

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593076

研究課題名(和文) 歯の移動時のCO₂レーザーにおける疼痛軽減効果の作用機序の解明とその臨床応用研究課題名(英文) Mechanism in reducing pain and clinical application of CO₂ laser during tooth movement.

研究代表者

出口 徹 (Deguchi, Toru)

東北大学・歯学研究科(研究院)・大学院非常勤講師

研究者番号：30346457

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：アストロサイトとグリア細胞の歯の移動時の変化の分析結果として、ラット三叉神経脊髄路核において、3日後より増加、5日後に最も著しい増加を認め、14日後に元の状態に戻った。次に、痛みマーカーであるc-fos蛋白とこれらの細胞との共存を認めた細胞は、5日後に尾側亜核および吻側亜核に増加した。以上より歯の移動時の遅発性の痛みの伝達、調節にこれらの細胞の関与が示唆された。次に、CO₂レーザー照射を行うと、歯の移動1～3日後に増加したc-fos蛋白は抑制したが、アストロサイトとグリア細胞の減少は認めなかった。以上より、レーザー照射による鎮痛効果は主に即効性の痛みに関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Results indicated that astrocyte and glia increased after 3 days of experimental tooth movement, the most increase was observed after 5 days, and returned to the control level at 14 days after in the rat MDH. Then, we analyzed the co-localization with c-fos that is known as a marker for pain with astrocyte and glia. The most increase of c-fos and astrocyte and glia co-localization was observed after 5 days at both caudalis and orals. Thus, it was indicated that astrocyte and glia plays an important role in delayed pain during tooth movement. In addition, there was a significant decrease in c-fos expression after CO₂ laser irradiation but no change was observed for the increased astrocyte and glia after 1-3 days of tooth movement.

Therefore, the effect of CO₂ laser is limited to mainly acute but not delayed pain observed during orthodontic tooth movement.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：疼痛抑制 CO₂レーザー

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科臨床上の最も重要な課題の一つは、“痛み”のコントロールである。患者側からの訴えである痛みを最小限にとどめ、さらに効果的に歯の移動を行うのが理想的な矯正歯科治療である。矯正歯科治療中に伴う痛みとして、矯正力をかけた直後に生じ、短時間で消失するもの(即発性)、矯正力をかけた数日後に痛みのピークがあり、その後も数日間持続するものが知られている(遅発性)。しかし、過去に矯正歯科治療時に起こる痛みを軽減させる有効な方法に関する研究はほとんど行われていない。本申請者らはすでに痛みの発現に関与するとされる神経ペプチドの歯根膜(Brain Res, 1995,1996)あるいは中枢(Brain Res,2006)における分布及び歯の移動時における様々な痛みマーカーの末梢(J Dent Res,2003)及び中枢(Neurosci lett,2000;J Dent Res,2006)神経組織における変化を報告した。

近年、矯正歯科治療中の痛みをコントロールする目的としてレーザーを用いた疼痛抑制が注目されている。特にNd:YAGやHeNe等のレーザーに比べ、CO₂レーザーは組織侵襲が少なく、非常に安全で、骨組織の再生もより高い事が知られている。そこで、最近、本申請者らが初めて基礎的(J Dent Res,2010)および臨床的(Angle Orthod.,2008)に矯正歯科治療中におけるCO₂レーザーの減痛効果について報告した。ラットの歯の移動時にCO₂レーザーを照射すると、歯の移動2時間後の三叉神経脊髄路核尾側亜核のFosタンパクの発現が有意に減少し、CO₂レーザー照射が即発性疼痛の緩和に対して有効な手段である可能性を報告した。しかし、CO₂レーザー照射の遅発性および持続的な減痛効果については明らかではない。さらに、CO₂レーザーによる痛みの軽減効果のメカニズムも全く研究されていない。

2. 研究の目的

過去の研究により、グリア細胞が痛みの発達、維持に関与していることが明らかになっている。末梢神経の侵害受容により、中枢では神経の活性化が起こり、神経伝達物質を放出し、周囲のマイクログリアの活性化を引き起こす。この早期のマイクログリアの活性化は、アストロサイトの活性化を導き、痛みを維持させる。これにより、慢性痛と言われる痛みが生じる。よって、グリア細胞は後者(遅発性)の痛みに関与すると考えられる。そこで、矯正力に伴う疼痛の発生とその変化を中枢においてグリア細胞およびアストロサイトに注目して、矯正歯科治療時に持続的に生じる疼痛を軽減する方法を模索することを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

(1) ラット臼歯の実験的歯の移動およびCO₂レーザー照射について: 6週齢のラットの上顎第一と第二臼歯の間に矯正用ゴムを挿入し実験的に両側の歯の矯正移動を行う。実験群は1)コントロール群、2)レーザー照射のみ群、3)歯の移動のみ群、4)歯の移動+レーザー照射群である。レーザー照射群に関して片側のみ矯正用ゴムを挿入した部位の歯周組織にCO₂レーザーを照射する。レーザーの照射条件は1.0W、30秒間行う。歯の移動開始後1,3,5,7,14,28日目にラットを4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定を行う。上顎を取り出し、同じ溶液にて24時間後固定を行い、4.13% EDTAにて脱灰したのち凍結させ、マイクロトームにて20 μ mの連続凍結切片にする。また、中脳路核や三叉神経節においても凍結させ、マイクロトームにて20 μ mの連続凍結切片を作成する。

(2) アストロサイトおよびグリア細胞の歯の移動時の変化の分析およびc-fos蛋白とアス

トロサイトおよびグリア細胞の共存性の検証について：作成した切片をマイクログリア（OX-42）、アストロサイト（GFAP）、神経ペプチド（CGRP,galanin）及び c-fos 蛋白に関して免疫染色ならびに蛍光免疫染色を行う。切片を封入し、反応部位におけるマイクログリア、アストロサイト及びそれぞれの神経ペプチドや c-fos 蛋白の局在を落射蛍光顕微鏡及び共焦点レーザー顕微鏡から得られる蛍光像から断層像を再構築し、三次元距離計測ソフト（Neuron Tracer）および体積・表面積測定ソフト（Surpass）を用い、神経組織の三次元構築を行い、定量化する。Neuron Tracer は神経の形態計測に用いられるソフトであり共焦点像の蛍光陽性部位を自動的に追尾して三次元樹枝状モデルを作成し、そのモデルの全ての長さを測定することが出来る。Surpass は、共焦点像の蛍光陽性部位を三次元的に再構築し、その構築像上で体積・表面積測定を自動的に測定するソフトである。さらに、中脳路核および三叉神経節において、マイクログリア、アストロサイト、様々な神経ペプチド、及び c-fos との共存関係を調べ、（Win-Roof）を用い、これらの陽性細胞を有するニューロンの細胞体の大きさや、染色濃度、量的変化を分析する。

4．研究成果

新たに遅発性の痛みの指標となりえるアストロサイトおよびグリア細胞の歯の移動時の変化の分析を行った結果、実験的歯の移動後、ラット中枢神経（三叉神経主知覚核、尾側亜核、吻側亜核）領域において、アストロサイトおよびグリア細胞の増加を認めた。また、実験的歯の移動後、ラット三叉神経脊髄路核（尾側亜核）領域において、アストロサイトおよびグリア細胞の増加を認めた。アストロサイトおよびグリア細胞は尾側亜核において3日後より増加、5日後に最も著し

い増加を認め、14日後にコントロールの状態に戻った。

次に、痛みマーカーである c-fos 蛋白とアストロサイトおよびグリア細胞の共存性の検証を行った。c-fos 蛋白が歯の移動後3～5日後において増加を認めた。マイクログリアおよびアストロサイトにおいて c-fos 蛋白と共存を認めた細胞は、5日後に尾側亜核および吻側亜核に最も著しい増加を認めた。

以上の結果より歯の移動時に特徴的に起きる遅発性の痛みにアストロサイトおよびグリア細胞が関与し、痛みの伝達および調節に深く関与することが示唆された。

次に、ラット臼歯の実験的歯の移動後、CO2レーザー照射を行ったが、1～3日後に著しく増加した c-fos 蛋白の抑制を認めたが、アストロサイトおよびグリア細胞の有意な減少は認められなかった。以上より、CO2レーザー照射による鎮痛効果は主に即効性の痛みに関与することが示唆された。

5．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計9件)

- (1) Deguchi T, Seiryu M, Daimaruya T, Garetto LP, Takano-Yamamoto T, Roberts WE. Decreased alveolar bone turnover is related to the occurrence of root resorption during experimental tooth movement in dogs. Angle Orthod. 2015 May;85(3):386-93.doi:10.2319/021714-117.1. 査読有り
- (2) Deguchi T, Terao F, Aonuma T, Kataoka T, Sugawara Y, Yamashiro T, Takano-Yamamoto T. Outcome assessment of lingual and labial appliances compared with cephalometric analysis, peer assessment rating, and objective grading system in Angle Class II extraction cases. Angle Orthod. 2015 May;85(3):400-7.doi:10.2319/031014-173.1. 査読有り
- (3) Hosoya H, Kitaura H, Hashimoto T, Ito M, Kinbara M, Deguchi T, Irokawa T, Ohisa N, Ogawa H, Takano-Yamamoto T. Relationship between sleep bruxism

and sleep respiratory events in patients with obstructive sleep apnea syndrome. Sleep Breath. 2014 Dec;18(4):837-44. doi:10.1007/s11325-014-0953-5. 査読有り

- (4) Kanomi R, Deguchi T, Kakuno E, Takano-Yamamoto T, Roberts WE. CBCT of skeletal changes following rapid maxillary expansion to increase arch-length with a development-dependent bonded or banded appliance. Angle Orthod. 2013.Sep;83(5):851-7. doi:10.2319/082012-669.1. 査読有り
- (5) Suzuki M, Deguchi T, Watanabe H, Seiryu M, Iikubo M, Sasano T, Fujiyama K, Takano-Yamamoto T. Evaluation of optimal length and insertion torque for miniscrews. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2013 Aug;144(2):251-9. doi:10.1016/j.ajodo.2013.03.021. 査読有り
- (6) Fujiki T, Deguchi T, Nagasaki T, Tanimoto K, Yamashiro T, Takano-Yamamoto T. Deglutitive tongue movement after correction of mandibular protrusion. Angle Orthod. 2013Jul;83(4):591-6. doi:10.2319/060412-464.1. 査読有り
- (7) Komori R, Deguchi T, Tomizuka R, Takano-Yamamoto T. The use of miniscrew as orthodontic anchorage in correction of maxillary protrusion with occlusal cant, spaced arch, and midline deviation without surgery. Orthodontics(Chic.).2013;14(1):e156-67. doi: 10.11607/ortho.867. 査読有り
- (8) Watanabe H, Deguchi T, Hasegawa M, Ito M, Kim S, Takano-Yamamoto T. Orthodontic miniscrew failure rate and root proximity, insertion angle, bone contact length, and bone density. Orthod Craniofac Res. 2013 Feb;16(1):44-55. doi:10.1111/ocr.12003. 査読有り
- (9) Kataoka T, Kawanabe N, Shiraga N, Hashimoto T, Deguchi T, Miyawaki S, Takano-Yamamoto T, Yamashiro T. The influence of craniofacial morphology on mandibular border movements. Cranio. 2013 Jan;31(1):14-22. 査読有り

〔学会発表〕(計1件)

- (1) DEGUCHI Toru, ADACHI Rie, YABUUCHI Toshinori, KAMIOKA Hiroshi, TAKANO-YAMAMOTO Teruko, ICHIKAWA Hiroyuki,

YAMASHIRO Takashi. Effect of minocyclin on glial activation and pain control during tooth movement第73回日本矯正歯科学会大会 第5回日韓ジョイントミーティング(千葉)2014年10月20日~2014年10月22日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

出口徹 (Deguchi Toru)
東北大学・大学院歯学研究科・
大学院非常勤講師
研究者番号: 30346457

(2) 研究分担者

山本照子 (Yamamoto Teruko)
東北大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号: 00127250

(2) 研究分担者

清流正弘 (Seiryu Masahiro)
東北大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号: 80510023