

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10415

研究課題名（和文）矯正の歯の移動に伴う炎症性疼痛に対する補完代替医療：食品成分による緩和の検討

研究課題名（英文）Contribution of complementary alternative medicine to the orthodontic tooth-movement induced inflammatory pain: a possible role of dietary constituent

研究代表者

武田 守 (Takeda, Mamoru)

麻布大学・生命・環境科学部・教授

研究者番号：20227036

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、矯正装置を装着後、実験的歯の移動に伴う炎症性・異所性痛覚過敏が、食品に含まれる化学成分であるイソフラボン（ゲニステイン）により歯槽骨改造に伴う歯の移動を損なわず緩和される可能性を行動学的・形態学的・電気生理学的手法を用いて系統的に解析した。その結果、実験的歯の移動に伴う炎症性・異所性痛覚過敏が食品成分の一つであるイソフラボンにより歯科矯正処置に起因する炎症性疼痛を、歯の移動を損なわず緩和されることが判明した。したがって食品成分由来のフィトケミカルである「イソフラボン」が非ステロイド性抗炎症薬に替わる「補完代替医療」や 歯科臨床に貢献する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、動物モデルを用いて歯科矯正装置を装着後、歯の移動に伴う炎症性異所性痛覚過敏が食品由来化学成分であるイソフラボンにより、歯の移動を損なわず緩和される可能性を用いて明らかとした。これらの知見は、ヒトにおける矯正学的な歯の移動に伴う炎症疼痛の緩和に対して、食品由来のポリフェノールにより調節される可能性を示唆するエビデンスとして学術的意義が大きい。植物由来の化学成分を用いた疼痛緩和の可能性を示唆するこれらの知見は既存の医薬品である非ステロイド性消炎鎮痛薬の持つ副作用を、軽減できる消炎鎮痛薬の開発を視野に入れた「補完代替医療」や「歯科臨床」に貢献する可能性が高いため、社会的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：The present study investigated whether administration of isoflavone attenuates experimentally tooth-movement (ETM)-induced ectopic hyperalgesia without inhibition of tooth-movement using behavioral, morphological and electrophysiological approaches. The present findings suggest that isoflavone attenuates ETM-induced mechanical ectopic hyperalgesia via suppression of peripheral and/or central sensitization. These findings support the idea that isoflavone, a complementary alternative medicine, is a potential therapeutic agent, orthodontic pain without inhibition of ETM.

研究分野：神経生理学、神経科学、口腔生理学

キーワード：歯科矯正 痛覚過敏 補完代替医療 食品成分 鎮痛薬 イソフラボン ポリフェノール 侵害受容性 三叉神経ニューロン

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科における歯の移動に伴う疼痛は、ほとんどの場合一過性ではあるが、患者にとっては深刻な問題であり、しばしば矯正治療を敬遠する原因となっている。場合によっては、咀嚼時に継続した痛みを伴ったり、矯正学的な歯の移動を原因とする頭痛が生じることもあるが、その発症機序は不明である。また、非ステロイド性抗炎症薬 (Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs: NSAIDs) も一つの解決策ではあるが、胃の不快感やその他の副作用のリスクが常に伴う。特に矯正歯科治療による歯の移動においては、NSAIDs によるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) 合成阻害に伴う破骨細胞の減少が危惧され、歯の移動抑制が懸念される。したがって、矯正治療時に生じる疼痛発現機序の解明は、新たな疼痛緩和法の開発に貢献し、患者の QOL を高める治療を行うためにも、歯科臨床上重要度が高いと考えられる。

近年、我々は、三叉神経節を含む一次感覚神経節内において、神経細胞体からパラクリン分泌された生理活性物質が近傍ニューロンに作用し、炎症性痛覚過敏などの病態痛の発現に深く関与することを明らかとしてきた (Takeda et al., 2005; 2011)。三叉神経支配領域で生じた炎症/組織損傷による侵害情報は、一次ニューロンである三叉神経節ニューロンを介して、関連痛の発現に関わりの深い三叉神経脊髄路尾側亜核 (SpVc) で中継され、上位中枢に伝達される。近年、慢性疼痛治療に対して「食品中に含まれる化学成分」を用いた副作用のない「補完代替医療」の応用が検討されている。食品中の化学成分の中で「イソフラボン」は、フラボノイド系ポリフェノールの一種で抗酸化作用や抗炎症作用があることが知られており、薬物に頼らない疾病の治療法として「補完代替医療」の分野や「予防医学の視点」、あるいは「健康食品開発」の分野で注目されている。イソフラボンの一つであるゲニステインは、三叉神経節ニューロンの活動電位の発現に関わる電位依存性Naチャンネルを抑制することにより疼痛伝達を阻害することが報告されている (Liu et al., 2004)。

炎症部位では発痛物質のひとつであるプロスタグランジンE₂ (Prostaglandin E₂: PGE₂) が産生され末梢神経を感作することで、炎症性痛覚過敏に関与することが知られている。PGE₂は炎症時に組織で産生されるシクロオキシゲナーゼ-2 (Cyclooxygenase-2: Cox-2) と恒常的に組織で発現するシクロオキシゲナーゼ-1 (Cyclooxygenase-1: Cox-1) に分類される。イソフラボンはCox-1の活性には影響を与えず、炎症時のPGE₂産生に関わるCox-2の産生を特異的に抑制することが報告されている (Cobett et al., 1996)。したがって、イソフラボンは、NSAIDsと同等な作用部位に働き、実験的な歯の矯正移動における局所のCox-2を抑制してこの部位における三叉神経節ニューロンの炎症性過興奮を直接緩和する結果として、三叉神経節内のニューロン間クロストークを抑制することにより、SpVcニューロンの興奮性増大に伴う異所性痛覚過敏を、歯の移動を損なうことなく緩和出来る可能性が示唆される。現在まで、実験的な歯の移動に伴う炎症性・異所性痛覚過敏に関わるイソフラボンの緩和効果を既存のNSAIDsと比較し系統的に解析した研究は見当たらない。従って、イソフラボンが歯科矯正処置に起因する炎症性疼痛を、歯の移動を損なわず緩和する可能性が多いに期待される。

本申請課題では、矯正学的な歯の移動に随伴する炎症性・異所性疼痛の緩和に対して、食品成分由来の化学物質イソフラボン (ゲニステイン) により調節される可能性を明らかとし、NSAIDsに替わる補完代替医療薬として食品成分の持つ疼痛緩和の可能性に新たな知見を加えることができる。この点において独自性が高い。

2. 研究の目的

本研究ではラットに矯正装置を装着後、実験的歯の移動に伴う炎症性・異所性痛覚過敏を誘導後が、食品に含まれる化学成分イソフラボン (ゲニステイン) の投与により歯の移動を損なわず疼痛が緩和される否か？について行動学的・形態学的・電気生理学的手法を用いて系統的に解析した。

3. 研究の方法

本研究では、麻布大学動物実験委員会によって認可され、国際疼痛学会の倫理指針 (Zinmmarman 1983) に従い行った。実験を行うにあたり使用する動物数は必要最小限にした。

(1) 動物の準備:

グループ: Wistar 雄ラット(7週齢 160-210g)を① 矯正装置装着群 (Experimental tooth movement: ETM 群, n=7)、 対照群(無処置, n=9)、 ETM + イソフラボン投与群(100mM, i.p., 連日投与 n=7)の3群に分ける。ラットを麻酔後、歯間に特定の厚さの矯正用ゴム製シートを挟む Waldo 法により動物に矯正処置を施した。Waldo 法では大きく開口させた状態で、ラットの上顎左側第一臼歯と第二臼歯の間にセパレーターを挿入した。なお、セパレーターには、約 2 × 1mm 角に切ったラバーダムシート (Heavy)を使用した。

(2) 行動学的解析:

逃避反射閾値(痛覚過敏) の測定: 上記3群のラットにおいて異所性痛覚過敏の指標としての逃避反射閾値の測定を矯正装置装着後1~3日にラットの口ひげ部分に von Frey filaments(2g - 60g)を用いて機械刺激を与えて行った。

(3) .形態学的解析

歯の移動様式: 矯正荷重期間の終了時点でコイルスプリングが活性化状態を維持していることと、スプリング長を実測することにより定荷重が負荷されていたことを確認する。μCT の撮像に際しては、口腔内での矯正装置の状態と頭部全域での骨構造から上顎臼歯部の微細構造に関する画像データを記録するため、既報(Nakamura et al., 2008)に記載した方法に準じてマクロ像や μCT 像の撮影を行った。立体構築には 3次元画像解析ソフト(TRI-BON、ラトックシステムエンジニアリング、東京)を使用した。今回の立体構築では、石灰化組織(歯質と歯槽骨)とバックグラウンド(歯肉・歯根膜・歯髓腔・骨髓腔)とを分離するため、濃淡画像の判別分析法に基づいて二値化処理を施した(Kanri et al., 2004; Shimazu et al., 2004)。さらに、抽出された石灰化成分を歯槽骨要素と臼歯要素とに分画し、それぞれの組織成分データにパッチ面データ処理・ポリゴン最適化処理を施して画像表示した。

上顎臼歯列の近遠心長の測定

矯正処置による歯の移動距離を測定する目的では、マクロ像をもとに左側の歯冠部の第一臼歯近心壁から第三臼歯の遠心壁までの歯列長を画像編集ソフトウェア(photoshop elements)で計測した。また、骨改造を伴う歯の移動の有無を確認する目的では、μCT 水平断層像を用いて第一・第二臼歯部の槽内中隔部の海綿骨構造を観察した。

(4) .電気生理学的解析

侵害受容性 SpVc 単一ニューロン活動の記録:

ペントバルビタール麻酔したラットを、脳定位固定装置に固定後、外科的に延髄 SpVc 領域を露出する。マイクロマニピュレーターを用いて微小ガラス記録電極(ポンタミンスカイプルー含有 0.5M 酢酸 Na 溶液含有)を刺入し、顔面皮膚の機械刺激(侵害、非侵害)に応じる広作動域 SpVc ニューロン活動を交流アンプ(DAM - 80)を用いて導出し、オシロスコープにモニターして、A/D コンバーター Power Lab と PC を用いてポストステミュラスヒストグラムを作成して自発放電及び機械的的刺激に対するスパイク放電頻度を定量的に解析した(Takeda et al.2013)。

SpVc ニューロンの興奮性に対するイソフラボンの急性投与効果:

麻酔下のラットを用いて対象群(無処置)に おいて SpVc 広作動域ニューロンの機械刺激に対する放電頻度に対する受容野へのイソフラボン(0.1-10mM)の急性投与による可逆的および濃度依存性の抑制があるか否かを単一ニューロン活動のポストステミュラスヒストグラムを作成して、機械的的刺激に対するスパイク放電頻度を定量的に解析した (Takeda et al.2013)。

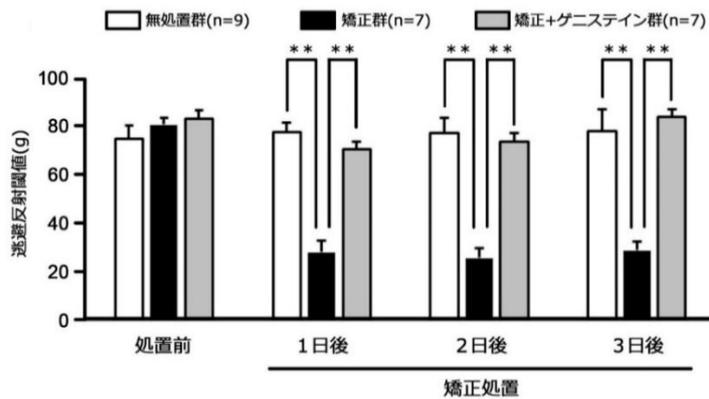
SpVc ニューロンの興奮性に対するイソフラボンの慢性投与効果:

ETM 群に おいて SpVc 広作動域ニューロンの①機械刺激閾値の低下;②自発放電の増加;③侵害刺激に対する放電頻度増強などの痛覚過敏に関わる現象を確認した。次に ETM + イソフラボン投与群において逃避反射閾値が対照群レベルに回復したラットを用いて異所性痛覚過敏に関わるニューロン過興奮性がイソフラボン投与により、緩和されるか否かを電気生理学的に解析した。

4. 研究成果

(1) 行動学的解析: 逃避反射閾値 異所性痛覚過敏: 矯正無処置群の顔面皮膚への Von Frey hair に対する逃避反射閾値は、1 日後から 3 日後まで有意な変化は観察されなかった。また、矯正群においては処置を施した 1 日後より、無処置群に比べ、有意な閾値の低下、すなわち、異所性痛覚過敏が観察された。矯正処置 3 日後まで閾値の回復は見られなかった(無処置群 vs 矯正群, 3 日後, $77.8 \pm 9.3\text{g}$ v.s. $28.8 \pm 3.7\text{g}$, $P < 0.05$)。矯正処置+イソフラボン群では処置 1 日後より、機械刺激に対する逃避反射閾値は無処置群と比べ有意な差は認められなかった(無処置群 vs 矯正 + ゲニステイン群, 1 日後, $77.5 \pm 3.9\text{g}$ v.s. $70.3 \pm 1.6\text{g}$, $P < 0.05$)。ゲニステインの連日投与により(1-3 日)異所性痛覚過敏は緩和された。(図1)

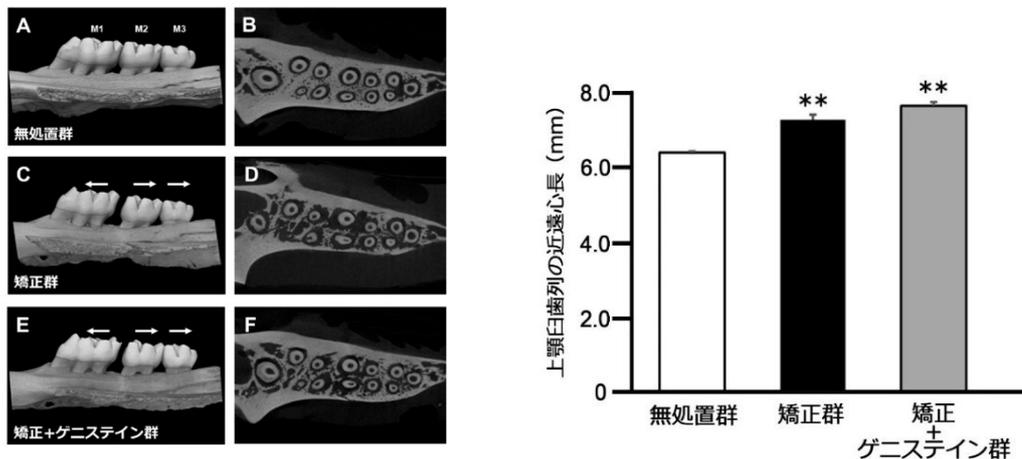
図 1 : 逃避反射閾値の推移



(2) 形態学的解析: 矯正処置により歯の異動

ゲニステインは PGE2 合成酵素 Cox-2)の活性を阻害することから破骨細胞が減少し、歯の移動抑制が懸念されたことから、歯槽骨改造を伴う歯の移動が生じているのかを評価した。図2に示したように臼歯列の μCT 立体構築像を口蓋側面から観察したところ、矯正群と矯正 + ゲニステイン群では無処置群と比較して第一臼歯と第二臼歯の間隙が明瞭であった。 μCT 水平断層像で臼歯歯根の位置を比較した結果では、矯正群と矯正 + ゲニステイン群においては、無処置群と比べて臼歯の歯根は第一臼歯では近心方向に、第二・第三臼歯では遠心方向に変位していた。歯根の変位と合わせて、矯正群と矯正 + ゲニステイン群の臼歯部の槽内中隔では、骨密度が減少しており骨吸収が亢進したことが推察された。矯正群の左側上顎第一臼歯と第二臼歯の間には無処置群と比較して、0.93mm 歯が移動した(無処置群 vs 矯正群, 3 日後, $n=3$, $6.31 \pm 0.05\text{mm}$ vs $n=3$, $7.24 \pm 0.14\text{mm}$, $P < 0.05$)。また、矯正 + ゲニステイン群は無処置群と比較して、1.27mm 歯の移動が見られた(無処置群 vs 矯正群, 3 日後, $n=3$, $6.31 \pm 0.05\text{mm}$ vs $n=3$, $7.58 \pm 0.10\text{mm}$, $P < 0.05$)。ゲニステインを連日投与することによる歯の移動抑制はみられなかった。

図 2 : 矯正処置による歯の移動

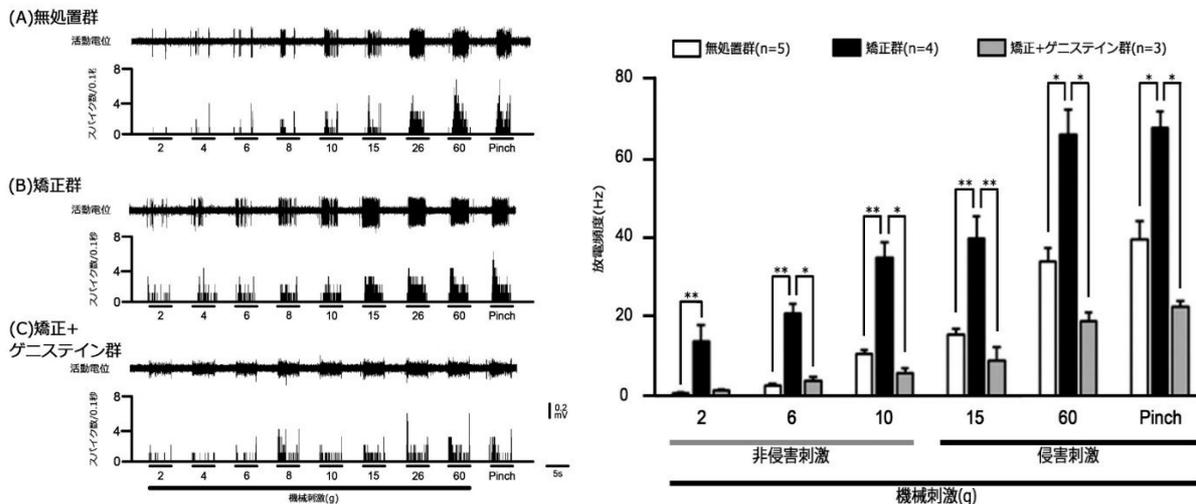


(3) 電気生理学的解析 侵害受容性SpVcニューロン活動

イソフラボンの急性投与効果: SpVc の第 1 層より、顔面皮膚に機械的受容野を持つ非侵害刺激から侵害刺激に応じる SpVcWDR ニューロン活動を無処置群ラットより記録した。ゲニステイン 10mM で SpVcWDR ニューロンの平均放電頻度は非侵害と侵害刺激の両方に対して、投与 10 分後で有意に減少し、投与 30 分後で有意に回復する可逆的効果を示した ($p < 0.05$)。また、ゲニステインの局所投与による機械刺激に対する SpVcWDR ニューロンの発火頻度の抑制率は濃度依存性(0.1-10mM)に有意に増大した ($n=5, p < 0.05$)。溶媒(Dimethyl sulfoxide:DMSO)を投与したところ抑制効果は観察されなかった。(Yamaguchi et al., 2021)

イソフラボンの慢性投与効果: 行動学的解析による逃避反射閾値の測定から得られた結果よりイソフラボンの連日投与は矯正処置群における異所性痛覚過敏を緩和することが判明したため、電気生理学的解析では矯正処置 3 日後のラットにおいて、口髭部分の機械刺激に対する SpVc WDR ニューロンの過興奮がイソフラボンの連日投与により、減弱されるか否かを解析した。図 3 に無処置群、矯正群、矯正 + イソフラボン群機械刺激に応じるにおける SpVc WDR ニューロンの典型例を示す。矯正群の非侵害及び侵害刺激に応答する放電頻度は、無処置群に比較して有意に増大した。矯正群へのイソフラボン投与により、非侵害、侵害刺激に応じる SpVc WDR ニューロンの放電頻度は有意に抑制され、無処置群の値と有意な差は観察されなかった。

図 3 : 矯正群ラットの SpVc WDR ニューロンの過興奮に対するイソフラボンの抑制効果



まとめ

本研究において、矯正処置を施した矯正群ラットの口髭部分の逃避反射の閾値は無処置群に比較して有意に減少しており、歯科矯正時にみられる「異所性痛覚過敏」が確認できた。

矯正群ラットの口髭部分の逃避反射の閾値はイソフラボンの連日投与により、歯槽骨改造に伴う歯の移動を抑制せずに無処置群レベルに回復した。無処置群ラットに比較して、矯正群ラットの口髭部分への機械刺激に応じる SpVc WDR ニューロン過興奮が観察された。矯正群ラットにおける「異所性痛覚過敏」の発現に関わる SpVc WDR ニューロンの過興奮性はイソフラボンの投与により正常群レベルに有意に回復した。

また異所性疼痛の生じる顔面皮膚を支配する非侵害および侵害的機械刺激に応じる SpVcWDR ニューロンの興奮性はイソフラボンの急性局所投与においても可逆的・濃度依存的に抑制された。

以上の結果より、実験的な歯の移動に伴う炎症性・異所性痛覚過敏が食品成分の一つであるイソフラボンが歯科矯正処置に起因する炎症性疼痛を、歯の移動を損なわずに緩和できる可能性が示唆された。

したがって食品成分由来のフィトケミカルである「イソフラボン」が非ステロイド性抗炎症薬に替わる補完代替医療薬として薬物に頼らない疾病治療「補完代替医療」において特に歯科臨床に貢献する可能性が高いことが示唆された。

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 Yamaguchi M, Kinouchi R, Morizumi S, Shmazu Y, Takeda M	4. 巻 172
2. 論文標題 Local administration of geneistein as a local anesthetic agent inhibits the trigeminal nociceptive neuronal activity in rats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Res Bull	6. 最初と最後の頁 120-128
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainresbull.2021.04.015.	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0件

〔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	島津 徳人 (SHIMAZU YOSHIHITO) (10297947)	麻布大学・生命・環境科学部・教授 (32701)	

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