

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K11902

研究課題名(和文) 病的情動変容が惹起する口腔顔面領域心因性疼痛の行動生理学的解明

研究課題名(英文) Behavioral and physiological elucidation on psychogenic Orofacial pain caused by emotional change

研究代表者

田中 裕 (Tanaka, Yutaka)

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：50323978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：近年顎顔面口腔領域における原因不明の慢性疼痛患者は増加してきており、これらの患者の多くは心理的因子の関与、すなわち病的情動変容が関与する「心因性疼痛」の可能性がある。そこで、これら病的情動変容状態と疼痛との関連性について動物実験を用いて行動生理学的検討により解明することを本研究を実施した。動物実験には3種類のモデルラットを用い、下顎開口反射試験と機械的触刺激による逃避反応試験を主体に調査を行った。その結果、病的情動変容状態と疼痛の関与、および心因性疼痛のメカニズムの解明は明らかにはできなかったが、病的情動変容と疼痛との関連性の検討は今後も重要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々はこれまで、口腔顔面痛患者の病的情動変容状態と慢性疼痛との関連性について臨床研究によって明らかにしてきた。そこで、今回我々は、口腔顔面痛の疼痛と病的な心理状態との関連性について、動物実験により行動生理学的な解明を試みた。本研究では、3種類のモデルラットを用いて、行動生理学的に調査研究を行ったが、疼痛と心理的因子の関連性を明らかにする結果は導き出すことができなかった。しかし、心理的因子としての病的情動変容状態と原因不明の疼痛との関連性を明らかにする研究は今後も非常に重要であり、我々も基礎的、臨床的にさらなる研究を続けていきたいと考えている。

研究成果の概要(英文)： In recent years, the number of patients with orofacial pain of unknown cause has been increasing, and it has been pointed out that much of this pain may be "psychogenic pain". We have been conducting clinical studies on the relationship between pathological psychological states and chronic pain in patients with orofacial pain. In the present study, we aimed to elucidate the relationship between unexplained chronic pain and pathological altered emotional states by animal experiments. In this study, we mainly measured the Jaw opening reflex and the escape response to mechanical touch stimuli in three different rat models. Although the results of the present study did not provide clear results on the relationship between oral-facial pain and psychological factors, we believe that further research to clarify these relationships is very important and that we need to continue our basic and clinical research in the future.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：口腔顔面痛 慢性疼痛 病的情動変容 心因性疼痛 不定愁訴

## 1. 研究開始当初の背景

近年原因不明の全身的な疼痛を有する患者、いわゆる慢性疼痛患者は増加してきており、歯科領域も同様である。これらいわゆる“口腔顔面痛”患者の診療現場では、「心理的ストレスや不安・抑うつなどの病的情動変容状態は痛みを増強させる(=痛覚過敏)」、「病的ストレスは痛みを発生させる(=心因性疼痛)」ということを経験的に感じる事が少なくない。しかし、この心身医学的仮説は未だ明確には証明はなされていない。我々はこれまで、原因不明や難治性の顎顔面口腔領域の慢性疼痛、特に疼痛の器質的原因がみられない、いわゆる「(心因性)口腔顔面痛患者」を中心にこの心身医学的仮説の解明を目指して臨床研究を進めてきた<sup>1)</sup>。しかし臨床研究では、対象患者の病態や情動状態などのばらつきが非常に大きいため、ストレス状態、不安・抑うつ状態といった病的な情動変容状態と疼痛との関連性をいまだ明確に証明しきれていないのが現状である。一方、動物実験を用いた基礎研究においても、いまだ病的情動状態と疼痛との関連性が十分に立証されているとは言い難い。そこで、臨床現場からフィードバックする形で病的情動変容状態のラットを作成し、行動生理学的に、病的情動変容状態と痛みの関係、すなわち「痛みと心理的因子は相互に作用する」という心身医学的仮説の検証を試みた。

## 2. 研究の目的

本研究では、日常臨床現場で経験する口腔顔面痛患者の情動変容状態を基礎的にフィードバックさせた複数の情動状態のラットを作成し、行動生理学的な動物実験を行って病的情動変容状態が顎顔面口腔領域の「疼痛に対する顎反射機能自体の変調」と「疼痛閾値の変化」を生じさせるかを調査する。

## 3. 研究の方法

本研究は、研究期間内において共同研究者5名中3名が退職したため、研究遂行のために3年間の研究期間に加えて2年間延長申請した。しかし、この2年間の研究延長期間がほぼ全て新型コロナウイルス感染症の影響を受けることとなり、その結果、研究施設使用制限、研究物品購入制限、さらには研究物品の販売停止による購入不可などが生じ、研究代表者の研究エフォートも下げなければならない事態が生じてしまった。加えて、研究代表者自身も病院業務の影響から新型コロナウイルス感染症の濃厚接触対象者として複数回・一定期間にわたって業務停止期間が生じ、当初予定していた研究計画も変更の設定を余儀なくされた。よって最終的な研究方法の確定までかなりの時間を要したことから、当初の研究計画、およびその後の研究計画の変更までを含め、研究方法について報告する。

### 1) 実験動物モデル(ラット)作成

本研究では共同研究者の協力のもと、同時期に並行して共同研究者とともに実施していた研究方法<sup>2,3)</sup>に順じて研究を進めることとし(Niigata University Intramural Animal Use and Care Committee, Niigata, Japan (Approval Number 42))、さらに共同研究者の研究成果<sup>2-5)</sup>との比較検討を行いながら研究を進める方針としたため、実験用ラットには6-10週のSD系雄性ラットを用いることとし、そこに6-10週のWister Kyoto Rat(雄)を加えて追加研究を行う方法をとることとした。研究の基礎的データ収集対象となるSDラットについては、共同研究者の吉川らの研究<sup>2,3)</sup>にて作成した下歯槽神経損傷のshamラット作成方法に準拠し、麻酔下に下顎の頬側皮膚を切開し、頬側の下顎骨皮質骨を切削して下歯槽神経を露出させた後、そのまま骨蠟で露

出部位を被覆して皮膚縫合することにより作成した。このラットに対して、①咬筋に0.9%生理食塩水を注射する control 群1 (以下、C1 群)と、②咬筋にホルマリン(F)注射を注射した群(以下、C2F 群)の2群を作成した。

## 2) 実験方法の確立、実験1 (実験データの収集)

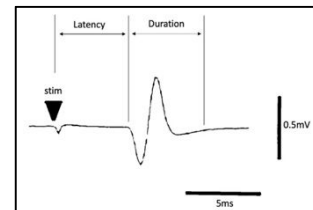
### (1) 麻酔下、生理学的実験

ラットの麻酔はセボフルラン吸入後、塩酸メドミジン(0.375 mg/kg)、ミダゾラム(2 mg/kg)、酒石酸ブトルファノール(2.5 mg/kg)による、三種混合麻酔薬を腹腔内投与し、後肢のピンチ刺激による引き抜き反射が消失している程度の麻酔深度で調節した。大腿動脈にカニユーレを挿入して静脈路を確保、顎下部には皮膚切開して、顎二腹筋前腹に筋活動検出用の電極を挿入した。刺激電極は下顎の手術部位から挿入し、下歯槽神経に設置・固定した。

#### ①下顎開口反射測定(JOR) 【実験1-①】

「C1 群」は0.9%生理食塩水0.05ml、「C2F 群」には疼痛薬剤である5%ホルマリン0.05mLをそれぞれ注射した。

なお、ホルマリン試験の2相性変化<sup>4,5)</sup>を考慮し第1相(投与直後1分以内)、第2相(投与後20分)、および第3相(反応消失、



投与後60分)の3時点での下顎開口反射を測定した。なお、電気刺激は測定する顎二腹筋と同側下歯槽神経にて実施し、パルス刺激(1Hz単発パルス、0.2ミリ秒持続)を5秒間隔で10回神経を刺激して平均値を求めた。さらにJOR閾値は、この筋の筋電選択性反射反応を誘発する最小刺激電流として決定し、応答潜時、閾値、持続時間はJOR閾値の1.5倍に設定して測定した。

#### ②ナロキソン処理後の下顎開口反射測定(JOR) 【実験1-②】

当初の予定では、疼痛に対するカンナビノイド受容体(CB1)の関与の調査を検討しており、疼痛刺激後に静脈血採血して、 $\mu$ -エンドルフィン濃度を測定することを検討していた。しかし当初使用を予定していたELISA/EIAキットである $\mu$ -Endorphin EIA Kit™(フナコシ社製)が新型コロナウイルス感染症による輸入規制等の影響もあって研究期間中(現在まで)販売停止となっており、さらに外注検査委託は予算的問題が生じてしまうため、カンナビノイド受容体システムと鎮痛効果発現において共通の経路を用いており、Gタンパク質共役型受容体(G protein-coupled receptor: GPCR)を介してその活性を発揮することが分かっているオピオイド受容体を代替で検査することとし、これまで共同研究者が研究実施しているナロキソンの全身投与と下顎開口反射測定を行って擬似的にカンナビノイド受容体の関与の可能性を評価することとした。調査方法は、上述の【実験1-①】の実験方法を実施する10分前にナロキソン1.0 mg/kgを0.5 mlの等張食塩水に溶解して静脈内投与し、その後上記【実験1-①】と同様の実験方法にて調査をおこなった。

### (2) 覚醒状態による行動学的実験 【実験1-③】 機械的触刺激に対する逃避閾値測定

実験1で作成するラットは、いずれも下顎骨に機械的刺激や薬剤的刺激がすでに存在していることから、これらのラットを長期的に調査することで、実験後初期経過中では「口腔顔面痛が惹起されている病態」そして、後期経過中では「痛み消失後、痛み記憶が存在しているラット」として、行動学的実験を検討していた。しかし、この実験系も新型コロナウイルス感染症の影響による研究施設使用制限と研究代表者のエフォート調整の必要性から、長期経過による実験系の見直しが必要となった。

そこで、麻酔下 生理学的実験(【実験1-①】、【実験1-②】)終了後に頭部固定から外したラットの各種電極を除去し、最低2時間以上ゲージ内に戻して麻酔覚醒させ、この覚醒ラットに対して von Frey hair を用い下顎部の機械的触刺激閾値による逃避反応閾値を測定した。

### 3) Wister Kyoto Rat を用いた実験データの収集 【実験 2-①、②、③】

上記の実験 1 による対象群の基礎実験データ収集の後、ストレス脆弱モデルといわれている Wister Kyoto Rat を用い、実験 1 と同様のモデルを作成し (WKR1 群、WKR2 群) 【実験 1-①、②、③】と同様の実験を行い、基礎実験データとの比較検討を行うことを予定した。

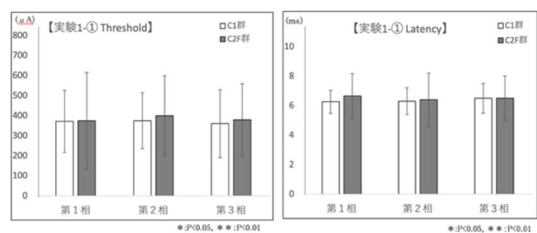
### 4) 予備実験後の実験方法変更内容

本実験前に予備実験を繰り返したところ、当初電極は下歯槽神経に加えて下顎前歯部歯髄にも設置する予定であったが、データにばらつきが大きく、またすでに下歯槽神経の電気刺激自体が侵害刺激となっていることから、下歯槽神経のみに刺激電極を設置する方法に変更した。さらに JOR の反応持続時間はホルマリン注射による誘発筋電図の影響によるノイズのために判定が困難であったため、本実験では刺激潜時と刺激閾値の 2 項目のみの測定に変更した。

## 4. 研究成果

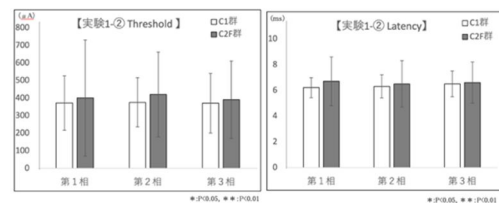
### 1) 下顎開口反射測定 (JOR) 【実験 1-①】

下歯槽神経刺激による下顎開口反射 (JOR) ではベースとなるコントロール群 (C1 群) において第 1 相の反応閾値は  $371.0 \pm 155.0 \mu\text{A}$  で、その後の第 2 相、第 3 相に有意な変化はみられなかった。一方ホルマリンテストを行った C2F 群は第 1 相が  $376.5 \pm 240.2 \mu\text{A}$  で、その後第 2 相で若干高くなる傾向が見られたが、有意差はなかった。また、C1 群と C2F 群の 2 群間にも有意差は見られなかった。なお応答潜時は、C1 群第 1 相が、 $6.26 \pm 0.8\text{ms}$  で、その後の第 2 相、第 3 相も有意な変化はみられなかった。一方 C2F 群も同様で、群内、および 2 群間内ともに有意差はみられなかった。



### 2) ナロキソン処理後の下顎開口反射測定 (JOR) 【実験 1-②】

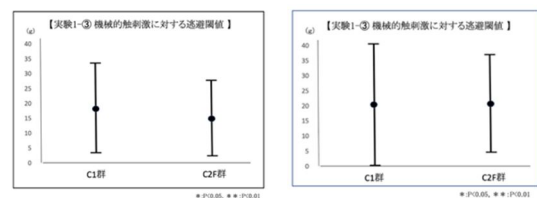
JOR 測定 10 分前にナロキソンを静脈内投与した本実験では、C1 群は【実験 1-①】と有意な差はみられず、第一相の閾値は  $380.0 \pm 170.2 \mu\text{A}$  で、その後の第 2 相、第 3 相の間にも有意な変化はみられなかった。一方、C2F 群では第 1 相が  $400.4 \pm 330.2 \mu\text{A}$ 、第 2 相が  $420.0 \pm 241.1 \mu\text{A}$  と、群内に有意差はなかったが、第 1 相と第 2 相の閾値が若干高い傾向が見られた。しかし個体のばらつき (SD) が C2F 群では大きかったため C1 群と C2F 群の 2 群間には有意差はみられなかった。なお応答潜時も実験 1-①と同様で、群内、2 群間内ともに有意差はみられなかった。



なお、実験 1-①と実験 1-②の各対応する群間の比較検定も行ったが、ばらつき (SD) が大きく、全項目において有意差は見られなかった。

### 3) 覚醒状態による行動学的実験 【実験 1-③】

麻酔下による下顎開口反射測定実験後、覚醒下に、von Frey Hair を用いた機械的触刺激に対する逃避閾値測定実験を実施した。C1 群と C2F 群の 2 群間に有意差は見られなかった。しかし、



ナロキソンによる前処置をしていない検査では (図左)、有意差はないものの、C2F 群が若干 C1 群に対して疼痛閾値低い可能性が見られ、逆にナロキソン前処置を行った検査 (図右) では、C1 群と C2F 群は同等の疼痛閾値を示す可能性が示唆された。

#### 4) Wister Kyoto Rat を用いた実験【実験 2-①、②、③】

前述の種々の要因により統計処理を行う実験数を行うことができなかったが、試験的に2匹、Wister Kyoto Rat の提供を受けられたため、これを使って試験的に実験を実施した。その結果、【実験 1—①、②、③】に該当する試験が各1匹毎であったため、あくまで結果は参考値であるが、実験1の検査結果と近似していた。

	前処置	JOR threshold ( $\mu A$ )	JOR Latency (ms)	機械的触刺激に対する逃避閾値 (g) (vonFrey hair)
WKR1	—	354.0	6.80	21.6
WKR2	ナロキソン静脈内投与	365.2	7.10	19.4

※1) WKR: Wister Kyoto Rat  
※2) JOR: 下顎開口反射  
※3) JOR検査は10回の平均値、vonFrey hair検査は5回の平均値(g)  
※4) \*: P<0.05, \*\*: P<0.01

#### 5) 考察および結語

今回の研究結果に関しては、前述の通り新型コロナウイルス感染症に関連する環境的・機材的・時間的制限に研究活動が直接的に影響を受けてしまったこと、さらに共同研究者の退職により研究全体のエフォートは非常に低くなってしまったことが実験結果に大きく影響し、本研究の仮説を立証する十分な結果を導き出すことができなかったが、今回の研究結果より、心因性疼痛を有する病態でも、原始的な神経の反射や神経活動は比較的保たれており、やはりストレスなどの病的情動変容が疼痛発生の主要原因となり中枢での疼痛受容に何らかの影響を与えているのではないかということが推測され、病的情動変動状態にともなう慢性疼痛などの“身体化”症状発生のメカニズム解明の研究は今後も重要であると考えられた。

今回十分な成果を出すことができずに研究期間は終了してしまっただが、今後も研究環境的問題、研究予算的問題などの種々の問題が解決次第、Wister Kyoto Rat による実験再開を検討し、「痛みと心理的因子の総合作用」の解明・立証についてさらなる研究を今後も続けていきたいと考えている。

#### <引用文献>

- 1) 田中 裕, 村松芳幸, 瀬尾憲司: Patient Health Questionnaire(PHQ-9)を用いた口腔顔面痛患者の心身医学的検証, 慢性疼痛, 34(1):69-74, 2015.
- 2) Yoshikawa H, Yamamura K, Seo K. et.al.: Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulates Regeneration Following Inferior Alveolar Nerve Injury in Rats. J Oral Facial Pain Headache. 2016 Fall;30(4):346-354, 2016.
- 3) 吉川博之: 科学研究費 基盤研究 C, 平成 25 年度~平成 30 年度, 課題番号 25463132, 研究代表者 吉川博之, 舌神経断裂後の味覚受容機構の回復過程の解析
- 4) Yosuke Nakkatani, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto, et.al: Inhibitory effects of fluoxetine, an antidepressant drug, on masseter muscle nociception at the trigeminal subnucleus caudalis and upper cervical spinal code regions in a rat model of psychophysical stress, Experimental Brain Research (2018),236:2209-2221.
- 5) Shiho Shimizu, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto: Modulatory effects of repeated psychophysical stress on masseter muscle nociception in the nucleus raphe magnus of rats, Journal of Oral Science, Vol. 62, No. 2, 231-235, 2020.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 田中 裕, 瀬尾憲司, 村松公美子, 村松芳幸	4. 巻 40(1)
2. 論文標題 口腔顔面痛の病態診断としてのPain DETECTの有用性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 慢性疼痛	6. 最初と最後の頁 189-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉川博之, 照光 真, 倉田行伸, 須田有紀子, 田中 裕, 弦巻 立, 佐藤由美子, 金丸博子, 小玉由記, 瀬尾憲司
2. 発表標題 舌神経障害における舌乳頭萎縮に関連する異常所見の検討
3. 学会等名 第45回日本歯科麻酔学会総会・学術大
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中 裕, 村松芳幸, 村松公美子, 真島一郎, 藤村健夫, 清水夏恵, 清野 洋, 吉嶺文俊, 片桐敦子, 櫻井浩治, 瀬尾憲司
2. 発表標題 口腔顔面痛患者に対する心身医学的検証
3. 学会等名 第2回日本心身医学関連学会合同集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中 裕, 瀬尾憲司, 村松芳幸
2. 発表標題 Pain DETECTによる口腔顔面痛患者の調査
3. 学会等名 第50回日本慢性疼痛学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉川 博之 (Yoshikawa Hiroyuki)  (20547575)	新潟大学・医歯学総合病院・助教  (13101)	
研究分担者	瀬尾 憲司 (Seo Kenji)  (40242440)	新潟大学・医歯学系・教授  (13101)	
研究分担者	照光 真 (Terumitsu Makoto)  (60401767)	北海道医療大学・歯学部・教授  (30110)	
研究分担者	村松 芳幸 (Muramatsu Yoshiyuki)  (80272839)	新潟大学・医歯学系・教授  (13101)	
研究分担者	山村 健介 (Yamamura Kensuke)  (90272822)	新潟大学・医歯学系・教授  (13101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------