimental model, the jaw-opening reflection threshold was significantly lowered the day 1 after setting the orthodontics device, and the difference was almost eliminated the day 3, and the difference was reversed on the day 7. This indicated that the maximum pain developed at day 1 after the device was set. The number of osteoclasts increased from day 1 to day 7, and it was also reported that the teeth movement showed the maximum movement on day 7.

These represent temporal changes in the level of pain after correction that is clinically recognized and related pain. In addition, it was demonstrated that aspirin administration significantly restored the jaw-opening reflection threshold in a concentration dependent manner. For these reasons, they have helped to search for new pain management drugs and elucidate changes in nociceptive mechanisms that occur in orthodontics treatment.

研究分野：歯科矯正学分野

キーワード：矯正治療 痛み 開口反射

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

## 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。矯正治療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、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。酸性 NSAIDs は、シクロオキシゲナーゼ (COX) 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、酸性 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投与は避けるべきと考えられ、矯正治療時に使用するの一般的ではない。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た。このような社会的要請に応えるべく、明海大学歯学部形態機能成育学講座矯正学分野では、歯の移動に影響を与えない鎮痛薬の探索・開発を目的として系統的に研究を行っていた。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た。しかしながら、歯の移動に伴う疼痛とその治療方法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。

## 2. 研究の目的

これまで応募者は、コイルスプリングを門歯と上顎右側の第一臼歯に装着し、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・有効性を検討してきた。歯の移動に伴って発現する疼痛の強度を評価可能な動物モデルが確立されつつあったことから、本申請では、本モデルで誘発される歯の移動量の精査と既存の侵害受容器のアンタゴニストの投与が本動物実験モデルに及ぼす影響の解析を行った。候補物質としては、既に他分野で末梢投与に由る臨床応用がなされている薬物で新たに鎮痛効果が報告され、かつ、その作用で矯正力負荷によって生じる三叉神経変性を抑制できると推察される薬物を選択した。同時進行で、三叉神経節ならびに三叉神経脊髄路核のグリア細胞活性を評価することで、矯正力負荷で生じる神経組織変化を評価することを計画とした。本申請の特徴は、矯正処置によって生じる疼痛を緩和し骨代謝に影響しない鎮痛薬の探索をおこなう点である。さらに、動物を用いることで、矯正力の負荷によって生じる侵害受容機構変調を機能的・形態的に詳細に検討することが可能である。また、本モデルが与える知見は神経因性疼痛の原因解明ならびに治療方法確立に貢献する可能性も高い。しかも、新たな治療方法の確立の際に、その作用機序も明らかにすることで信頼性かつ安全性の高い疼痛管理法を樹立することを目的とした。

### 3. 研究の方法

動物モデルとして、イソフルラン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、30～50 g 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、以下の実験に用いる。

歯の移動量の定量評価として、矯正力負荷前と開口反射誘発閾値測定後（矯正力負荷 1, 3, 7 日後）のラットの上顎を印象採得し、模型を作成し、左右の上顎第一大臼歯と第二大臼歯間の距離を精密ノギスにて測定する。

薬物投与の効果測定：上記方法で作成したモデルに、TRPV1 受容体アンタゴニストである A-88925, caspazepine や P2X<sub>2/3</sub> 受容体のアンタゴニストのいずれかを投与する。

開口反射誘発閾値の経時的变化の評価：1 日後のラットをイソフルランにて麻酔導入し、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。

実験終了後、ラットに深麻酔を施し 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、三叉神経節ならびに脳幹部を摘出し、第一大臼歯部は脱灰し 10 μm 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。三叉神経節ならびに脳幹部は 30%スクロースに浸漬後、10 μm の薄切連続切片標本とし GFAP と Iba1 にてそれぞれ免疫染色し、活性化サテライトグリア細胞と活性化ミクロ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

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あり、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( 図 1A )。成熟破骨細胞数は 1 日から 7 日目にかけ増加し、歯の移動量も同様に 7 日目で最大移動量を示す( 図 1B、C ) ことも報告した。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、アスピリン投与は、濃度依存的に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( 図 1D ) ( Orthodontic treatment induced temporal alteration of jaw-opening reflex excitability. 2017. Journal of Neurophysiology に掲載 )。

次に、歯の移動に不可欠な破骨細胞由来の酸刺激に着目し、TRPV1 拮抗薬の投与が開口反射閾値に及ぼす影響を検討した。その結果、A-889425 の投与が用量依存的に開口反射閾値の低下を有意に抑制することが明らかになった（図2）。このことは、TRPV1 機構が歯の移動に伴う疼痛の発現に関与しており、その活性を抑制することは有効な疼痛管理につながる可能性を示唆していた。

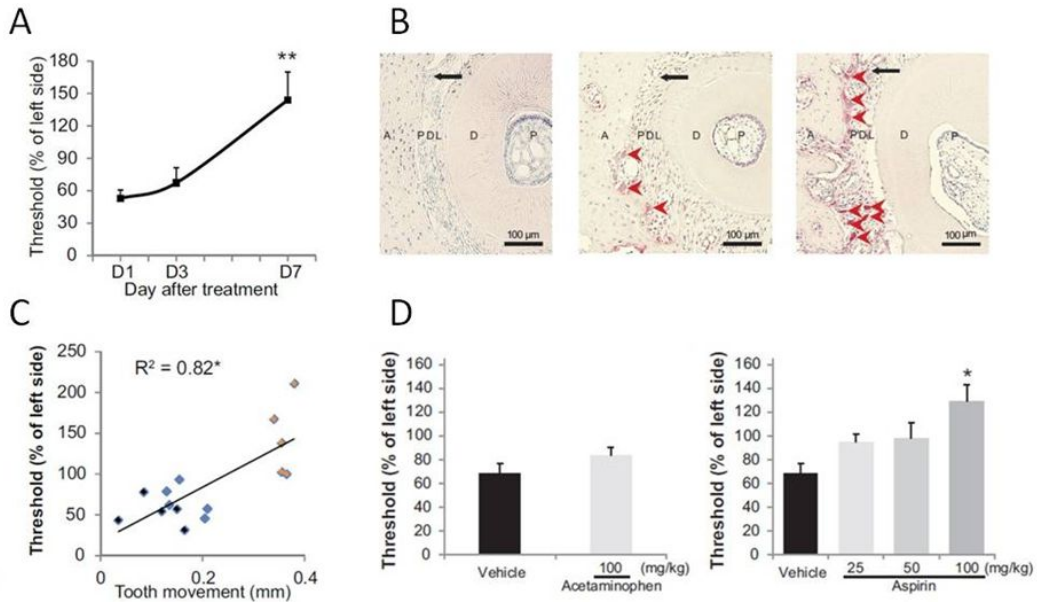


図 1 A:開咬反射を誘発する口腔内刺激閾値の変化 B:成熟破骨細胞の経時的変化 C:歯の移動距離 D: アセトアミノヘン一日投与とアスピリン一日投与での開咬反射閾値変動

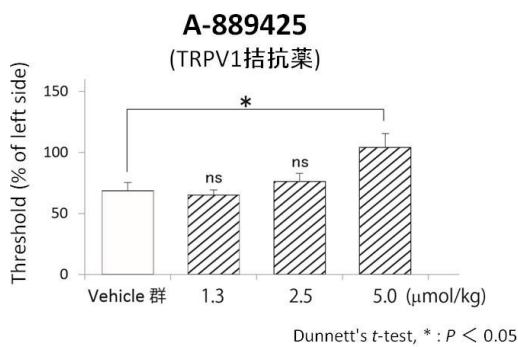


図 2 TRPV1 拮抗薬投与の影響

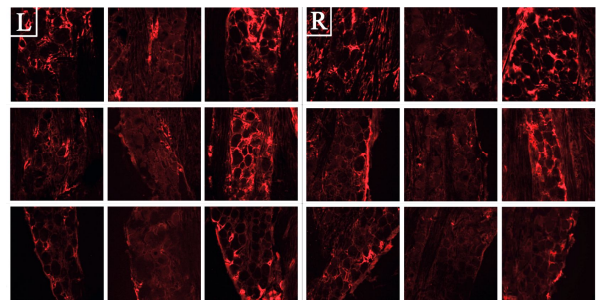


図 3 三叉神経節サテライトグリア細胞の活性化：右側への矯正力の不可が両側性の活性化を示している

また、本モデルを用いて、炎症性サイトカインを評価することで、作用機序の解明を行っている。歯の移動に伴う突痛の発現機序の解明を行うために、末梢神経節 GFAP (Glial fibrillary acidic protein) の発現を評価した。矯正装置を付加することで、三叉神経節のサテライトグリア活性が上昇する事も予備実験で確認がした（図3）。しかしながら、こちらは現在、まだ定量評価には至って居らず、現在解析中である。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

・Sasaki A, Hasegawa N, Adachi K, Sakagami H, Suda N .Orthodontic treatment induced temporal alteration of jaw-opening reflex excitability. Journal of Neurophysiology, 2017 , doi: 10.1152

〔学会発表〕(計 5 件)

・長谷川尚哉, 佐々木会, 土屋隆子, 坂上宏, 安達一典, 須田直人, 矯正治療に伴う疼痛に対する新規疼痛制御物質の探索. 第 58 回歯科基礎医学会学術大会、北海道, 2016 年

・長谷川尚哉, 佐々木会, 土屋隆子, 坂上宏, 安達一典, 須田直人, 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 3 報-. 第 75 回日本矯正歯科学会大会、徳島, 2016

・Hasegawa N, Sasaki A, Tsuchiya T, Suda N, Sakagami H, Adachi K. Effects of TRPV1 receptor antagonism on orthodontic force induced pain. Neuroscience 2016, Chicago, 2016

・Hasegawa N, Sasaki A, Tsuchiya T, Suda N, Adachi K . Effects of TRPV1 receptor long term antagonism on orthodontic force induced pain . Neuroscience 2017, Washington, DC, 2017

・長谷川 尚哉, 佐々木 会, 土屋 隆子, 安達 一典, 須田 直人 .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 4 報) TRPV1 拮抗薬の歯の移動に対する効果 .第 77 回日本矯正歯科学会大会,札幌, 2017

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。