

論文の内容の要旨

氏名：堀 貫 恵 利

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名： Experimental tooth movement changes spatiotemporal profiles of somatosensory and insular cortical responses to electrical stimulation of the periodontal ligament

（矯正力負荷下の歯根膜電気刺激に対する体性感覚野および島皮質における神経活動の変化）

矯正治療による痛みは、最も多い愁訴の1つであり、患者にとって大きな負担となっている。この痛みのメカニズムとして、歯根膜周囲の炎症の関与が指摘されている。動物に実験的な矯正力を負荷することにより、歯根膜に存在する侵害受容性線維や、侵害受容に関連する中枢神経領域での応答が亢進することが知られている。しかし、侵害情報を最終的に認知する大脳皮質において、歯根膜への侵害情報がどのように処理されているのか、また、大脳皮質の神経活動に対する矯正力の影響についてはほとんど不明である。そこで本研究では、光学計測法を用いて、上下顎切歯および臼歯の歯根膜を電気刺激して得られる体性感覚野および島皮質の神経応答を解析し、大脳皮質における歯根膜の侵害情報の処理様式を明らかにするとともに、矯正力を負荷したモデル動物での大脳皮質神経活動の変化について調べた。

実験には、雄性 Sprague - Dawley ラット（6-7 週齢）を使用した。ウレタン麻酔下で上下顎切歯および臼歯歯根膜に刺激電極を挿入し、一次体性感覚野と二次体性感覚野および島皮質を含む大脳皮質（左側）を露出させた全脳動物標本を作製した。露出させた大脳皮質表面に膜電位感受性色素（RH1691）を負荷し、実体顕微鏡に CCD カメラを搭載した光学計測システムを用いて大脳皮質の神経活動を可視化した。撮像領域は $6.4 \times 4.8 \text{ mm}^2$ であり、中大脳動脈および嗅溝を基準として観察位置を決定した。撮像は 250Hz、すなわち 1 フレームあたり 4 ms で行った。実験終了後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し、実際に矯正力を負荷した右側上顎臼歯部の免疫染色を行った。

はじめに、上下顎切歯および臼歯歯根膜の電気刺激（0.5-8 V, 50 Hz, 5 連発）を行い、歯根膜刺激に対する大脳皮質の応答領域を同定した。電気刺激を行った後、最初に応答が現れたフレームでの応答を初期応答、初期応答中心部での信号強度が最大になるフレームでの応答を最大応答として解析を行った。上顎切歯、上顎臼歯歯根膜の電気刺激によって得られた大脳皮質の初期応答は、中大脳動脈の尾側の二次体性感覚野腹側部および島皮質（以下 S2/IOR）に認められた。一方、下顎切歯と下顎臼歯歯根膜刺激に対する初期応答は、上顎歯根膜刺激時と同様に S2/IOR に認められたが、上顎の初期応答と比較して腹尾側に位置しており、上顎歯根膜と下顎歯根膜の初期応答には局在性があることが明らかとなった。また、下顎切歯と下顎臼歯歯根膜刺激時には、一次体性感覚野領域（以下 S1）にも初期応答を認めた。上下顎切歯、臼歯歯根膜刺激時の最大応答は、S1 および S2/IOR 領域に認められた。最大応答の大部分は重複しており、刺激部位による差は認められなかった。

次に、歯根膜の電気刺激によって得られる大脳皮質の応答が、矯正力を負荷することによってどのように変化するか検討した。矯正モデルは、Waldo 法に従ってイソフルラン麻酔下でラット右側上顎第一臼歯および第二臼歯間にゴム片を挿入して作製した。矯正力負荷 1 日後では、上顎臼歯歯根膜刺激時の最大振幅および応答面積が対照群と比べて顕著に増大した。また、矯正力負荷群において、矯正力を負荷していない上顎切歯および下顎切歯歯根膜刺激時にも最大振幅が増大した。刺激の強度によって応答が惹起される神経線維の種類が異なることが知られていることから、刺激強度を変えて歯根膜刺激時の大脳皮質神経応答を解析した。対照群および矯正力負荷群において、刺激強度に応じて応答面積および最大振幅が増大した。さらに、4 V 以上の刺激強度では、矯正力負荷群で応答面積および最大振幅の有意な増大が認められた。以上のことから、主に閾値の高い侵害受容性線維が矯正力による影響を受けている可能性が示唆された。

さらに、矯正力負荷下の歯根膜刺激に対する大脳皮質の神経応答の経時的変化を検討した。ラット右側上顎切歯および臼歯間に closed coil spring を結紮した矯正力負荷群と、上顎切歯および臼歯に結紮線を巻いた Sham 群を作製し、処置 1 日後、3 日後、7 日後の大脳皮質神経活動を観察した。矯正力

負荷 1 日後では対照群と比較して、応答面積および最大振幅が顕著に増大した。矯正力負荷 3 日後には応答が減少し、矯正力負荷 7 日後には対照群と同程度の応答に回復した。臨床においてヒトに矯正力を負荷すると、矯正力負荷から約 1 日後に痛みが生じ、その後 1 週間以内に痛みが減少することが報告されている。さらにラットを用いた行動学的実験においても、矯正力負荷後にヒトと類似した時間経過で痛みが生じているとの報告があり、本実験で観察した大脳皮質神経活動の亢進および回復の経過が矯正治療中の痛みの経過を反映している可能性が示された。なお、Sham 群では、処置 1 日後および 3 日後に対照群と比較して応答強度および応答面積の増大を認めたが、その変化は矯正力負荷群で認められたものより小さかった。

矯正力を負荷することにより、歯根膜周囲の炎症が生じることが知られている。歯の移動は炎症を伴い、放出された炎症性サイトカインが末梢の侵害受容器を感作し、痛みの発生に寄与している。そこで、大脳皮質神経応答と歯根膜の炎症性サイトカインとの相関性を調べるため、歯根膜周囲の免疫染色を行い、炎症性サイトカインである IL-1 β および TNF- α 発現の経時的変化を調べた。IL-1 β および TNF- α の発現は、矯正力負荷 1 日後に有意に増加し、矯正力負荷 3 日後には減少した。Sham 群においても処置 1 日後に炎症性サイトカインの発現が上昇し、7 日後には対照群と同程度まで減少した。このように、矯正力負荷後の炎症性サイトカインの発現は、大脳皮質神経活動と類似した経時的変化を示すことが明らかとなった。

本研究では、歯根膜電気刺激に対する大脳皮質神経応答の矯正力による変化を明らかにし、大脳皮質神経活動と歯根膜組織での炎症の相関性を調べた。歯根膜電気刺激に対する神経応答は、S1 および S2/IOR に認められ、初期応答には歯種によって局在性があることが明らかとなった。また矯正力負荷 1 日後に大脳皮質神経活動が顕著に亢進し、7 日後には対照群と同程度まで回復することから、矯正力は大脳皮質において長期に渡る可塑的变化は生じ得ないことが明らかとなった。矯正力負荷後の大脳皮質神経活動が、臨床における矯正治療中の痛みと類似した経時的変化を示すことは、本実験で観察した現象が矯正治療中の痛みを反映している可能性を示している。さらに、炎症性サイトカインの発現と大脳皮質神経応答の変化が類似した時間経過を示すことから、末梢での炎症が大脳皮質神経活動に影響を与えている可能性が示された。