

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09988

研究課題名（和文）口腔乾燥症に伴う口腔粘膜潰瘍に起因する疼痛発症機構の解明

研究課題名（英文）The mechanism of pain caused by oral mucosal ulcers associated with dry mouth

研究代表者

李 淳（LEE, Jun）

日本大学・歯学部・講師

研究者番号：10386055

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：口腔乾燥に関連した口腔粘膜部に引き起こされる疼痛に関しては、基礎研究が少ないため、その神経機構と病態には不明な点が多く、詳細は不明である。

本研究では、唾液腺を摘出した口腔乾燥症モデルラットを用い、口腔乾燥症の発症に関する口腔粘膜部の疼痛発現メカニズムを、行動薬理学的および免疫・病理組織学的手法を用いて解明することとした。

唾液腺の切除によって口腔内乾燥が生じ、ラットの飲水量の増加が認められることが示された。また、口腔乾燥によってラットの口腔粘膜部に感覚異常が発現する可能性が行動学的観点から示され、免疫組織学的観点から活性酸素種とTRPA1が関与している可能性が高いことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔乾燥症の患者を対象として有床義歯補綴治療を行う場合、単純な粘膜面の避圧処置では良好な結果は得られず、疼痛管理が非常に難しい。診断ミスや誤った治療法の選択を防ぐには、口腔内で起こる神経性疼痛や違和感の発症機構が解明され、術者がそのメカニズムを理解する必要がある。

本研究で得られた、口腔乾燥モデルラットの口腔粘膜部における感覚異常の発現に、活性酸素種とTRPA1が関与している可能性が高いという結果は、口腔乾燥に関連する口腔粘膜の疼痛に対する補綴学的新規治療法および診断法の開発に対して重要な基礎データを与えるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：With regarding the pain caused in the oral mucosa related to dry mouth, there are few basic studies, and the details of the neural mechanisms and pathology of this pain are unknown. In this study, using a rat model of oral dryness in which salivary glands were excised, mechanisms of pain onset in the oral mucosa related to the development of dry mouth were elucidated with behavioral pharmacological and immunohistological techniques. Resection of salivary glands caused dryness in the oral cavity of rats, resulting in an increase in water consumption. Behavioral experiments showed that dryness of the oral cavity may cause sensory dysfunction in the oral mucosal area of rats. Furthermore, immunohistological experiments indicate that ROS and TRPA1 are likely involved in sensory dysfunction.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：口腔乾燥 感覚異常 口腔粘膜 義歯

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 強い疼痛を伴い摂食障害を招く口腔粘膜部の外傷性潰瘍は、歯科診療時に最も頻繁に遭遇する病態の一つであり、臨床的には、義歯内面のリリースや潰瘍面への薬物塗布で対応する。しかし、加齢に伴う唾液腺機能の低下や、薬剤の副作用による唾液分泌低下を伴う口腔乾燥が認められる患者においては、痛みの感受性が高く、慢性的な口腔粘膜の疼痛を訴えたり、粘膜の脆弱性が認められたりすることも少なくない。そのため、このような患者の場合、通法に則った治療で義歯を装着することは可能でも、装着後の術後管理に苦慮するケースが散見される。

(2) 口腔乾燥症は、口腔粘膜の疼痛や搔痒感・刺激感、齶蝕や舌苔、口腔内感染症、嚥下障害などを引き起こし、生活の質を著しく低下させることが知られている。治療法としては、人工唾液を用いた代替治療や、唾液分泌を促進する副交感神経刺激薬、マッサージなどの対症療法が用いられているが、根本的な治療法の開発が期待されているのが現状である。近年、舌や口腔粘膜の異常感覚や疼痛の発症には、末梢神経系の異常興奮による三叉神経節細胞の感作が重要な役割を果たしていることを示され、また、口腔乾燥が口腔粘膜創傷の治癒遅延を生じやすいことが知られている。

そのため、口腔乾燥が創傷に起因する疼痛を維持継続もしくは増強する可能性が考えられるが、詳細な検証はされていない。これら口腔乾燥に関連した口腔粘膜部に引き起こされる疼痛に関しては、基礎研究が少なくその神経機構と病態には不明な点が多く残されており、その詳細は不明である。

2. 研究の目的

本研究では、唾液腺を摘出した口腔乾燥症モデルラットを用い、口腔乾燥症の発症に関する口腔粘膜部の疼痛発現メカニズムを、行動薬理学的および免疫・病理組織学的手法を用いて解明する。

3. 研究の方法

本研究では口腔粘膜乾燥症発症モデルとして、ラットの全唾液腺(耳下腺・顎下腺および舌下腺)を摘出した salivary gland excision モデル(SGE モデル)を作製し、以下の項目について解析を行った。

(1)動物モデルの妥当性、口腔粘膜部への機械または熱刺激による逃避閾値変化の解析、粘膜部の湿潤状態の観察

唾液腺摘出 7 日後、飲水量測定装置(ドリンクセンサーDS-1[®])で一定時間の摂水量を経時的に測定した。ラットの左側門歯歯頸部から 3mm 下方粘膜部に、経日的にデジタルフォンプライにて機械刺激を、熱プローブにて熱刺激を加え、それぞれの頭部引っ込み逃避反射閾値を測定した。刺激は、ラットを 2%イソフルラン吸入麻酔で維持した浅麻酔状態で行い、逃避閾値変化測定後、左右上下顎口腔前庭にフェノールレッド系(ゾーンクイック[®])を置き、唾液分泌量を測定した。

(2)口腔粘膜および三叉神経節ニューロンの組織学的解析

ラットを全身麻酔後、4%パラホルムアルデヒド(PFA)にて灌流固定し、刺激相当部を含む口腔粘膜と左側三叉神経節(TG)を摘出し、4%PFAにて24時間固定した。TGについては、機械刺激で活性化するイオンチャネル受容体である TRPA1 のマーカーで免疫染色を行い、TRPA1 陽性細胞数を解析した。また、口腔粘膜については、活性酸素種(ROS)による生体損傷に鋭敏な反応をするバイオマーカーである 8-OHdG を用いて免疫染色を行い、その局在を解析した。

4. 研究成果

(1)唾液腺切除による口腔乾燥

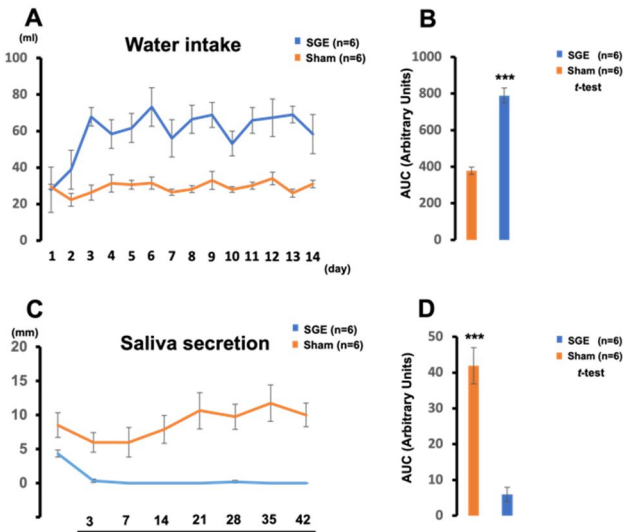
14 日間の飲水量を継続して測定した結果、唾液腺切除(SGE)群では Sham 群と比較して有意に飲水量の増加が認められ、唾液腺切除による口腔乾燥によって動物の飲水量が増加する過去の報告 (J.Blazsek, G.Varga 1999)と同様の結果が得られた。

また、口腔乾燥によるラットの摂食状態への影響を観察するため、1 日の摂水量を体重の 20%量に規定し飲水量供給を 30 日間行った。その期間の体重を測定した結果、SGE 群、Sham 群ともに体重増加率に有意な差は認められなかったことから、摂水量を体重の 20%量に制限しても、ラットの摂食状態に大きな影響は認められないと考えられた。

涙液量検査用フェノールレッド系によって口腔内湿潤度を測定した結果、唾液腺切除群では Sham 群と比較して湿潤度の有意な低下が認められ、唾液腺切除によって口腔内が顕著な口腔乾燥状態を呈することが示された。

これらの結果から、唾液腺の切除によって口腔内乾燥が生じ、飲水量の増加が認められることが示された。(Fig.1)

Fig. 1

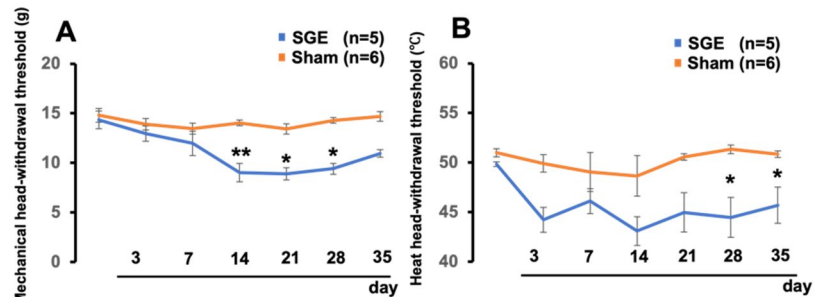


(2) 口腔乾燥による口腔粘膜の感覚異常

口腔粘膜の感覚異常および疼痛の発現状態を観察するために、下顎左側門歯歯頸部から約 3mm 下方の粘膜部にデジタルフォンプレイによって機械的刺激を、熱刺激プローブによって熱刺激

をそれぞれ与え、逃避閾値反射を測定した。その結果、機械的刺激、熱刺激ともに唾液腺切除群は Sham 群と比較して有意な逃避閾値の低下を示した。これらの結果から、唾液腺切除による口腔粘膜部の乾燥によって疼痛閾値の低下が発現し、口腔内に感覚異常が誘発される可能性が示された。(Fig.2)

Fig. 2



活性酸素種(ROS)による生体損傷に鋭敏な反映をするバイオマーカーである 8-OHdG、機械刺激で活性化するイオンチャネル受容体である TRPA1 のマーカーをそれぞれ用いて、口腔粘膜部および三叉神経節内の局在を免疫組織学的に観察した。三叉神経節細胞の TRPA1 の発現状態は、SGE 群、Sham 群および Nac(ROS の inhibitor)投与群間の比較において、Sham 群と SGE 群および Nac 群の間に陽性細胞数の発現に有意な差が認められたが、SGE 群と Nac 群の間に差は認められなかった。(Fig.3)

一方、口腔粘膜部では、SGE 群では Sham 群および Nac 投与群と比較して有意な 8-OHdG の発現と(Fig.4)、TRPA1 陽性を示す軸索が多く観察された。

以上から、ラットの大唾液腺切除による口腔乾燥によって、口腔粘膜部の感覚異常が発生する可能性が行動学的観点から示され、口腔粘膜部では ROS と TRPA1 が関与している可能性が高いことが免疫組織学的観点から示された。

Fig.3

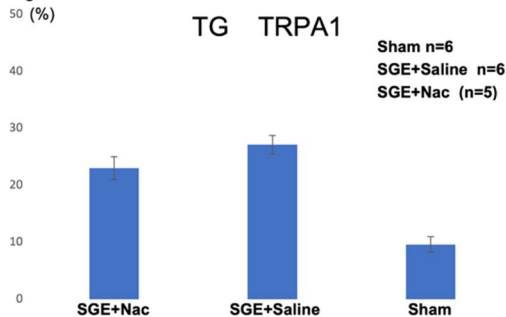
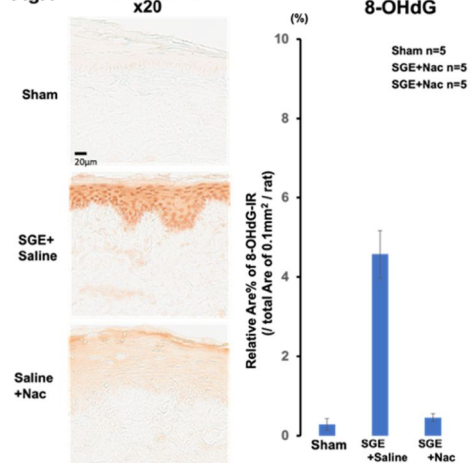


Fig.4 oral mucosa x20



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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	大原 絹代 (Ohara Kinuyo) (10731606)	日本大学・歯学部・助教 (32665)	
研究 分 担 者	岡田 真治 (Okada Shinji) (60844008)	日本大学・歯学部・助教 (32665)	

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