

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462968

研究課題名(和文) 歯内関連疾患の適切な診断および治療法の確立を目指した疼痛異常の発症機構解明

研究課題名(英文) Clarification of mechanisms underlying ectopic persistent pain to establish proper diagnosis and treatment associated with endodontic disease

研究代表者

清水 康平 (SHIMIZU, Kohei)

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：10508609

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：“関連痛”や“異所性異常疼痛”は患歯の同定を困難にし、しばしば誤診および誤治療を誘導する。よって代表者らはこの発症機構解明を目的に本研究計画を遂行した。本研究結果により、歯髄炎あるいは根尖性歯周炎発症時に咬筋痛覚過敏が誘導され、その発症には中枢神経系における細胞外シグナル制御キナーゼのリン酸化が関与することが明らかとなった。また、歯髄炎発症時に発現する舌痛覚過敏には、末梢神経性におけるTLR4-Hsp70シグナル伝達が重要な役割を担うことも明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：It is well known that the referred pain and non odontogenic toothache is frequently misdiagnosed as odontogenic toothache by dentists, and lead clinicians mistreated to irreversible dental procedures. Thus, clarification of the mechanism for the non odontogenic toothache is important.

In the present study, our results indicated that phosphorylation of extracellular signal-regulated protein kinase in the trigeminal transition zone and laminated subnucleus caudalis has an important role for the pulpitis- or periapical periodontitis-induced masseter hyperalgesia. Furthermore, we also clarify that TLR4-Hsp70 signaling in trigeminal ganglion neurons contributes tongue-referred pain associated with tooth pulp inflammation.

研究分野：歯内治療学

キーワード：関連痛 referred pain 異所性疼痛 ectopic tooth pain 歯痛 非歯原性歯痛 痛覚過敏

## 1. 研究開始当初の背景

歯痛に関連する誤診はあってはならない、かつ未然に防止すべき重要な問題であるにもかかわらず、日常の臨床の現場で多々見受けられる。この問題の誘因の一つとして、患者の訴える“原因不明の歯痛”が挙げられるが、その原因の一つとして、急性炎症あるいは神経の損傷により原因部位とは別の歯や口腔顔面領域に“関連痛”や“異所性の疼痛異常”などの疼痛異常が引き起こされ、原因部位の同定が困難になり、結果的に“誤診”や“誤治療”を招くと考えられる。しかしながら、こういった異常疼痛は歯科医学的に問題があると考えられている一方で、その詳細な発症メカニズムは不明である。

## 2. 研究の目的

“原因不明の歯痛”のメカニズムを解明する研究は、正確な診査・診断だけでなく、新たな治療法の開発の基礎となる極めて臨床的意義および患者貢献度の高いプロジェクトといえる。そこで代表者は、歯髄炎および根尖性歯周炎に関連した口腔顔面領域の疼痛異常発症機構の一端を解明することを目的に、本研究を計画した。

## 3. 研究の方法

### (1)ラット歯髄炎あるいは慢性根尖性歯周炎モデルの作成

Pentobarbital Na (50mg/kg/i.p.)麻酔下で、SD系雄性ラットの上顎臼歯歯髄腔にCFAを投与し緊密仮封を行い、3日後を歯髄炎期、6週後を慢性根尖性歯周炎期とし、実験に用いた。

### (2)三叉神経節および三叉神経脊髄路核における細胞内合成変化の検索

歯髄炎モデルにおける舌痛覚過敏発症メカニズムを検索するために、歯髄炎3日モデルによる三叉神経節内のToll-like receptor4

(TLR4)およびheat shock protein 70 (Hsp70)の発現を指標に検索した。同様に、歯髄炎および根尖性歯周炎モデルにおける三叉神経脊髄路核内のFos発現の検索、およびThe Extracellular Signal regulated protein Kinase (ERK)のリン酸化(pERK)の発現増加を指標に検索を行った。

### (3)三叉神経節における様々な分子の合成阻害効果

三叉神経節へTLR4アゴニストおよびアンタゴニストを直接微量注入することにより、末梢神経系あるいは中枢神経系の細胞活性やタンパク合成および侵害刺激に対する閾値にどのような変化が誘導されるかについて解析を行った。

### (4)口腔顔面領域への化学刺激により誘発される筋放電(EMG)の記録

十分に麻酔され、バイタルサインが生理学的な範囲内に保持されたラットに、2対の双極EMG電極を同側顎二腹筋前腹に刺入する。その後、咬筋にカプサイシン刺激を行い歯髄炎あるいは慢性根尖性歯周炎を発症したラットによる咬筋痛覚過敏の増減を検索する。コントロールと比較して、歯髄炎あるいは慢性根尖性歯周炎を発症したラットでは有意に筋放電の上昇が認められることはすでに確認しているため、三叉神経脊髄路核内へpERK阻害薬を投与することにより、どのような変化が得られるか検索を行った。

### (5)機械あるいは熱刺激により誘発される逃避行動閾値変化の測定

歯髄炎モデルラットでは、口腔顔面組織、とくに舌への機械あるいは熱刺激に対する侵害受容反応にどのような変化が起こるか逃避行動閾値を指標に検索を行う。本研究計画においては、三叉神経節内へのTLR4アゴニストおよびアンタゴニスト投与における

逃避行動閾値変化の測定を行った。

### (6)三叉神経節および三叉神経脊髄路核の細胞内シグナル伝達の検索

上記 ~ で得られた結果から、歯髄炎モデルでは三叉神経節内におけるTLR4-Hsp70 signalingの検索を、歯髄炎および根尖性歯周炎モデルでは、三叉神経脊髄路核内でのFosおよびpERK陽性細胞発現変化の検索を行った。

#### 4. 研究成果

代表者は自身が研究代表者を務める平成25~27年度年度科学研究費助成事業(基盤研究C)により、「三叉神経節のTLR4シグナル伝達が関与する歯髄炎誘導性舌異常疼痛発症の神経機構」、および「歯髄炎あるいは根尖性歯周炎に関連した咬筋異常疼痛発症における三叉神経脊髄路核中間亜核/尾側亜核移行部の関与」の解明を遂行した。その研究成果により、歯髄炎が発症すると歯髄空内ではTLR4の内因性リガンドであるHsp70の遊離が誘導され、三叉神経節内に軸索輸送されることが明らかとなり、三叉神経節内で舌や他の組織を支配する神経節細胞に作用することが明らかとなった。また歯髄炎や根尖性歯周炎が発症すると、三叉神経脊髄路核内で神経細胞の興奮や反応性増強が誘導され、同様の領域に投射する咬筋支配神経の反応性増強を誘導し、結果として咬筋痛覚過敏を誘導することが示された。これらの研究成果はJournal of Neuroinflammation(平成25年度)およびPLOS ONE(平成26年度)に原著論文として報告した。またその成果に臨床的視点を加え、一般臨床家に情報発信すべく、「メカニズムから読み解く 痛みの臨床テキスト(2015)」および「歯内療法における打診痛を考察する(2016)」を執筆した。

#### 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2件)

1. Shimizu K, Matsumoto K, Noma N, Matsuura S, Ohara K, Komiya H, Watase T, Ogiso B, Tsuboi Y, Shinoda M, Hatori K, Nakaya Y, Iwata K (2014) Involvement of trigeminal transition zone and laminated subnucleus caudalis in masseter muscle hypersensitivity associated with tooth inflammation. PLoS One, 9(10) doi: 10.1371/journal.pone.0109168. 査読有.
2. Ohara K, Shimizu K, Matsuura S, Ogiso B, Omagari D, Asano M, Tsuboi Y, Shinoda M, Iwata K (2013) Toll-like receptor 4 signaling in trigeminal ganglion neurons contributes tongue-referred pain associated with tooth pulp inflammation. J Neuroinflammation. 23;10:139 doi: 10.1186/1742-2094-10-139. 査読有.

[学会発表](計3件)

1. 渡瀬 哲郎, 清水 康平, 鶴町 保, 上原輝映, 小木曾 文内咬筋痛に誘導される歯髄痛覚過敏発症の神経機構解明, 第141回度日本歯科保存学会秋季学術大会, 2014年10月31日、山形テルサ(山形県山形市)
2. 大原 絹代, 清水 康平, 井比 陽菜, 林 誠, 小木曾 文内, 歯髄の炎症はToll-like Receptor4の働きを介して舌の異常疼痛を誘導する, 第141回度日本歯科保存学会秋季学術大会, 2014年10月31日、山形テルサ(山形県山形市)
3. 大原 絹代, 清水 康平, 勝呂 尚, 武市収, 平 亜希子, 鶴町 保, 小木曾 文内, CFA誘導性歯髄炎により発症する舌痛覚過敏に対するToll-like Receptor 4の関与, 第138回日本歯科保存学会, 2013年6月28日、福岡国際会議場(福岡県福岡市)

[図書](計1件)

1. 小川節郎編集(2015)メカニズムから読み解く 痛みの臨床テキスト. 川真田樹人, 牛田 享宏, 三枝 里江, 齋藤 繁, 住谷 昌彦, 緒方 徹, 細井 昌子, 細川 豊史, 布施谷 仁志, 川股 知之,

伊藤 美保, 益田 律子, 高橋 淳, 北原 雅樹, 小山 なつ, 等 誠司, 今町 憲貴, 齊藤 洋司, 紙谷 義孝, 河野 達郎, 柿木 隆介, 半場 道子, 濱口 眞輔, 有田 英子, 加藤 実, 井関 雅子, 濱口 孝幸, 福井 弥己郎(聖), 新田 一仁, 水村 和枝, 泉 仁, 池内 昌彦, 田邊 豊, 清水 康平, 今村 佳樹, 野間 昇, 森本 昌宏, 小川 節郎, 山崎 一, 中島 紀綱, 貞廣 哲郎, 山本 隆充, 陽 鴻生, 伊達 久, 三木 健司, 史 賢林, 余宮 きのみ, 南江堂, 東京, 154-160.

〔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 :  
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

清水 康平 (SHIMIZU Kohei)  
日本大学・歯学部・助教  
研究者番号 : 10508609

(2) 研究分担者

篠田 雅路 (SHINODA Masamichi)  
日本大学・歯学部・准教授  
研究者番号 : 20362238

本田 訓也 (HONDA Kuniya)  
日本大学・歯学部・ポスト・ドクトラル・フェロー  
研究者番号 : 20548945

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :