

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659845

研究課題名(和文)核磁気共鳴映像法(fMRI)とTRP受容器タンパク解析法を用いた歯髄感覚の再分類

研究課題名(英文)Reclassification of pulpal sensations using functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) and analysis of Transient Receptor Potential (TRP) channel receptor proteins

研究代表者

池田 英治(Ikeda, Hideharu)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師

研究者番号：20222896

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文): ヒト新鮮象牙芽細胞標本を用い、TRPM8チャンネルタンパク抗体に対する陽性像を確認できた。同新鮮細胞で電気生理学的に同イオンチャンネルを示す電位依存性の電流が記録できた。この検知信号は歯髄最外層を3次元的に(周囲象牙芽細胞)に伝播されることが明らかになった。この信号伝播は方向依存性のない電気カップリングを介して行われ、細胞集団が電気容量の大きな共同体として機能できることがわかった。また、このことは $\mu$ CTを用いた形態学的研究で、刺激象牙質が3次元的に添加されることで裏付けられた。また、ヒト歯髄寒冷刺激を行う口腔内装置を開発し、冷却装置を用いてfMRI室でヒト刺激実験ができるところまできた。

研究成果の概要(英文): We immunohistochemically confirmed the positive labelling to TRPM8 channel receptor protein antibody was confirmed on freshly isolated human odontoblast samples. We could also electrophysiologically record voltage-sensitive current changes, indicating TRPM8 channel, from freshly isolated human odontoblasts. It was clarified that this detected signal spread three-dimensionally to surrounding odontoblasts in the outermost dental pulp. This spreading was through direction-independent electrical coupling, which contributed to forming a functional syncytium with large electrical capacitance. Three-dimensional tertiary dentin formation was also morphologically observed using  $\mu$ CT technique. We also developed a thermal tooth stimulation system, which would contribute to human thermal sensation experiment using fMRI.

研究分野：保存系歯学

キーワード：歯髄 非侵害性感覚 fMRI TRP

## 1. 研究開始当初の背景

1) 国内・国外の研究動向：歯髄非侵害性感覚受容に関する研究の欠如

生理学、歯科保存学の教科書には、「歯髄には痛覚しかない」と記述されてきた。

象牙質刺激に対してA とA 線維が動水力学的に興奮し、同一の鋭痛を生じ、炎症性疼痛をC線維が伝達すると説明し(Matthews, 1982、Närhi, 1984)、その考えが踏襲されてきた。

2) 現在の定説の問題点：

三叉神経感覚枝は歯髄と歯周組織を共通支配する同軸索分岐を持つ。歯周組織は敏感な触覚・温度感覚を持つにもかかわらず、「歯髄には痛覚しかない」とされてきた。

1990年代の生理学では、「角膜と歯髄には痛みしかない」と記載されていたが、角膜では冷覚受容機構が既に証明された。

3) 作業仮説：

歯髄は硬組織に被覆され温度・機械的刺激を制御して加えることができない。

歯髄痛は激烈であるため、他の非侵害性感覚が“マスク”されている可能性が高い。

(Ikeda, Suda, 2003)はヒト歯髄感覚中冷認識の加齢変化が他と異なることを示した。

中枢：神経細胞活動による脳血流量と脳酸素代謝率の変化を映像化できる。

末梢：Caterina, Tominaga(1997)によって、世界で初めて痛覚のイオンチャンネルタンパクが同定され、その後(温冷覚、触覚を含めた)TRP-familyが次々に発見されてきた。

## 2. 研究の目的

1) 「歯髄非侵害刺激による脳活動(機能)をfMRIで映像化できるのではないか？」と考え、

(1) 中枢：ヒト歯髄感覚(温度感覚あるいは触覚)の認知機構を核磁気共鳴映像法(fMRI)を用いて解明する。

ヒト歯髄刺激によって発生する信号(MR信号)をImage化(画像化)する。

(2) 末梢：TRP受容器タンパク解析法を用いて歯髄内非侵害刺激受容機構を解析する。

歯髄内温度、触刺激感受TRP受容器の存在と局在を免疫組織学的に解明する。

パッチクランプ法を用いて侵害・非侵害温度受容性イオンチャンネルを解析する。

## 3. 研究の方法

1) ヒト歯髄の非侵害性感覚認識機構の核磁気共鳴映像法(fMRI)を用いた解析

ヒト歯髄神経を興奮させる非侵害性刺激装置を考案する。

ヒト歯髄に非侵害性刺激を加え、生じる脳血流変化による磁場の変化をfMRI法により画像解析し、認知システムを明らかにする。

2) ヒトおよびラット歯髄内温度感受TRPチャンネル受容器の解析

歯髄内TRPチャンネル受容器タンパクを免疫組織学的・分子生物学的に解析する。

歯髄内TRPチャンネル受容器の電気生理学的解析。

## 4. 研究成果

ヒト新鮮象牙芽細胞で電気生理学的にTRPM8チャンネルタンパクを示す電位依存性の電流が記録できた。この検知信号は歯髄最外層を3次元的に(周囲象牙芽細胞)に伝播されることが明らかになった。この信号伝播は方向依存性のない電気カップリングを介して行われ、細胞集団が電気容量の大きな共同体として機能できることがわかった。また、このことはμCTを用いた形態学的研究で、刺激象牙質が3次元的に添加されることで裏付けられた。

さらに歯髄組織標本上で同受容器抗体への陽性反応が確認された。また、ヒト歯髄寒冷刺激を行う口腔内装置を開発し、冷却装置を用いてfMRI室でヒト刺激実験ができるところまでできた。

## 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5件)

1. Ikeda H, Suda H: Odontoblastic syncytium through electrical coupling in the human dental pulp. *J Dent Res*. 92(4):371-375, 2013. Doi: 10.1177/0022034513478430 *J DENT RES* 2013 92: 371 査読有
2. Ikeda H, Suda H: Facilitatory Effect of AC-Iontophoresis of Lidocaine Hydrochloride on the Permeability of Human Enamel and Dentine in Extracted Teeth. *Archives of Oral Biology*, 58, 341-347, 2013. Doi: 10.1016/j.archoralbio 査読有
3. Li Y, Ikeda H, Suda H: Determination of the functional space for fluid movement in the rat dentinal tubules using fluorescent microsphere. *Archives of Oral Biology*, 58 (7), Pages 780-787, 2013. doi:10.1016/j.archoralbio 査読有
4. Gu J, Ikeda H, Suda H: Sympathetic Regulation of Tertiary Dentinogenesis via Beta-2 Adrenergic Receptor on Rat Odontoblasts. *Journal of Endodontics*, Doi: 10.1016/j.joen.2015.01.010 査読有
5. Ikeda H, Suda H (2012): Iatrogenic Pulp Exposure in Paramolar Tubercles Carries the Risk of Pulp or Tooth Loss. *Int J Dent Case Reports* 2(5):66-7. <http://www.ijdc.com/>

〔学会発表〕(計 19 件)

1. Gu J, Ikeda H, Suda H: Immunohistochemical Analysis of Beta-2 Adrenergic Receptor on Odontoblasts and Its Association with Tertiary Dentin Formation. International Association for Dental Research, Boston, USA, 2015 年 3 月 13 日.
2. Saliman A, Ikeda H, Tazawa K, Gu J, Suda H: Permeability of capsaicin through human enamel. Japanese Association for Dental Research, Osaka, 2014 年 12 月 5 日.
3. Gu J, Ikeda H, Suda H: Regulation of Tertiary Dentinogenesis via Beta-2 Adrenergic Receptors on Odontoblasts in Rat Dental Pulp. Japanese Association for Dental Research, Osaka, 2014 年 12 月 4 日.
4. Tazawa K, Ikeda H, Suda H: Changes in Lymphatic Network by Inflammation of Rat Pulp. Japanese Association for Dental Research, Osaka, 2014 年 12 月 4 日.
5. Ikeda H, Suda H, Odontoblastic syncytium through electrical coupling in the human dental pulp. International Association for Dental Research, Cape Town, South Africa, 2014 年 6 月 23 日.
6. Ikeda H: Do odontoblasts sense external stimulation? Symposium on oral neurophysiology and molecular biology. Hasselt, Belgium, 2014 年 6 月 20 日.
7. 池田英治: 歯髄神経から見た象牙質知覚過敏症. 第 139 回日本歯科保存学会, シンポジウム「知覚過敏の臨床とその対応」シンポジスト, 秋田, 2013 年 10 月 18 日.
8. 顧潔, 池田英治, 須田英明: ヒト歯髄象牙芽細胞層における  $\beta_2$  アドレナリン受容器の局在に関する免疫組織化学的研究. 第 139 回日本歯科保存学会, 口演, 秋田, 2013 年 10 月 18 日.
9. 池田英治, 半場秀典, 田上順次, 須田英明: ヒト象牙芽細胞機能複合体の刺激象牙質形成への貢献. 第 138 回日本歯科保存学会, 福岡, 2013 年 6 月 27 日.
10. Aierken S, Ikeda H, Suda H Effects of the outermost enamel layer and AC-iontophoresis on the permeability of monomeric substances through enamel, 5/26 2013 The 9th World Endodontic Congress, Tokyo 2013 年 5 月 26 日.
11. Gu J, Ikeda H, Suda H Beta-2 adrenoreceptor immunoreactivity in the odontoblastic layer of human dental pulp, 5/26 2013 The 9th World Endodontic Congress, Tokyo 2013 年 5 月 26 日.
12. Ikeda H, Suda H: Contribution of retrograded pulpward tapering of space to the hydrodynamic fluid force in rat dentin, The 9th World Endodontic Congress, Tokyo 2013 年 5 月 24 日.
13. Ikeda H, Li Y, Suda H New considerations of the hydrodynamic mechanism - the functional space for fluid movement and the deformation of odontoblast cell membrane-Asian Pacific Endodontic Congress with Korean Academy of Endodontics, Seoul, South Korea. 2013 年 3 月 27 日.
14. Ikeda H, Suda H, Contribution of syncytial odontoblasts to three-dimensional tertiary dentin formation, 91<sup>st</sup> IADR, Seattle, USA, 2013 年 3 月 20 日.
15. Ikeda H, Chronic Pain Associated with removal dental pulps and teeth. The 15th Joint Scientific Meeting between the Japanese Society of Conservative Dentistry and the 140th Scientific Meeting, Korean Academy of Conservative Dentistry, Seoul, South Korea 2013 年 11 月 3 日.
16. 池田英治、李穎、須田英明、動水力学説の理論的根拠となる象牙細管内腔の逆向きテーパリング 第 136 回日本歯科保存学会、沖縄県宜野湾市、沖縄、2012 年 6 月 29 日.
17. Ikeda H, Li Y, Suda H: Space Measurement for The Hydrodynamic Fluid Movement in Rat Dentin. IADR, Iguacu, Brazil 2012 年 6 月 23 日.
18. Ikeda H Microcirculación pulpar y estructura vascular, Odontoblastos y túbulos dentinales. Permeabilidad de la dentina. Sobre Pulpa Dental- 15to Aniversario De La Carrera De Especializacion En Endodoncia; Cordoba, Argentina 2012 年 6 月 19 日.
19. Ikeda H Pulp Physiology and clinic considerations (Fisiología pulpar y consideraciones clinicas). 13th International congress of Instituto de Salud Bucaly (13

Encuentro Internacional del Instituto Salud Bucal); Buenos Aires, Argentina 2012年6月17日.

〔図書〕(計 11 件)

1. 池田英治: 分担執筆 S Friedmann のインプラントの時代における再根管治療「IFEA 報告 ザ・クインテッセンス別冊」, クインテッセンス, 東京 . 37-38, 2014.
2. 池田英治, 須田英明: 分担執筆 教科書 歯内療法に關与する神経損傷時の痛み「歯内療法における偶発症への対応」日本歯科評論別冊 No847, vol 73, 45-56 分担執筆 ヒョーロン, 東京, 2013.
3. 池田英治: 分担執筆 象牙質知覚過敏症はなぜ起こる? 「象牙質知覚過敏症 目からウロコのパーフェクト治療ガイド」(第2版 富士谷盛興, 千田彰 編) p9, 医歯薬出版, 東京, 2013.
4. 池田英治, 須田英明: 歯内療法に關与する神経損傷時の痛み 歯内療法における偶発症への対応 日本歯科評論 No847, vol 73(59, 45-56, 2013.
5. 浦羽真太郎, 池田英治, 須田英明: 根管洗浄の動向について 米国歯内療法学会員を対象としたアンケート調査 ザ・クインテッセンス クインテッセンス出版 32(1), 196-197, 2013.
6. 佐竹和久, 池田英治, 須田英明: 根尖までの穿通性維持が根尖部 2mmへの根管洗浄液の送達性に及ぼす影響 ザ・クインテッセンス クインテッセンス出版 32(5): 194-195, 2013.
7. 市川勝, 池田英治, 須田英明: 亀裂歯に關連する要因の解析 ザ・クインテッセンス クインテッセンス出版 32(11): 208-210, 2013.
8. 佐藤哲, 池田英治, 須田英明: 根尖孔径とファイル号数が Root ZX の計測精度に及ぼす影響 in vitro 研究として ザ・クインテッセンス クインテッセンス出版 31(5), 203-205, 2012.
9. 石川真梨, 池田英治, 須田英明: 漂白剤はメタロプロテアーゼが介在する象牙質コラーゲン分解を増進させるか ザ・クインテッセンス クインテッセンス出版 31(7), 202-203, 2012.

10. 飯野由子, 池田英治, 須田英明: 歯内療法後に行ったグラスファイバーポスト修復の生存率 ザ・クインテッセンス クインテッセンス出版 31(12), 203-205, 2012.

11. Ikeda H, Suda H: 分担執筆 教科書 Chapter 6 Circulation of the Pulp. In Seltzer and Bender's Dental Pulp, (2nd edition, Hargreaves K, Goodis H, Tay F, eds.) Quintessence Int Publishing, 109-131, Hanover Park, USA, 2012.

〔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 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 英治 (IKEDA, Hideharu)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師  
研究者番号: 20222896

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: