

## 学位研究紹介

## ラット臼歯の実験的移動に伴う parabrachial核ニューロンにおけるFos 蛋白の経時的・空間的発現について Temporal and spatial distribution of Fos protein in the parabrachial nucleus neurons during experimental tooth movement of the rat molar

新潟大学大学院医歯学総合研究科  
口腔生命科学専攻摂食環境制御学講座  
咬合制御学分野

廣島邦泰

Department of Oral Biological Science, Division of  
Orthodontics Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences Course for Oral Life Science  
Kuniyasu Hiroshima

キーワード：Fos蛋白, Parabrachial nucleus, 歯の移動,  
痛み

### 目 的

Parabrachial nucleus (PBN) は、口腔顔面領域から伝達される侵害刺激などの情報の中継核として重要な役割をしている。矯正临床上、歯の移動により不快感や痛みといった異常感覚が出現し、経日的に消失することが知られている。しかしながら、歯の移動中の中枢神経系の変化についての報告は少ない。本研究では実験的に歯を移動させた際のPBNにおけるFos蛋白発現の経時的・空間的变化を免疫組織化学的に検索した。また、Fos蛋白発現に対するオピオイドの影響を、モルヒネとその拮抗薬であるナロキサンを用いて検索した。

### 材料と方法

実験動物として6.5週齢の雄性Wistar系ラット（各群4匹ずつ）を用いた。歯の移動はWaldoの方法に準じ、ハロセン麻酔下にて右側上顎第一・第二臼歯間にゴム片を挿入し、移動開始0（挿入直後）、1、2、4、12、24、120時間後に屠殺した（experimental animals）。対照実験として、Fos陽性ニューロン出現のベースラインを調べるための無処置群（normal animals）、ハロセンの影響を調べるために麻酔のみ行った麻酔対照群

（anesthetized control animals）、実験手技の影響を調べるためにゴム片の挿入を行わず、1分間開口のみさせた対照群（control animals）、歯の移動刺激以外の影響を調べるため、ゴム片を挿入直後外した偽処置群（sham-treated animals）を用いた。これらの動物はいずれも処置後4時間で屠殺した。またオピオイド投与実験として、塩酸モルヒネ（3、10mg/kg）、塩酸ナロキサン（2mg/kg）、塩酸モルヒネ（10mg/kg）と塩酸ナロキサン（2mg/kg）の両方、コントロールとして同量の生理食塩水を腹腔内投与し2時間後に屠殺した。なお、モルヒネは歯の移動30分前に、ナロキサンはモルヒネ投与後5分及び25分後に1mg/kgずつ2回投与した。灌流固定後脳幹を取り出し、厚さ50μmの連続凍結切片を作成した。ABC法を用いてFos蛋白の免疫染色後、Fos陽性ニューロン数を計測し統計処理を行った。

### 結果と考察

無処置群ではFos陽性ニューロンがわずかながら観察されたが左右差はなかった。無処置群と比較して麻酔対照群と対照群のFos陽性ニューロン数は有意に大きかったが、左右差はなく、麻酔対照群と対照群との比較で有意差はなかった。これらのFos蛋白の発現は吸入麻酔の循環や呼吸への影響と考えられ、口腔周囲部への刺激によるものではないと思われた。偽処置群の実験側PBNにおけるFos陽性ニューロン数は対照群のものより有意に大きかったが、実験群に比べその数はかなり小さかった。すなわち実験側PBNに存在するニューロンは、ゴム片挿入による刺激によってFos蛋白を発現することが明らかとなった（図1）。歯の移動によりPBNでは両側性にFos陽性ニューロン数は有意に増加し、歯の移動後4時間で最大値に達し、その後、徐々に減少し、移動後5日で正常値に戻った（図2）。これらFos陽性ニューロンは基準面（橋と下丘が結合する部位）のやや尾側寄りに多数出現した（図3）。PBNの各亜核においてもFos陽性ニューロンの同様の経時的・空間的变化を認めた。一方、モルヒネ投与によりFos陽性ニューロン数は濃度依存的に減少し、その影響はナロキサン投与により拮抗された（図4）。

本研究により、実験的歯の移動時のPBNにおけるFos陽性ニューロンの経時的小よび空間的分布が明らかとなった。片側の歯の移動によりPBNに両側性にFos陽性ニューロンが出現し、その出現はこれまでの研究で示されている三叉神経脊髄路核尾側亜核（SpVc）における経時的小変化よりも遅いことが示めされた。また、モルヒネ

およびナロキサン投与実験により，ゴム片挿入による歯の移動刺激の大部分が侵害刺激としてPBNに作用することが明らかとなった。今回，明らかにされたFos陽性ニューロンの出現パターンは，矯正治療中患者がよく訴

える一過性の不快感や異常感覚といった臨床的特徴を反映していた。(Hiroshima, K. et al, Brain Research, 908 : 161-173, 2001.)

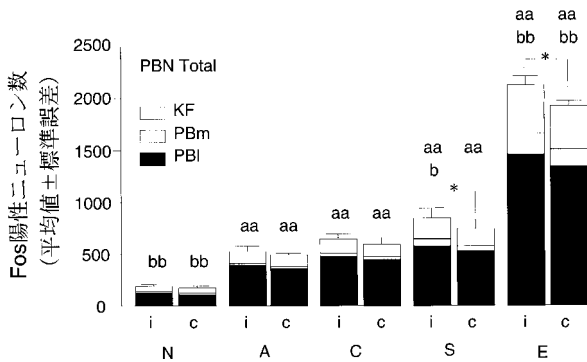


図1 Parabrachial nucleus (PBN) とその亜核である外側PBN (PBI), 内側PBN (PBm), KF nucleus (KF) での無処置群 (N), 対照群 (C), 麻酔対照群 (A), 偽処置群 (S), 実験群 (E) における麻酔4時間後の実験側 (i), 対照側 (c) のFos陽性ニューロン数。

\*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ は同一群間の実験側と対照側間での有意差を示し, aa  $p < 0.01$ , a  $p < 0.05$ は無処置群と他の群間, bb  $p < 0.01$ , b  $p < 0.05$ は対照群と他の群間との有意差を示す。

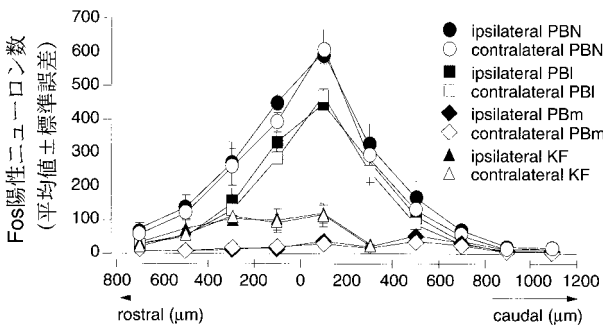


図3 歯の移動4時間後のPBN (○), PBI (■), PBm (◇), KF (▲) の実験側 (黒), 対照側 (白) におけるFos陽性ニューロンの空間的 (吻尾方向) 分布。横軸; 基準面 (橋と下丘が結合する部位を0とする) から尾側, 吻側それぞれの切片まで距離。縦軸; 連続4切片 (200 μm) のFos陽性ニューロン合計 (1匹あたりの平均 ± 標準誤差)。

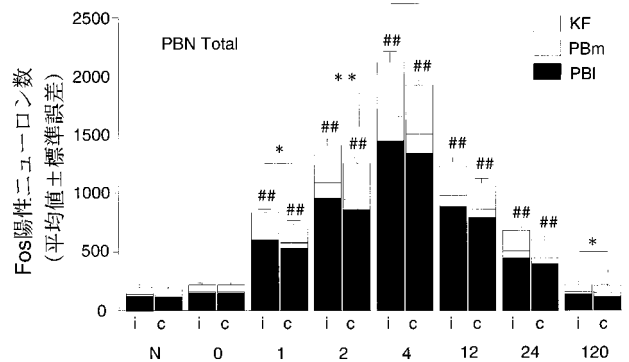


図2 PBN, PBI, PBm, KFの実験側, 対照側に発現したFos陽性ニューロンの経時的変化。\*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ は同一群間の実験側と対照側間での有意差を示し, #  $p < 0.01$ , ##  $p < 0.05$ は無処置群と他の群間との有意差を示す。

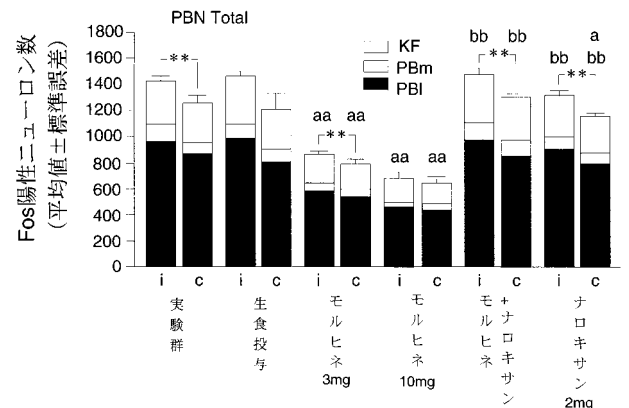


図4 PBN, PBI, PBm, KFの実験側, 対照側に発現するFos陽性ニューロンに対するモルヒネとナロキサンの影響。\*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ は同一群間の実験側と対照側間での有意差を示し, aa  $p < 0.01$ , a  $p < 0.05$ は生理食塩水投与群と他の群間, bb  $p < 0.01$ , b  $p < 0.05$ はモルヒネ10mg投与群とナロキサン投与群 (モルヒネ+ナロキサン, ナロキサン単独) 間での有意差を示す。