

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09557

研究課題名（和文）ラット腰椎椎間板ヘルニアモデルへの社会的敗北ストレス負荷が及ぼす影響

研究課題名（英文）Effects of social defeat stress loading on a rat lumbar disc herniation model

研究代表者

紺野 慎一（Konno, Shinichi）

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：70254018

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：腰椎椎間板ヘルニアモデルであるラット髄核留置モデルを用いて、ストレス負荷の有無による疼痛関連行動と疼痛関連物質の変化を検討した。社会的敗北ストレスは、機械的疼痛閾値の低下期間を遷延させた。下行性疼痛抑制系の中脳水道周囲灰白質でアストロサイトの減少が神経機能に影響を与える可能性が示唆された。拘束ストレス負荷により遷延化する疼痛閾値の低下は、側坐核でのドーパミン量の低下が原因であることが示唆された。今回の検討では、不安行動の相違を評価することができなかった。ストレス負荷の期間、疼痛の持続期間の影響を加味してのさらなる検討する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床に即した腰椎椎間板ヘルニアの病態モデルを用いて、ストレス負荷の有無により疼痛閾値の低下の持続により疼痛の慢性化を評価した。社会的・身体的ストレスが下行性疼痛抑制系の脳機能の低下に関連することを提示した。臨床での個々の症例の慢性化の機序は複雑であり、また、正常の疼痛刺激に対する反応経路が異なることを推測し、多面的な評価と早期治療の必要性を啓発する足がかりとなることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study was examined changes in pain-related behaviors and substances with and without stress loading using a rat nucleus pulposus applied model for lumbar disc herniation. Social defeat stress prolonged the period of lowered mechanical pain threshold in the nucleus pulposus applied model. It was suggested that a decrease in astrocyte in the periaqueduct gray matter (PAG) in the descending pain inhibitory system may affect in pain threshold prolonged by restraint stress load is due to the decrease in dopamine levels in the nucleus accumbens. It was unable to assess differences in anxious behavior in the present study. Further investigation is needed to take into account the effects of the timing of behavior under stress, the duration of stress load, and the duration of pain.

研究分野：脊椎脊髄病

キーワード：下行性疼痛抑制系 神経障害性疼痛 ストレス負荷

1. 研究開始当初の背景

国民基礎調査における自覚症状では、男女とも第1位が腰痛である。腰痛患者の診療ガイドラインが策定され、エビデンスに基づいた適切な治療が推奨されている。しかしながら、中には疼痛が慢性化し、治療難航例が認められる。腰痛の程度が軽度であるにも関わらず、日常生活の支障が強い症例が存在し、その要因が心の健康度が低い、ストレスがあるなど慢性化の機序は複雑であり、原因病態の他に心理・社会的因子の関与がリスク因子である。慢性腰痛患者の背景は多様であることから、要因別に評価をすることが困難な場合がある。基礎的研究においては、背景を統一し設定した項目を評価することができるという利点があることから、臨床に即した腰椎疾患モデルを用いての、心理社会的に因子の影響を解析することが期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、腰椎疾患の病態モデルの1つの腰椎椎間板ヘルニアモデルである神経に髄核を留置するラット髄核留置モデルを用いて、ストレス負荷の有無による疼痛関連行動の変化、疼痛関連物質の変化、薬物投与効果を評価することである。

3. 研究の方法

1) 実験系の設定：モデルの作成

SD系雌ラットを使用し、髄核留置(NP)群、シャム(sham)

群、非手術 (naive) 群を設定した。髄核留置(NP)群：全身麻酔下に腰椎椎間関節を切除し、左第5腰神経 (L5) を展開し、尾椎より椎間板髄核を採取し後神経根 (DRG) に留置し閉創した。

シャム群は、左L5を展開するのみで、髄核を留置せずに閉創した。

2) ストレス負荷

・社会的敗北ストレス(SDS)負荷

ロングエバンス (LE) ラットのホームケージ内に、SD系ラットを入れLEラットに相對させてストレス負荷を加えた。

負荷1：相對時間を15分/回で、モデル作成手術前4日間と手術後4日間実施した。

負荷2：相對時間を1時間/回で、モデル作成手術前10日間実施した。

・拘束ストレス負荷(RS)

モデル作成翌日から、金属メッシュにラット1匹づつをいれ、6時間 (9:00~15:00) の拘束を週に連日5日を4週間実施した。

3) 疼痛関連行動の評価

<シリーズ1> 社会的敗北ストレス(SDS)負荷1に伴う機械的疼痛閾値への影響

・ストレス検証

SDS有無で、SDS(-)群とSDS(+)群の2群を設定し、ストレス負荷の検証のために、SDS負荷30分後に血漿コルチコステロンを測定した。

・疼痛関連行動

実験群は 5 群：非手術 (naive) + SDS 群、sham 群、sham+SDS 群、NP 群、NP+SDS 群を設定し、von Frey フィラメントを用い、機械的疼痛閾値を測定した。

・組織学的検討

実験群は 4 群：sham 群、sham+SDS 群、NP 群、NP+SDS 群を設定し、モデル作成術後 7 日から 7 日ごとに 35 日目まで、中脳水道周囲灰白質(PAG)を採取し、アストロサイト及びミクログリアをそれぞれ標的のマーカを用いて染色した。

<シリーズ 2> 社会的敗北ストレス(SDS)負荷 2 に伴う疼痛閾値と不安行動の評価

・疼痛関連行動

実験群は 4 群：NP 群、NP+RSD 群、sham 群、Sham+RSD 群を設定し、von Frey 試験、Paw pressure test (Randall Selitto test)、Shuttle maze test、および高架式十字迷路試験を術前、術後 7 日、14 日、21 日、28 日目に実施した。

<シリーズ 3 > 拘束ストレス負荷(RS) 伴う疼痛閾値と神経伝達物質の評価

・疼痛関連行動

実験群は 3 群：NP 群、NP+RSD 群、sham 群を設定し、モデル作成翌日から RS 負荷を 4 週間施行した。von Frey フィラメントを用い、機械的疼痛閾値を術前から術後 28 日目まで測定した。

・ドパミンの測定

モデル作成 21 日目に、側坐核にキャニューレーションを行い、28 日目にマイクロダイアリシスを施行した。解析開始前に 2 時間以上の安静時間を置き、ドパミン量を疼痛刺激前に 3 回とカプサイシンを用いて左後肢足底に疼痛刺激を与えた後 15 分毎に 6 回測定した。

4. 研究成果

<シリーズ 1 > 社会的敗北ストレス(SDS)負荷に伴う機械的疼痛閾値への影響

・ストレス検証

SDS(+)群では血漿コルチコステロン値が 549.5ng/ml で、SDS(-)群 209ng/ml と比較し有意に上昇した。本手法でストレスが負荷されていることが判明した。

・疼痛関連行動

NP 群では、疼痛閾値は D21 まで有意に低下した。一方、NP+SDS 群では、疼痛閾値は D35 まで有意に低下し、疼痛閾値低下の遷延化が認められた。

・組織学的検討

PAG のアストロサイトの発現は、sham+SDS 群、NP 群、3 群で 7 日目から 21 日まで、sham 群と比較して、アストロサイト陽性細胞数が減少した。NP+SDS 群では、7 日目から 35 日アストロサイト陽性細胞数が減少した。ミクログリアの陽性細胞の発現はみられたが、4 群間で有意な差は認めなかった。

<シリーズ 2> 社会的敗北ストレス(SDS)負荷 2 に伴う疼痛閾値と不安行動の評価

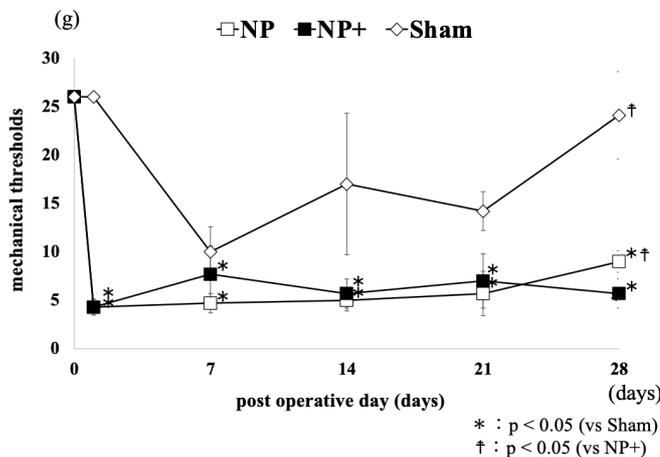
・疼痛関連行動

von Frey ではストレス負荷の有無別で疼痛閾値と閾値の低下持続期間をとらえることができた。一方で、Paw pressure test の疼痛閾値は、NP 群とシャム群の 2 群間で差が見られなかった。不安を評価する十字迷路とシャトルメイズでは、安定したデータを取得することができなかった。臨床の病態を模した疾患モデルであること、長期による評価ではないことから、2 群間の差を評価することができない可能性が示唆された。

<シリーズ 3> 拘束ストレス負荷(RS) 伴う疼痛閾値と神経伝達物質の評価

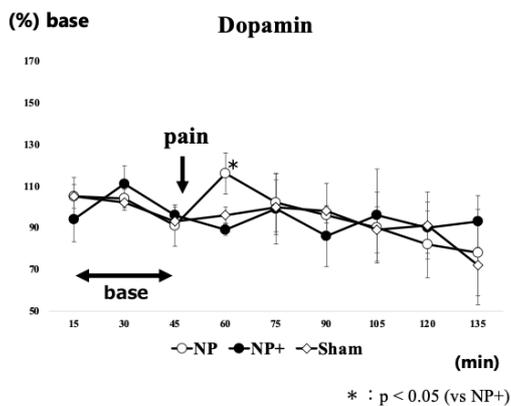
・疼痛関連行動

NP 群、NP+RSD 群は、sham 群と比較し有意に疼痛閾値の低下を認めた。28 日目では、NP+RSD 群は、NP 群と Sham 群より有意に疼痛閾値の低下を認め、疼痛閾値の低下が持続した。



・ドパミンの測定

疼痛刺激後初回のドパミン量は、前値（ベースライン）と比較して、NP 群で 116%まで増加し、NP+RSD 群では 89%に低下した。ストレス下では、疼痛刺激後の側坐核 dopamine 量が低下することが明らかとなった。



社会的敗北ストレスは、SDS 負荷は髄核留置モデルの機械的疼痛閾値低下を遷延させた。SDS 負荷により、中脳水道周囲灰白質(PAG)でアストロサイトとミクログリアの発現変化を認め、アストロサイト数減少が神経機能に影響を与える可能性が示唆される。拘束ストレス下では、髄核留置モデルの疼痛閾値低下の遷延化が持続した。また、身体拘束ストレス下では、疼痛刺激後の側坐核でドーパミン量が低下した。ラット NP モデルにおいて、身体拘束ストレス負荷により遷延化する疼痛閾値の低下は、側坐核でのドーパミン量の低下が原因であることが示唆されました。

不安行動の差を評価することができなかったことは、疼痛の持続期間や評価時期に影響される可能性があり、疾患モデルの限界の可能性が示唆される。他の神経性疼痛モデルとの比較や不安行動の評価方法を用いて検討すること、また、今回の検討結果から、ストレス負荷の条件別の疼痛関連行動に対する薬物療法の評価することが今後の課題と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊剛広、関口美穂、小幡英章、紺野慎一
2. 発表標題 身体拘束ストレス下におけるラット髄核留置モデルでは、疼痛刺激後の側坐核におけるドパミン放出量は低下する
3. 学会等名 第44回日本疼痛学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 関口美穂
2. 発表標題 運動器疼痛と慢性炎症.
3. 学会等名 第16回日本運動器疼痛学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	関口 美穂 (Sekiguchi Miho) (00381400)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------