

平成 21 年 4 月 27 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18390504  
 研究課題名（和文） 歯髄疾患に伴う難治性の痛みに関する臨床的ならびに基礎的研究  
 研究課題名（英文） CLINICAL AND BASIC STUDY ON THE PERSISTANT PAIN WITH ENDODONTIC DISEASES  
 研究代表者  
 砂川 光宏（SUNAKAWA MITSUHIRO）  
 東京医科歯科大学・歯学部附属病院・准教授  
 研究者番号：30179288

## 研究成果の概要：

歯髄疾患に伴う難治性疼痛の発症機構を解明する基礎的研究として、歯髄を化学的に刺激した際の中枢神経系の早期応答（neuron活性、mRNAの発現状況）を解明する神経科学的研究を行い、neuronのみならずgliaも早期から活性化されていることを示した。歯髄疾患に伴う難治性疼痛の臨床的研究では、患者の治療前の疼痛状態を客観的に測定する方法として日本語版McGill疼痛質問表とVAS法による解析の確立を試み、各々のスコアが有意に高い値を示すことが判明した。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,000,000	2,100,000	9,100,000
2007年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2008年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
年度			
年度			
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：歯髄炎，mustard oil，中枢神経系，p38MAPK，GFAP，NMDAR，日本語版 McGill 疼痛質問表，VAS法

## 1. 研究開始当初の背景

歯の硬組織切削に伴い歯髄細胞や歯髄神経に様々な組織学的，免疫化学的，機能学的変化が生じていることが報告されている(Was-

tenbroek et al., J. Neurosci. Res. 2004). また，三叉神経領域の痛みに関する最近の研究では，ヒトのボランティアにおいて侵害性熱刺激に

対する中枢神経の活動について fMRI を使用した投射経路の解析の報告がなされるなど (DaSilva et al., J Neurosci, 2002), 最近では痛みの中枢投射様式に関する “sensory-discriminative” な側面からの研究と, 痛みの “affective-motivational” な側面からの研究が行われ (Treede et al., Pain, 1999), その進歩は著しい。また, 従来行われてきた歯痛に関する実験的研究は, 正常動物の歯髄神経の中枢投射の生理学的 neuron 機構に関するものが多数を占めており, 歯髄の炎症と関連する痛みの中枢機構を主題とした研究は少ない。報告者はこれまで化学物質 (mustard oil) による実験的歯髄炎を誘発する研究手法を用いた実験的研究を実施してきた (Kaneko et al. J Oral Biosci, 2005; Matsui et al., J Oral Biol, 2000; Hikiji et al., Arch oral Biol, 2000; Sunakawa et al., Pain, 1999)。一方, 実験動物に歯髄炎の病態を作成し, その際の中枢神経系に生じている変化の解明を, microglia, astrocyte など glia と歯髄神経からの入力を受ける歯髄駆動 neuron との関係について解明を試みた研究はほとんど報告が無く, これらの細胞間の情報伝達については解明されていない。また, 実際に歯原性慢性痛に苦しんでいる患者の検査に基づく臨床データの解析による痛みの診断方法についての報告も見当たらず, このような疼痛患者の診療は臨床に携わる歯科医師の経験に頼る現状である。

## 2. 研究の目的

歯科臨床で殊に歯内治療に携わっていると X 線画像診断学的には特に問題ないと判断される歯の症例であっても, 鎮痛薬を服用しても消退しない患歯周囲の強い自発痛, 誘発痛あるいは顎顔面領域や頭頸部に広範囲な痛みを, 患者が訴えることが多い。本研究では, 歯科臨床において通常の治療法では完治させることが困難な歯髄疾患に伴うこれらの「難治性の痛み」について, 特に広義の歯髄疾患 (急性あるいは慢性の歯髄炎, 根尖性歯周炎) との関係に着目して, その病態生理学的機構を解明する「実験的歯髄疾患に伴う中枢神経系の機構に関する神経科学的基礎的研究」と「歯髄疾患に伴う難治性疼痛に関する臨床歯

科医学的研究」とを有機的に融合させて実施することを目的とする。

### (1) 歯科基礎医学的研究

歯科基礎医学的研究では, 動物実験において実験的歯髄炎を惹起させた際の歯髄神経を含めた三叉神経感覚神経の末梢性感作 (peripheral sensitization) 並びに中枢神経系の neuron における中枢性感作 (central sensitization) の成立機構の解明を, 神経生理学的, 神経薬理学的, 並びに神経形態学的に行うことを目的とする。加えて, これまで中枢神経系の支持細胞として捕らえられてきた glia と歯髄神経傷害に伴い応答性の変化した neuron との細胞間の情報伝達を含めた相互関係の解明を試みる。

### (2) 臨床歯科医学的研究

臨床歯科医学的研究では, 歯髄疾患, 特に不可逆性歯髄炎や根尖性歯周炎に罹患していると診断された患者で顎顔面領域に難治性の痛みを訴える者について, その原因の解明並びに必要な治療法の種類と治療期間, さらには疼痛消失前後における患者心理の変化など, 患者の呈する症状の変化と診療行為との関係を調査し総合的に分析し, 歯原性の慢性痛と考えられる症状の診断・治療法の確立のための基礎的データを収集することを目的とする。特に糖尿病患者やある種のウイルス性感染症に罹患している患者では神経因性の痛みである可能性もあるので, この点にも留意し臨床的研究を実施する。

## 3. 研究の方法

### (1) 歯髄疾患に伴う難治性疼痛の臨床的研究

東京医科歯科大学歯学部附属病院・むし歯外来を受診した患者で, 広義の歯髄疾患を有する者を研究対象とする。本研究の主旨を理解してインフォ - ムドコンセントの得られた患者に対して, 以下の方法を用いて患者の有している疼痛について定量的解析を行う。

歯髄疾患の治療前後において Visual Analog Scale (VAS)法により疼痛程度を調査し, またその疼痛について日本語版 McGill 疼痛質問表の回答を求め, 患者が訴えている疼痛の性状を捕える。同時にその疼痛に対する患者自身の心理学的な苦悩

の程度を臨床心理学的に捕える。

患歯について歯内治療学的鑑別診断を行い患者の主訴の病態を確定し、歯科臨床上考えられる最良の治療法により疼痛対策を含めた原疾患の加療を行う。

治療終了後、予後調査を行い歯科臨床的病態の治癒の確認と疼痛の変化について上記 VAS 法を用いて定量化する。

得られたデータを解析し、統計学的処理を実施する。

検査結果の解析を行うと共に上述のように現行の歯科的治療法によっても痛みが消退しないと訴える患者に対して新たにインフォームドコンセントを得て、歯内治療以外に有効な治療方法が考えられる場合には、該当診療科に紹介し患者の利益を図る。

以上から、口腔顔面領域の難治性の痛みについての鑑別診断方法の確立を検討する。

#### (2) 歯髄疾患に伴う難治性疼痛の病態に関する中枢機構の基礎的研究

実験動物として、urethane-chloralose で麻酔した SD 系ラットを用いて、上顎臼歯歯髄を電気刺激することにより、中枢神経内の歯髄駆動 neuron (TPDNs) の同定を行う。

中枢神経系において、感覚識別に関与すると報告されている神経核内の外側系 neuron 及び情動系に属すると考えられる神経核内の内側系 neuron の中から TPDNs を探索し、その活動性が化学物質により誘発された非細菌性歯髄炎によりいかなる変化を示すかどうか検討を加える。この際、非細菌性歯髄炎の誘発には、報告者がこれまで用いてきて安定した neuron 活動の修飾を生じさせることが確認されている細神経線維刺激性かつ起炎性物質である “allyl-isothiocyanate (mustard oil)” を用いることとする。

歯髄に対する化学刺激は歯髄駆動ニューロンの皮膚受容野の機械的刺激閾値の低下を含めた中枢性過敏化をもたらすことが、これまでの申請者らの研究で明らかにされているので、この中枢性過敏化の成立に関与している可能性のある興奮性ア

ミノ酸 Glutamate の受容体の 1 つである NMDA 受容体の関与について、同受容体の非競合拮抗薬である MK-801 を使用することにより、歯髄駆動 neuron の応答性の修飾性がいかなる変化を受けるか検索を加える。

その際、実験的歯髄炎に伴う歯髄神経からの入力が入内因性オピオイドを介した抑制系機構の賦活化に及ぼす影響についても検討を加える。

#### (3) 「歯髄疾患に伴う中枢内神経伝達物質の動態に関する神経科学的研究」について

歯髄神経の障害に伴う難治性疼痛の発生機構として、求心性 C-線維の炎症による変性やその興奮性の増強が原因として考えられる。最近、glia が産生する proinflammatory cytokines が neuron 活性に及ぼす影響が報告されるようになってきた。本研究では、実験動物（ラット）中枢内神経伝達物質の動態について以下の方法により検討を加える。

歯髄内に分布する細い求心性神経終末に存在する各種神経伝達物質（Glu, Asp, SP, CGRP, ATP など）の受容体の動態の解明を免疫組織化学的手法を用いて行う。

中枢内で歯髄駆動 neuron が記録できた部位、すなわち歯髄からの痛覚情報の中枢神経への投射系の各中継核における microglia, astrocyte と neuron の興奮性アミノ酸、神経ペプチド、それらの受容体等の免疫化学動態を形態学的に検索する。Microglia は、食作用も有しているので、賦活化前後の形態学的、遺伝子発現様式、機能、ならびに中枢神経内での細胞数について細胞学的に検索する。一部のものについては神経細胞核内に発現してくる遺伝子の動態も検索する。

細神経線維のインパルス発生や興奮性を阻害し、生体にとって有害な反射性筋活動を未然に防止することが神経因性疼痛の発生を防止するためには有効とされているが、一度中枢 neuron に誘発された中枢性感作状態を改善する可能性のある薬物の作用確認のための基礎的実験を行い、臨床応用の可能性を考察する。

(4) 「歯髄の機械的傷害あるいは炎症性変化に伴う歯周組織内における細胞の特異的遺伝子発現の解析」について

歯髄が傷害を受けた場合の初期の歯周組織内の免疫機能分子等の発現様式を RT-PCR 分析の手法を用いて解析を試みる。

#### 4. 研究成果

##### (1) 歯髄疾患に伴う難治性疼痛の臨床的研究

歯学部附属病院を受診した患者の治療前の疼痛状態を、客観的に測定する方法の確立を試みた。日本語版 McGill 疼痛質問表と VAS 法による解析を実施したところ、頑強な疼痛に罹患していた患者 (Odontogenic Chronic Pain: OCP) 群が通常の慢性根尖性歯周炎の患者群よりも、McGill 疼痛質問表の感覚的痛み指標、評価的痛み指標、及び総合的痛み指標の各々のスコアにおいて有意に高い値を示すこと、また VAS 値においても前者の方が有意に高い値を呈することが判明した。これらの事実から、本研究で行った McGill 疼痛質問表と VAS 法に加えて、X 線検査の画像診断を正確に行うことにより、OCP の診断が的確に行える可能性が示唆された。

##### (2) 歯髄疾患に伴う難治性疼痛の病態に関する中枢機構についての基礎的研究

視床内側核の MD 核内に存在する歯髄駆動 neuron の歯髄電気刺激に対する応答性は、起炎性化学物質 mustard oil の歯髄適用により、増強することがこれまでの研究で明らかになっていたが、この応答性増強は Glutamate の NMDA 型受容体の非競合的拮抗薬 MK-801 の中枢内微小投与により、有意に減少することが示された。これは、歯髄の炎症性変化に伴う歯髄神経の興奮は、視床でのシナプスにおいて NMDA 型 Glutamate 受容体を介する機構により、より上位の中枢に伝達されることを示唆している。

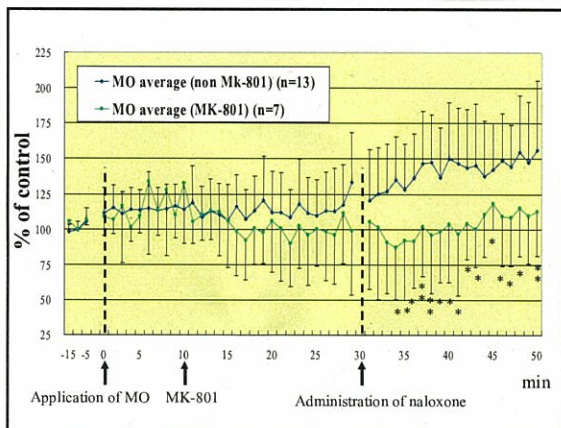


図 1. TPDNs の活動性に対する MK-801 の影響

##### (3) 歯髄疾患に伴う中枢内神経伝達物質の動態に関する神経科学的研究

歯髄神経線維興奮性物質かつ起炎性物質である

mustard oil にて歯髄を化学的に刺激した際の中枢神経系の早期応答を、歯髄神経の投射経路である三叉神経脊髄路核中間亜核尾側亜核境界 (Vi/Vc) 部及び視床内の p38MAPK, GFAP 及び NMDAR の mRNA の発現状況を指標として RT-PCR 分析にて神経科学的に解析した。刺激と同側三叉神経脊髄路核 Vi/Vc 部と対側視床でこれらの mRNA の発現が確認された。前 2 者はそれぞれ microglia 及び astrocyte という glia 細胞の活性状態と、また後者は歯髄神経からの求心性情報を上位中枢に中継する neuron の活性状態と関係していると考えられるので、歯髄神経の興奮は中枢において neuron のみならず glia も早期から活性化していることが示唆された。これまでに実施してきた歯髄駆動 neuron 活動記録の分析結果を加えて、これらの glia の活性化が神経因性疼痛 (neuropathic pain) の発生と存続に重要な役割を担っているとの最近の報告を考慮すると、歯髄の炎症性変化に伴う歯髄求心神経の興奮は顎顔面領域の neuropathic pain の誘発因子となる可能性が示唆された。

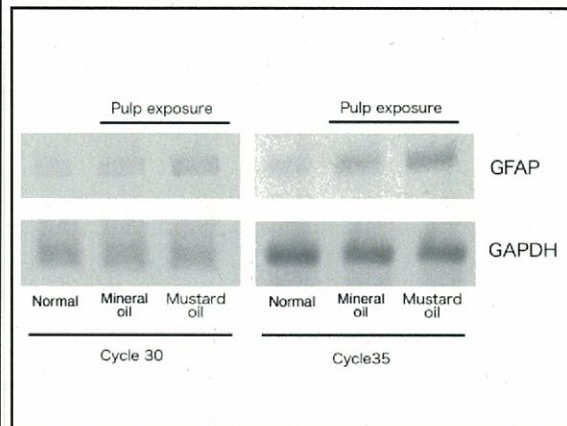


図 2. 歯髄化学刺激直後の GFAP mRNA の発現状態 (60 分後)

##### (4) 歯髄の機械的傷害あるいは炎症性変化に伴う歯周組織内における細胞の特異的遺伝子発現の解析

歯髄の生活性が保たれている歯の歯根破折部周囲の歯周組織中や細菌性歯髄炎惹起動物では、根分岐部病変の発症過程初期に免疫機能分子、CACNA2D1, Toll-like receptor 2 (TLR2) mRNA の発現が認められた。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

- ① Sunakawa M., Kaneko T., Chokeychana-chaisakul U., Kaneko M., Suda H.: NMDARs, p38MAPK and GFAP mRNA up-regulation following MO tooth pulp stimulation. Pain (Submitted)(査読有)
- ② Kaneko T., Okiji T., Kaneko R.,

Sunakawa M., Kaneko M., Suda H.: A gene expression analysis of dental pulp and periodontal ligament of acutely traumatized root. J.Endod. (Submitted) (査読有)

金子友厚, 興地隆史, 砂川光宏, 金子実弘, チョックチャナチャイサクン ウライワン, 河村隼, 須田英明: ラット臼歯に誘発した根分岐部病変の初期発症過程における免疫機能分子および Toll-like レセプター mRNA 発現の亢進. 日歯保存誌 52 (2009) (印刷中) (査読有)

砂川光宏: 歯原性の慢性痛 - 特に歯内治療の観点から - Pain Clinic 26(8):1066-1073, 2006.

[学会発表] (計 10 件)

Sunakawa M., Kaneko T., Kaneko M., Kawamura J., Suda H.: NMDARs, GFAP, and p38MAPK mRNA up-regulation following MO tooth pulp stimulation. The 10<sup>th</sup> Joint-Scientific Meeting of JSCD and KACD. 2008.11.28-29, Seoul, Korea

砂川光宏, 須田英明: 歯内治療に伴う慢性痛の臨床的解析. 第 21 回日本歯科医学会総会. 2008.11.14-15, 横浜

砂川光宏, 金子友厚, 金子実弘, 須田英明: 歯髄の mustard oil 刺激により誘発されたラット脳幹における p38MAPK および GFAP のアップレギュレーション. 第 129 回日本歯科保存学会. 2008.11.6. 富山

Sunakawa M., Kaneko T., Kaneko M., Suda H.: p38MAPK and GFAP mRNA were up-regulated by MO tooth pulp stimulation. The 86<sup>th</sup> IADR annual meeting. 2008.7.5, Toronto, Canada

砂川光宏: 歯科保存領域の痛みとその臨床的対応について. 平成 19 年度日本歯内療法学会認定医セミナー. 2007.11.18. 東京

Sunakawa M., Suda H.: Properties of odontogenic chronic pain in patients with endodontic diseases. The 9<sup>th</sup> Joint Scientific Meeting of JSCD and KACD. 2007.11.08. Okayama, Japan.

Sunakawa M.: Clinical countermeasures for pain associated with endodontic treatment. The 5<sup>th</sup> Asian Dental Forum. 2007.10.9. Bangkok, Thailand.

Sunakawa M., Suda H.: Properties of odontogenic chronic pain in patients with endodontic diseases. IFEA 7<sup>th</sup>

World Endodontic Congress. 2007.8.23. Vancouver, Canada.

Sunakawa M., Kaneko M., Suda H.: Microinjection of MK-801, NMDA receptor antagonist, reduces the thalamic MD tooth pulp driven neurons. The 8<sup>th</sup> Joint Scientific Meeting of JSCD and KACD. 2006.11.24, Busan, Korea.

Sunakawa M., Kaneko M., Suda H.: MK-801 microinjection reduced thalamic MD tooth pulp-driven neurons' responses. The 84<sup>th</sup> IADR Annual Meeting, 2006.06.08, Brisbane, Australia.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

砂川 光宏 (SUNAKAWA MITSUHIRO)  
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・  
准教授  
研究者番号: 30179288

(2) 研究分担者

須田 英明 (SUDA HIDEAKI)  
東京医科歯科大学・大学院医学総合研究  
科・教授  
研究者番号: 00114760

(3) 連携研究者

無し