

平成30年 8月30日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26293412

研究課題名(和文) 歯への機械的刺激の中樞伝達メカニズム - 咬合感覚違和感患者の治療法開発に向けて -

研究課題名(英文) Neural transmission mechanisms of tooth mechanical stimulation -Development of treatment for occlusal dysesthesia patients-

研究代表者

松香 芳三 (MATSUKA, Yoshizo)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(歯学系)・教授

研究者番号：90243477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの小白歯を機械的に刺激して、脳の活動部位をFDGを用いてPETにより計測した。麻酔下のラットに対し、電気的フォンフライ装置を用いて刺激強さを計測しながら、上顎右側小白歯を刺激した。歯の刺激前にはFDGを尾静脈から注射し、100、200、300gの強さで刺激した。脳PET画像は脳を4分割(右上、左上、右下、左下)して、FDG集積のピーク値を計測したところ、右下部において、300gの刺激は100、200gの刺激よりもFDGのより多くの集積が観察された。また、感覚部位、運動部位、海馬、三叉神経節、脊髄に分類して観察したところ、三叉神経節と感覚部位においてFDGのより多くの集積が観察された。

研究成果の概要(英文)：Rat premolar teeth were mechanically stimulated and the active part of the brain was measured by PET using FDG. Rats under anesthesia stimulated the right maxillary premolar while measuring the stimulation strength using an electric von Frey device. Before the stimulation of the teeth, FDG was injected from a tail vein and stimulated with a strength of 100, 200, 300 g. The brain PET image was divided into 4 parts (upper right, upper left, lower right, lower left) and the peak value of FDG accumulation was measured. As a result, the stimulation at 300 g showed more FDG accumulation than the 100 or 200 g stimulation. In addition, there were more FDG accumulation observed in the trigeminal ganglion and the sensory part when the brain was classified into the sensory area, the motor area, hippocampus, trigeminal ganglion and spinal cord.

研究分野：医歯薬学

キーワード：歯根膜感覚 咬合違和感 PET/CT ボツリヌス毒素

## 1. 研究開始当初の背景

これまで、歯への刺激が中枢にどのように伝達されるのかに関するメカニズムは解明されていない。PET/CT を用いることにより、ラットの歯への刺激がどの部位にどのように伝達されるのかに関する詳細なメカニズムが解明されることが期待される。このデータはこれまでその詳細が解明されてこなかった歯への機械的な刺激の伝達に関する新知見となる。また、このような研究は世界的にも未だ報告がなく、非常に重要な研究であると言える。さらにボツリヌス毒素の末梢投与により、神経興奮情報伝達が抑制されるのであれば、その部位の同定も可能となり、ボツリヌス毒素投与による情報伝達に対する効果も明らかになる。

本研究結果から、咬合感覚の中枢への伝達メカニズムが解明されれば、器質的な異常を認めないにも関わらず咬合違和感を訴える患者に対する新治療法に結びつく可能性がある。

## 2. 研究の目的

補綴歯科で診療を行っている、「しっかりと噛むことができない」、「どこで咬んだらよいのかわからない」などと訴える患者に遭遇することがある。このような咬合違和感に関しては発症原因の提案がなされている(窪木 2006)。明らかに咬合位が変化している補綴装置を装着されている患者も存在するが、器質的に明確な異常が観察されない患者も多く存在する。そのような患者では歯科医師は治療に困窮し、患者の訴えに従い咬合調整を実施することもある。その場合、更なる症状の悪化を誘発することにつながることもなりかねない。

器質的に明確な咬合異常が観察されない患者において、精神的な要因が関与することにより、症状が修飾されることが報告されている(Reeves and Merrill 2007)。それに加えて、我々の論文レビューでは咬合違和感発症に関与する因子の一つに神経情報伝達の乱れが挙げられる(Hara et al. J Oral Rehabil 2012)。補綴装置装着後、咬合状態がしっかりとしないため、気になり、咬合接触状態を常時チェックするようになるのかもしれない。咬合接触状態を常時チェックするようになると歯根膜に分布する末梢神経から中枢へ情報が持続的に伝達されるようになり、大脳皮質で不快を感じるようになることが予想される。

これまでの我々の研究ではラット三叉神経の末梢を刺激することにより、三叉神経節における神経伝達物質遊離が増加すること(Kitamura et al. Neuroscience 2009)や顔面領域における情報伝達閾値の低下が生じること(Kumada et al. J Oral Rehabil 2012, Matsuka et al. J Toxicol 2012)などが解明された。また、神経伝達物質の遊離を減少させるボツリヌス毒素を投与することによ

り、上記の反応がコントロールレベルに回復した(Kitamura et al. Neuroscience 2009, Kumada et al. J Oral Rehabil 2012)。さらに、ヒトを対象とした研究では咬合違和感を訴える患者に対して歯根膜に局所麻酔薬注射を行うことにより、症状の軽減が観察された(松香 他 補綴誌 2007)。近赤外線分光法を用いた施設における研究では歯への刺激により大脳皮質の前頭前野が賦活されることが報告されている(島崎 他 2012)。近赤外線分光法による計測では、表層の大脳皮質の変化を観察するため、大脳皮質から内部の脳神経活動状況も観察する必要があるかもしれない。

以上から、器質的な異常が観察されない咬合違和感を訴える患者において、神経伝達の異常興奮が生じていることが予想され、咬合感覚がどのように伝達されるのかを検討することは非常に重要であると考えられる。国内外において、歯への刺激がどのように中枢に伝達されるのかを詳細に解明した研究は見られない。また、三叉神経節での神経伝達物質の遊離を抑制することにより疼痛感覚を抑制するボツリヌス毒素投与が歯の機械的感覚情報伝達に影響するのにかに関する報告も見られない。

## 3. 研究の方法

### (1) ラット臼歯部機械的刺激時の脳内興奮部位の観察

徳島大学動物実験委員会での承認後、研究を実施した。ラット臼歯部を機械的に刺激したときの脳内の興奮部位を PET/CT を利用して観察した。ラット尾静脈に FDG を注入後にラット上顎臼歯部を接触圧記録装置 (Model 1601C, IITC Instruments) を用いて、接触圧を計測しながら、機械的に刺激した。その後、PET/CT を用いて神経の興奮部位を観察し、機械的刺激の強度と興奮強度・部位の変化の関連性を検討した。麻酔下における強制的な開口のみにより、神経線維が興奮することが理解されたことから、強制開口のみを行った時の PET/CT 撮影も行った。また、麻酔の深度により神経活動が変化することも報告されている(Mizuma et al. 2010)ため、イソフルラン吸入麻酔深度が一定になるように調整した。また、上顎臼歯への刺激後に数秒毎に PET を撮影するダイナミック PET 記録も行った。

### (2) 眼窩下神経結紮刺激による三叉神経節興奮の観察

眼窩下神経結紮モデルを利用し、強度な末梢神経刺激時の反応を観察した。眼窩下神経結紮モデルの三叉神経節を摘出後、サテライトグリア細胞を分離培養した。グリア細胞培養条件下にて培養したサテライトグリア細胞に対して、神経伝達物質であるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) を用いて刺激し、サテライトグリア細胞から培養液中に遊

離されるサイトカイン量の変化を観察した。サイトカインの検出はサイトカインアレイにより行った。神経伝達物質刺激によりサテライトグリア細胞が刺激されているのかはGFAP染色により確認した。

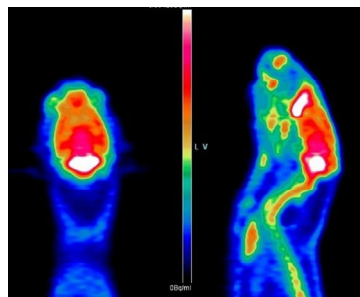
### (3) ボツリヌス毒素投与による情報伝達変化の観察

神経刺激モデルの感覚神経節にカニューレを挿入し、頭部に断端を設置した。このカニューレからは末梢神経節に薬物を直接投与することが可能とした。神経節での神経伝達物質遊離を抑制するため、ボツリヌス毒素を神経節に直接投与することにより、痛み行動に変化が生じるのかを観察した。さらに感覚神経節へのボツリヌス毒素直接投与が運動機能に変化を起こすのかを観察した。

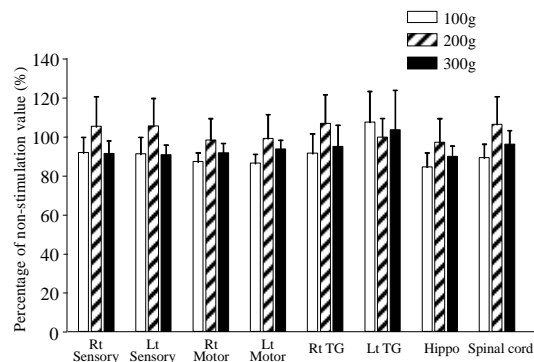
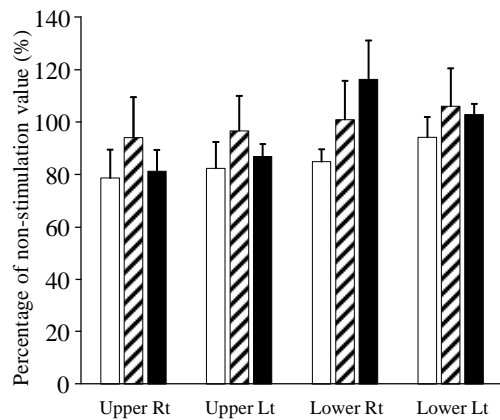
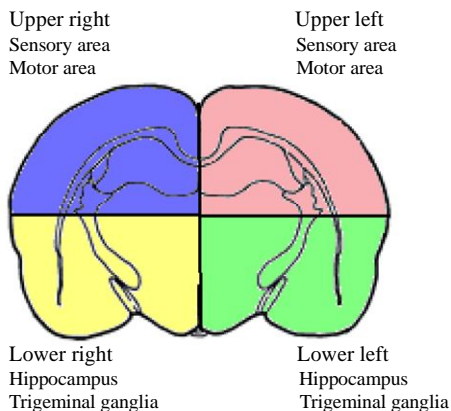
## 4. 研究成果

### (1) ラット臼歯部機械的刺激時の脳内興奮部位の観察

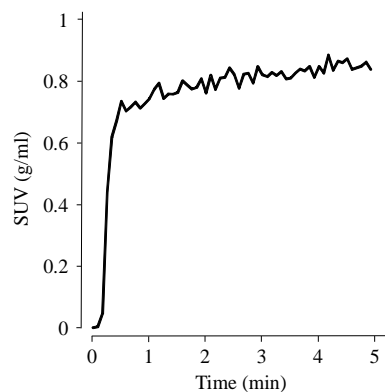
ラットの小白歯を機械的に刺激して、脳内活動部位を 18F-2-フルオロ-2-デオキシ-D-グルコース (FDG) を用いて放射線断層撮影法 (PET) により計測した。イソフルレン麻酔下のラットに対し、電気的フォンフライ装置を用いて刺激強さを計測しながら、上顎右側小白歯を刺激した。歯の刺激前には FDG を尾静脈から注射し、100、200、300g の強さで刺激した。脳 PET 画像は脳を 4 分割 (右上、左上、右下、左下) して、FDG 集積のピーク値を計測したところ、右下部において、300g の刺激は 100、200g の刺激よりも FDG のより多くの集積が観察された。また、感覚部位、運動部位、海馬、三叉神経節、脊髄に分類して観察したところ、三叉神経節と感覚部位において FDG のより多くの集積が観察された。



PET/CT photography image



ダイナミック PET 記録では 0.5 秒以内に FDG が集積することが理解できた。

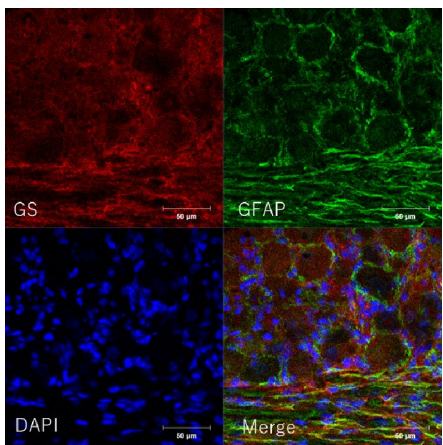
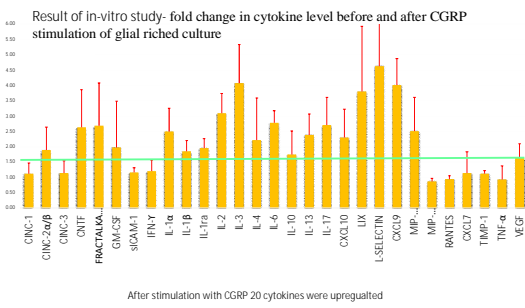
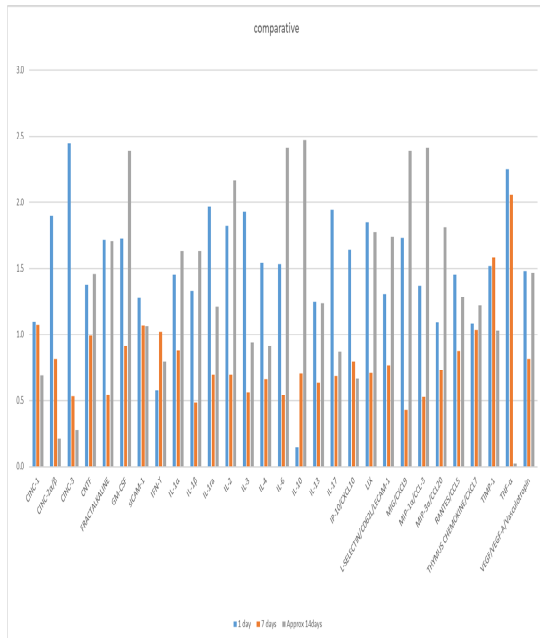


Uptake change in the brain after injection of <sup>18</sup>F-FDG

### (2) 眼窩下神経結紮刺激による三叉神経節興奮の観察

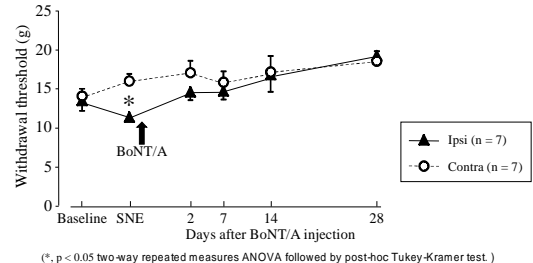
眼窩下神経を緩く結紮し、神経刺激したラットでは顔面部の機械刺激閾値の低下が観察された。三叉神経刺激後には三叉神経節内のサテライトグリアの興奮が観察されるとともに、サイトカイン (IL-2 など) の遊離増加が観察された。また、カルシトニン関連ペプチドによる神経細胞刺激により、サイトカイン (IL-3、Fractalkine など) の遊離量が増加した。さらに、神経伝達物質刺激によりサテライトグリア細胞が刺激されているこ

とが GFAP 染色により確認された。これは、神経刺激により興奮したサテライトグリアからサイトカインが遊離されたことを示している。

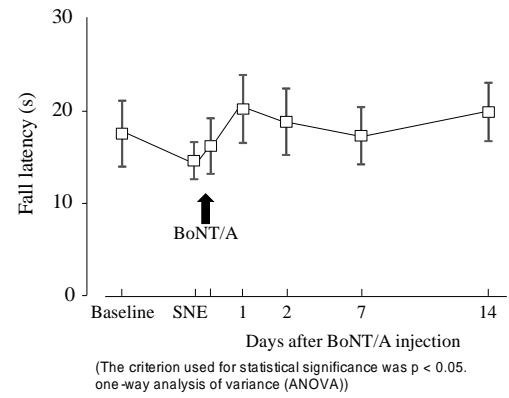


(3) ボツリヌス毒素投与による情報伝達変化の観察

末梢神経を緩く結集し、神経刺激したラットでは刺激閾値の低下が観察された。感覚神経節へのボツリヌス毒素直接投与後には閾値の回復を認め、神経情報伝達を抑制する可能性が考えられた。



(\* p < 0.05 two-way repeated measures ANOVA followed by post-hoc Tukey-Kramer test.)



(The criterion used for statistical significance was p < 0.05. one-way analysis of variance (ANOVA))

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)  
 Okura K, Shigemoto S, Suzuki Y, Noguchi N, Omoto K, Abe S, Matsuka Y. Mandibular movement during sleep bruxism associated with current tooth attrition. J Prosthodontic Res 61:87-95, 2017. 査読有 DOI: 10.1016/j.jpor.2016.06.003.  
Matsuka Y, Hagiwara Y, Tamaki K, Takeuchi H, Fujisawa M, Ono T, Tsukiyama Y, Nagao K, Tsuga K, Aita H, Kondo H, Fueki K, Tsukasaki H, Nishigawa K, Ozawa S, Kuwatsuru R, Minakuchi H, Iinuma T, Matsuura T, Ishibashi K, Fujii S, Hirai T, Sasaki K, Yatani H, Igarashi Y, Sato Y, Ichikawa T, Yamamori T, Kuboki T, Baba K, Koyano K, Sato H, Matsumura H. Reliability and validity of the patient disability-oriented diagnostic nomenclature system for prosthetic dentistry. J Prosthodontic Res 61:20-33, 2017. 査読有 DOI: 10.1016/j.jpor.2016.06.005.  
 Omoto K, Iwasa T, Afroz S, Ueda M, Okura K, Matsuka Y. Preliminary study of neural excitation with positron emission tomography after tooth mechanical stimulation. J Jpn Assoc Oral Rehabil 29:28-34, 2016. 査読有 DOI:無.

Tamaki K, Ishigaki S, Ogawa T, Oguchi H, Kato T, Suganuma T, Shimada A, Sadamori S, Tsukiyama Y, Nishikawa Y, Masumi S, Yamaguchi T, Aita H, Ono T, Kondo H, Tsukasaki H, Fueki K, Fujisawa M, Matsuka Y, Baba K, Koyano K. Japan Prosthodontic Society position paper on "occlusal discomfort syndrome". J Prosthodontic Res 60:156-166, 2016. 査読有 DOI: 10.1016/j.jpor.2015.11.002.

Omoto K, Maruhama K, Terayama R, Yamamoto Y, Matsushita O, Sugimoto T, Oguma K, Matsuka Y. Cross-excitation in peripheral sensory ganglia is associated with pain transmission. Toxins 7:2906-2917, 2015. 査読有 DOI: 10.3390/toxins7082906.

Matsuka Y, Iwata K, Terayama R, Imamura Y, Maruhama K, Shinoda M, Tsuboi Y, Kondo M, Honda K, Katagiri A, Sugimoto T. Basic research and clinical investigations of the neural basis of orofacial pain. J Oral Biosci, 57:27-36, 2015. 査読有 DOI: 10.1016/j.job.2014.09.001.

Shigemoto S, Bando N, Nishigawa K, Suzuki Y, Tajima T, Okura K, Matsuka Y. Effect of an exclusion range of jaw movement data from the intercuspal position on the estimation of the kinematic axis point. Medical Engineering and Physics, 36:1162-1167, 2014. 査読有 DOI: 10.1016/j.medengphy.2014.06.013.

Yatani H, Komiyama O, Matsuka Y, Wajima K, Muraoka W, Ikawa M, Sakamoto E, De Laat A, Heir GM. Systematic review and recommendations for nonodontogenic toothache. J Oral Rehabil, 41:843-852, 2014. 査読有 DOI: 10.1111/joor.12208.

Nishigawa K, Nakano M, Ishikawa T, Bando E, Matsuka Y. Case report of recurrent temporomandibular joint open lock associated with abrupt reduction of displaced articular disk. J Prosthodont Res, 58:184-190, 2014. 査読有 DOI: 10.1016/j.jpor.2014.04.001.

[学会発表](計12件)

Afroz S, Iwasa T, Oshima M, Arakaki R, Inoue M, Ishimaru N, Matsuka Y. Cytokine released by satellite glial cells and pain transmission in sensory ganglions. Japan Association for Dental Research, 2017年11月18日, (東京都品川区)昭和大学.  
Iwasa T, Arakaki R, Oshima M, Afroz S,

Inoue M, Goto N, Ishimaru N, Matsuka Y. Up-regulation of inflammatory cytokines in trigeminal ganglia after infraorbital nerve constriction. Society for Neuroscience, 2017年11月14日, (アメリカ)ワシントン州コンベンションセンター.

岩浅匠真, S.Afroz, 成谷美緒, 宮城麻友, 井上美穂, 大島正充, 松香芳三. 神経障害性痛モデルラットに対するボツリヌス毒素の効果. 日本ボツリヌス治療学会, 2017年9月29日, (東京都中央区)東京コンベンションホール.

岩浅匠真, 大島正充, 大倉一夫, 井上美穂, S.Afroz, 松香芳三. 口腔顎顔面痛モデル三叉神経節におけるサイトカイン動態. 日本口腔顎顔面痛学会, 2017年7月30日, (神奈川県横浜市)ワークピア横浜.

鈴木善貴, Lavigne GJ, 大倉一夫, 安陪晋, 松香芳三. 睡眠中の律動性咀嚼筋活動に関連した酸素および二酸化炭素濃度の変動. 日本補綴歯科学会, 2017年7月1日, (神奈川県横浜市)パシフィコ横浜.

重本修伺, 平井真也, 井川知子, 田島登誉子, 松香芳三, 小川匠. 下顎運動軸の3次元的検討. 日本歯科医学会, 2016年10月21日, (福岡県福岡市)福岡国際会議場.

福永温句, 重本修伺, 大本勝弘, 田島登誉子, 宮本裕司, 皆木省吾, 松香芳三. 咀嚼能力の総合的な解析に向けた生体信号と食塊粒度の同期記録法の検討. 日本補綴歯科学会, 2016年7月09日, (石川県金沢市)石川県立音楽堂.

Omoto K, Maruhama K, Yamamoto Y, Sugimoto T, Matsushita O, Neubert JK, Matsuka Y. Pain transmission within peripheral sensory ganglia. Society for Neuroscience, 2015年11月17日, (アメリカ)マッコミックプレイス.

大本勝弘, 丸濱功太郎, 田中紗友里, 大倉一夫, 松香芳三. 神経障害性疼痛における神経伝達物質遊離抑制と鎮痛効果. 補綴若手研究会, 2015年3月22日, (静岡県熱海市)ニューアカオ.

Omoto K, Tanaka S, Suzuki Y, Okura K, Maruhama K, Sugimoto T, Matsuka Y. Relationship between neurotransmitter release within sensory ganglia and pain transmission. International Association for Dental Research, 2015年3月13日, (アメリカ)ボストンコンベンション&エキシビジョン・センター.

Omoto K, Maruhama K, Sugimoto T, Matsuka Y. Neural excitation with positron emission tomography after

tooth mechanical stimulation. Society  
for Neuroscience, 2014 年 11 月 18 日,  
(アメリカ)ワシントン州コンベンショ  
ンセンター.

大本勝弘, 丸濱功太郎, 田中紗友里, 大  
倉一夫, 杉本朋貞, 松香芳三. 未梢知覚  
神経節における神経伝達物質遊離抑制に  
よる情報伝達の変化. 日本口腔顔面痛学  
会, 2014 年 11 月 01 日, (東京都・文京  
区)東京医科歯科大学.

〔図書〕(計 1 件)

松香芳三. 冠橋義歯補綴学テキスト第 2  
版. 永末書店, 総ページ数:267 ページ  
(233-240), 2017.

6. 研究組織

(1)研究代表者

松香 芳三 (MATSUKA, Yoshizo)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授  
研究者番号: 90243477

(2)研究分担者

小川 匠 (OGAWA, Takumi)  
鶴見大学・歯学部・教授  
研究者番号: 20267537

山本 由弥子 (YAMAMOTO, Yumiko)  
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助  
教  
研究者番号: 20403496

丸濱 功太郎  
岡山大学・大学院医歯薬学研究科・助教  
研究者番号: 60712792