

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20592448

研究課題名（和文） セロトニン下行性疼痛抑制系の賦活化による顎顔面領域の新たな慢性痛制御理論

研究課題名（英文） The effect of the serotonergic descending pain inhibitory system activation by acute nociceptive stimulation on chronic nociception in the rats.

研究代表者

小野寺 大 (ONODERA DAI)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：80312594

研究成果の概要（和文）：本研究では下行性疼痛抑制系の賦活が慢性痛に及ぼす影響について動物実験で検証した。その結果、神経結紮により閾値の低下がみられた慢性痛モデルにおいて、結紮側と同側のオトガイ神経を電気刺激することにより刺激の12時間後に逃避閾値の上昇がみられた。この時電気刺激側と同側の三叉神経脊髄路核にセロトニンの強発現が惹起されたことから、慢性痛モデルに対する急性痛付加が下行性疼痛抑制系を賦活し、一時的に慢性痛を軽減することが示された。

研究成果の概要（英文）：This study was designed to determine the effect of the serotonergic descending pain inhibitory system activation on chronic pain model rats. Chronic constriction injury (CCI) of the infraorbital nerve (ION) reduced the escape thresholds of mechanical stimulation to the facial area innervated by ION 3-7 days after. Electrical stimulation of mental nerve ipsilateral to CCI side increased the escape thresholds of mechanical stimulation 12h after. In the same time, expression of serotonin was upregulated in the spinal trigeminal nucleus ipsilateral to stimulus side. These results suggested that the activation of the descending pain inhibitory system by mental nerve stimulation could relieve chronic nociception in ION-CCI model rats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：セロトニン、下行性疼痛抑制系、慢性痛、抗うつ剤、三叉神経脊髄路核尾側亜核、延髄大縫線核

## 1. 研究開始当初の背景

非定型歯痛、舌痛症などの慢性痛患者は増加傾向にあり社会問題となっている。しかしながら、慢性痛に対する治療法は確立されておらず、診断および治療法の開発を目指した慢性痛発症メカニズムの解明は急務である。

最近、三叉神経領域に起こる慢性痛を訴える患者様に対しSSRI（選択的セロトニン再取り込み阻害薬）が鎮痛効果をもたらすとの報告から、慢性痛の制御に延髄大縫線核のセロトニン作動神経細胞の軸索が下行性に三叉神経脊髄路核に投射する「下行性疼痛抑制系」

の賦活が重要であることが示された。

最近、私たちはラットオトガイ神経（三叉神経第Ⅲ枝）の電気刺激により、三叉神経脊髄路核に非刺激側に比べて高密度なセロトニンが発現すること（下行性疼痛抑制系の賦活）を観察したので、本現象による疼痛制御の臨床応用について検討した。

## 2. 研究の目的

本研究では上記、人為的下行性疼痛抑制系の賦活が慢性痛に及ぼす影響について動物実験で検証することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究は、東北大学医学部動物実験倫理委員会により承認が得られたプロトコールに基づいて、動物の飼育および実験を行った。実験動物として、9～10週齢の雄性Wistar系ラット（体重200～300g）54匹を用いた。全ての動物は、実験の1週間前には購入飼育し、安定させた。また、実験期間中、室温24℃、規則的な明暗サイクル（7時点灯、19時消灯）のもとで飼育し、ラット用飼料と脱イオン水を自由に摂取させた。尚、実験は全て午前中に行った。

### （1）急性痛モデル実験

ラットをネンブタールで麻酔後、オトガイ神経を剖出後、流動パラフィン下に双曲電極を設置した。その後、電気刺激（30 V, 2 ms, 5 Hz, 10 min）を与えた。刺激の有無は開口反射を指標として評価した。組織サンプルとして、オトガイ刺激直後、一時間後および二時間後にヘパリン加生理食塩水で脱血した後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行い、延髄を摘出した。

### （2）慢性痛モデル実験

ラットの眼窩下神経（三叉神経Ⅱ枝）をChronic gutにて結紮し、慢性痛モデル（CCI: Chronic constriction Injury）を作製した。慢性痛モデルの完成は、結紮した三叉神経領域をタッチテストフィラメント（Von Frey刺激測定器）にて一定の圧力をかけたとき、明らかに後方への逃避行動が得られた場合と定義した。神経結紮前、神経結紮後3日目、7日目および14日目に逃避閾値（g）の変化を観察した。また、組織サンプルとして、各群のラットからヘパリン加生理食塩水で脱血した後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行い、延髄を摘出した。

### （3）慢性痛モデルに対する急性痛付加実験

CCIにより閾値の低下がみられた慢性痛モデル（結紮7日群）に対し、結紮側と同側のオトガイ神経を電気刺激（30 V, 2 ms,

5 Hz, 10 min）した。組織サンプルとして、オトガイ刺激前、刺激後12時間、18時間および24時間後に各群のラットからヘパリン加生理食塩水で脱血した後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行い、延髄を摘出した。

### （4）組織学的検討

灌流固定に摘出された延髄を4%パラホルムアルデヒドで一昼夜後固定し、その後、30%ショ糖10mM PBで組織が沈むまで冷蔵放置した。試料をOTCコンパウンドで包埋し、クライオスタットで凍結切片（30μ）を作製する。その後浮遊切片法によりセロトニン染色を行った。

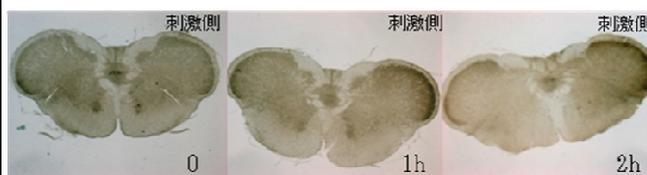
### （5）統計学的分析

全ての数値は、平均値±標準偏差で示した。逃避閾値の経時的変化は、ANOVAにて分散分析を行った後、Post-hoc testによる多重比較検定を行い評価した。また、有意水準はいずれも5%未満とした。なお、統計ソフトはStat View 5.0 (SAS Institute Japan, Tokyo, Japan)を用いた。

## 4. 研究成果

### （1）左オトガイ神経の電気刺激（10 min）による三叉神経脊髄路核にセロトニン発現

図1に示すように、オトガイ神経刺激の一時間後および二時間後に刺激側と同側の三叉神経脊髄路核にセロトニンの強発現がみられた。



オトガイ神経電気刺激後の三叉神経脊髄路核のセロトニン発現

図1

### （2）慢性痛モデル（CCI: Chronic constriction injury）における眼窩下神経（三叉神経第Ⅱ枝）の結紮後の逃避閾値の変化

三叉神経Ⅱ枝の眼窩下神経をクロミックガットで結紮したCCIモデルをの支配領域の逃避閾値をフォンフレイ線維を用いて検討した結果、図2に示すように、神経結紮後の3日目より逃避閾値の低下がみられた。

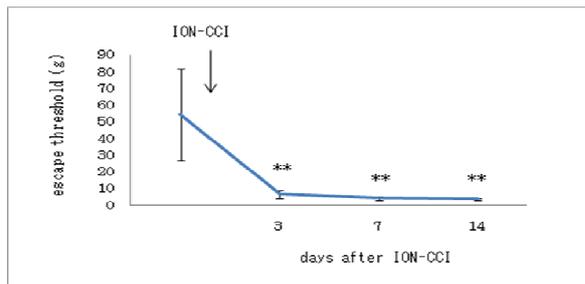


図 2

(3) 慢性痛モデルラット (CCI 一週間後) における CCI 施行側と同側のオトガイ神経 (三叉神経第三枝) 刺激後の逃避閾値の変化

閾値低下がみられた CCI 7 日後のラットを用い CCI 側と同側の三叉神経第三枝のオトガイ神経に電気刺激を与えたところ図 3 に示すとおり、刺激 12 時間後に逃避閾値の上昇がみられた。また、この時三叉神経脊髄路核のセロトニンの強発現もみられた。(図 3)

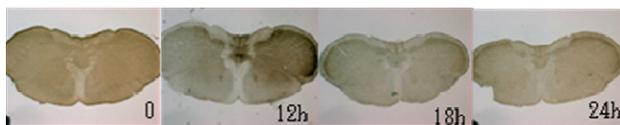


図 3

まとめ

CCI により閾値の低下がみられた慢性痛モデル (結紮一週間後) において、結紮側と同側のオトガイ神経を電気刺激することにより刺激の 12 時間後に逃避閾値の上昇がみられた。この時電気刺激側と同側の三叉神経脊髄路核にセロトニンの強発現が惹起されたことから、慢性痛モデルに対する急性痛付加が下行性疼痛抑制系を賦活し、一時的に慢性痛を軽減することが示された。

#### 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 3 件)

- ① Shinka T, Onodera D, Tanaka T, Shoji N, Srennie P and Fukumoto T Serotonin synthesis and metabolism related molecules in a human prostate cancer cell Line. *Onco Lett.* 2 : 211 - 215, 2011 (査読: 有)
- ② 飯久保正弘、山村宗正、李 麗、森 士朗、小嶋郁穂、佐藤しづ子、庄司憲明、阪本真弥、笹野高嗣 咬筋における痛みと浮腫性変化に関する研究 日本歯学会

会 2010 年次大会講演論文集 6 : 165 - 166, 2010 (査読: 有)

- ③ Fukumoto T, Shoji N, Onodera D, Sakurai I, Hirao Y, Tanaka T, Hatamura I. Dynamic content exchange of serotonin during oocyte maturation. *JMOR* 27 : 216 - 219, 2010 (査読: 有)

[学会発表] (計 2 件)

- ① Shoji N, Sugimoto K, Kataura T, Onodera D, Sasano T Quantitative analysis for pain stress using CRH hnRNA expression. 88th International Association for Dental Research (2010年 7月 15日 Barcelona Spain)
- ② 杉本是明、庄司憲明、笹野高嗣 ラット舌痛刺激による視床下部・下垂体のストレス応答遺伝子転写の定量 第 64 回日本口腔科学会学術集会 (2010年 6月 25日 札幌)

[図書] (計 0 件)

[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

小野寺 大 (ONODERA DAI)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号 : 80312594

(2)研究分担者

庄司 憲明 (SHOJI NORIAKI)

東北大学・病院・講師

研究者番号：70250800

福元 隆浩 (FUKUMOTO TAKAHIRO)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教

研究者番号：50433024

(3)連携研究者

( )

研究者番号：