

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 27 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20602005

研究課題名（和文） 慢性ストレスによる下行性疼痛調節系の機能変化

研究課題名（英文） Functional change in descending pain modulatory system  
induced by chronic stresses

研究代表者

井辺 弘樹（IMBE HIROKI）

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：60326353

研究成果の概要（和文）：慢性ストレスは疼痛を増強する作用があると考えられている。これまで、寒冷環境、拘束ストレス、強制水泳などに繰り返し暴露することにより、動物に痛覚過敏（疼痛反応の増強）が生じることが報告されてきた。しかし、慢性ストレスが痛覚過敏を起こすメカニズムは現在まで明らかにされていない。人や動物の脳には、痛みをコントロールする下行性疼痛調節系が存在している。本研究において、下行性疼痛調節系の一部を破壊した動物では、慢性ストレスによる痛覚過敏が認められなかった。これら実験結果より、慢性ストレスによる痛覚過敏に下行性疼痛調節系からの入力に関与することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Chronic stress is thought to have the effect that enhances pain sensitivity. It has previously been reported that repeated exposure to cold environment, restraint and forced swim for animal produces hyperalgesia (enhancement of nociceptive reaction). However the mechanism underlying chronic stress-induced hyperalgesia remains unknown. There is descending pain modulatory system that controls perception and response to pain in animal and human brains. In the present study we did not observe chronic stress-induced hyperalgesia in the animal with partial lesion of descending pain modulatory system. These results have demonstrated that the input from descending pain modulatory system is involved in chronic stress-induced hyperalgesia.

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	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	156,471	46,941	203,412
年度			
総計	2,956,471	886,941	3,843,412

研究分野：時限

科研費の分科・細目：疼痛学

キーワード：ストレス、疼痛学、下行性疼痛調節系

## 1. 研究開始当初の背景

痛みの強さは不安や恐怖などの情動、注意、予期といった種々の因子により大きく変化する。急性の心理的ストレスは鎮痛作用を引き起こし、「運動競技中や戦争中に被った損傷は、受傷直後、大きな損傷でも比較的痛みを感じない。」ということがよく知られている。一方、慢性の心理的ストレスのモデルと考えられる神経衰弱症の患者では健常者にくらべて皮膚痛覚閾値が低下しており、慢性の心理的ストレスは疼痛を増強する作用があると考えられている。このような心理的ストレスによる痛みの変化は侵害情報の伝達を調節する中枢神経系の活動に由来するものである。

人や動物の脳には、痛みをコントロールする下行性疼痛調節系が存在している。大脳皮質、視床下部、扁桃体などの高位中枢からの入力の中脳中心灰白質を介して、吻側延髄腹内側部 (RVM)、背外側橋中脳被蓋 (DLPT) へ伝えられる。RVM の大縫線核 (NRM) はセロトニン (5HT) を、DLPT の青斑核 (LC) はノルアドレナリン (NA) を含み、ともに脊髄側索を下行して脊髄後角に至り痛みを抑制する。モルヒネによる鎮痛もこの経路が重要な役割を果たすと考えられてきた。しかし最近、下行性疼痛調節系からの入力が神経因性疼痛を長期間持続させているという衝撃的な報告がなされ、生理的条件下では疼痛を抑制する下行性疼痛調節系が、種々のとくに慢性化した病態下では、逆に疼痛を増強させることが知られるようになった。

拘束ストレスは心理的要因の強いストレスとされており、我々は、ラットに慢性拘束ストレスを負荷すると痛覚過敏が生じ、RVM のセロトニン神経系で細胞内情報伝達分子 ERK が活性化することを他に先駆けて明らかにした (Imbe et al. *Pain*. 112:361-71, 2004)。ERK の活性化はセロトニン生合成の律速酵素である tryptophan hydroxylase (TPH) の転写を促進しセロトニン産生を増加させることや、シナプスでの AMPA 受容体の数を増加させ LTP の形成に寄与することから、ERK の活性化は下行性疼痛調節系の機能変化に重要な役割を果たすと考えられる。最近、RVM からの下行性セロトニン入力が脊髄において 5HT<sub>3</sub> 受容体を介して疼痛を増強することが報告され、我々も三叉神経脊髄路核においてそのことを確認している (Okamoto et al. *Neuroscience*. 135:569-81, 2005)。一方、持続的な ERK 活性化は樹状突起の萎縮や細胞死に関係しているという報告もあり、慢性ストレス後、セロトニン神経系を含む下行性疼痛調節系に形態学的変化が生じている可能性もある。これらの流れを踏まえて我々は、「慢性ストレスにより引き起こされる痛覚

過敏の発現・維持に吻側延髄腹内側部が関与している。」という仮説を立てるに至った。

これまで、寒冷環境、拘束ストレス、強制水泳などに繰り返し暴露することにより、動物に痛覚過敏が生じることが報告されている (Imbe et al. *Front Biosci*. 11:2179-92, 2006, Review)。しかし、慢性ストレスが痛覚過敏を起こすメカニズムは現在まで明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

慢性ストレス後、セロトニン神経系を含む下行性疼痛調節系にどのような変化が生じ疼痛反応に影響を与えるのか、そのメカニズムを明らかにする。

- (1) 慢性ストレス後の痛覚過敏における下行性疼痛調節系からの入力の影響
- (2) 慢性ストレス後の下行性疼痛調節系における組織構築の変化
- (3) 慢性ストレス後の下行性疼痛調節系を構成する神経細胞の電気生理学的特性と形態の変化

## 3. 研究の方法

雄性ラット 180-280g を実験に使用した。

### (1) 実験 1

naïve 群 ストレスは負荷されていない。

#### 強制水泳ストレス群

プラスチックシリンダー(幅 30cm、高さ 50cm) に 24-26°C の水を 20cm の高さまで入れ、ラットに強制水泳ストレス (第 1 日 10min, 第 2-3 日 20min) を負荷した。

#### sham 水泳ストレス群

プラスチックシリンダー(幅 30cm、高さ 50cm) に 24-26°C の水を 4cm の高さまで入れ、ラットに sham 水泳ストレス (第 1 日 10min, 第 2-3 日 20min) を負荷した。

#### イボテン酸 + 強制水泳ストレス群

イボテン酸 (1-2.5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , 0.2  $\mu\text{l} \times 2$ ) を吻側延髄腹内側部 (RVM) に脳内微量投与し RVM 神経細胞を破壊後、強制水泳ストレスを負荷した。

イボテン酸 + sham 水泳ストレス群  
イボテン酸を吻側延髄腹内側部 (RVM) に脳内微量投与し RVM 神経細胞を破壊後、sham 水泳ストレスを負荷した。

上記、動物群に、

- ① plantar test
- ② von frey test
- ③ formalin test を行った。

## (2) 実験 2

慢性拘束ストレス (6h/day, 3week) 負荷後、吻側延髄腹内側部 (RVM) および中脳中心灰白質 (PAG) を摘出し Western blot を用い以下のタンパク質の量を測定し、コントロール群と比較した。

- ① 細胞骨格タンパク質 (NFL, NFM, NFH)
- ② 神経成長関連タンパク質 (GAP43)
- ③ グリア細胞関連タンパク質 (GFAP)

## 4. 研究成果

### (1) 実験 1

ラットに sham 水泳ストレス、強制水泳ストレスを繰り返し負荷することにより、ホルマリン注射後の疼痛反応が増強することを確認した。次いで、イボテン酸を吻側延髄腹内側部 (RVM) に脳内微量投与し、RVM 神経細胞を破壊し、強制水泳ストレスを負荷したイボテン酸 + 強制水泳ストレス群では、強制水泳ストレス負荷によるホルマリン注射後の疼痛反応の増強は認められなかった。これらデータは、慢性ストレス後の痛覚過敏に下行性疼痛調節系からの入力に関与することを示唆するものである。第 31 回日本疼痛学会、第 36 回国際生理学会、Neuro 2010 (第 33 回日本神経科学大会)、第 40 回北米神経科学大会で発表し、論文としてまとめ、Brain Res. 1329 (2010) 103-112 に掲載された。

本研究により、慢性ストレスによる疼痛反応の増強に下行性疼痛調節系からの入力に関与することが世界で初めて明らかにされた。今後、慢性ストレスにより下行性疼痛調節系にどのような構造変化が生じ、機能的変調とつながるのか明らかにしてゆく予定である。

### (2) 実験 2

コントロール群に比し、慢性拘束ストレス群では吻側延髄腹内側部において GAP43 蛋白質分解フラグメントが増加した。一方、細胞

骨格タンパク質には変化が見られなかった。これら実験結果は、第 87 回日本生理学会大会において発表した。さらに、中脳中心灰白質において、慢性拘束ストレス負荷後、アストロサイトのマーカーである GFAP が減少するというデータが得られた。今後、さらなる検討を行う予定である。

## 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 2 件)

① Imbe, H., Senba E., Kimura A., Donishi T, Yokoi I, Kaneoke Y. Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase in Descending Pain Modulatory System. J Signal Transduct. 査読有り 2011 Article ID 468061, 10 pages doi:10.1155/2011/468061

② Imbe H., Okamoto K., Donishi T., Senba E., Kimura A. Involvement of descending facilitation from the rostral ventromedial medulla in the enhancement of formalin-evoked nocifensive behavior following repeated forced swim stress. Brain Res 査読有り 2010, 1329: 103-112.

[学会発表] (計 6 件)

① Hiroki Imbe, Akihisa Kimura, Tomohiro Donishi, Emiko Senba, Yoshiki Kaneoke. Involvement of descending facilitation from the rostral ventromedial medulla in the enhancement of formalin-evoked nocifensive behavior following repeated forced swim stress. The 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Nov. 17, 2010, San Diego, CA, USA

② 仙波恵美子, 井辺弘樹. ストレスによる痛覚過敏のメカニズム-下行性疼痛調節系の関与. Neuro2010 (第 33 回日本神経科学大会)、2010 年 9 月 4 日、神戸

③ 井辺弘樹, 堂西倫弘, 木村晃久. 慢性拘束ストレスは吻側延髄腹内側部において GAP43 蛋白質分解フラグメントを増加する. 第 87 回日本生理学会大会、2010 年 5 月 19 日、盛岡

④ Imbe H., Donishi T., Senba E., Kimura A. Participation of descending facilitation

from the rostral ventromedial medulla in repeated swim stress-induced hyperalgesia. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS2009) July 30, 2009, Kyoto

⑤ 井辺弘樹、仙波恵美子：強制水泳ストレス負荷後の疼痛反応増強における吻側延髄腹内側部の関与. 第31回日本疼痛学会、2009年7月18日、名古屋

⑥ 仙波恵美子、井辺弘樹：コメディカルとともに痛みを学ぶワークショップ 慢性ストレスにより痛みが増悪するメカニズム—下行性疼痛調節系の関与. 第31回日本疼痛学会、2009年7月18日、名古屋

[その他]

ホームページ等

[http://www.wakayama-med.ac.jp/med/physiology/Dept\\_of\\_Physiology,\\_Wakayama\\_Medical\\_University/jiao\\_shi\\_shao\\_jie.html](http://www.wakayama-med.ac.jp/med/physiology/Dept_of_Physiology,_Wakayama_Medical_University/jiao_shi_shao_jie.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井辺 弘樹 (IMBE HIROKI)  
和歌山県立医科大学・医学部・講師  
研究者番号：60326353

### (2) 研究分担者

仙波 恵美子 (SENBA EMIKO)  
和歌山県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号：00135691

### (3) 連携研究者

木村 晃久 (KIMURA AKIHISA)  
和歌山県立医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：20225022