

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17133

研究課題名（和文）運動療法が顎顔面部のストレス誘発痛を改善する脳神経メカニズムの解明

研究課題名（英文）Neural mechanisms by which exercise therapy reduces psychosocial stress-induced orofacial pain.

研究代表者

長谷川 真奈（Hasegawa, Mana）

新潟大学・医歯学総合病院・講師

研究者番号：90779620

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：顎顔面部の慢性疼痛は、ストレスが痛みの増強因子であることが知られる。ストレスは不可避であるため、日常的な方法でこれを制御できることが望ましい。本研究は、運動療法がストレス誘発性の顎顔面痛に及ぼす影響と、その中枢メカニズムを解明することを目的に実施した。社会的敗北ストレスモデルマウスを対象に、咬筋ホルマリン誘発性疼痛関連行動と、Vcでのc-Fos、FosBタンパクの発現を定量した。SDS群では咬筋侵害応答およびVcの興奮性が増大した。10日間毎日トレッドミル走を実施した群では、これらが有意に軽減したが、3日に1回運動を実施した群では有意な改善がみられなかった。上記の成果を英文誌に投稿した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、慢性疼痛の治療法として非薬理的なアプローチの開発が期待されている。本研究では低強度の身体的運動が、中枢神経系の機能変調への介入効果により、ストレス誘発性の顎顔面痛を軽減できることを動物モデルを用いて明らかにした。本研究結果は歯科臨床系の雑誌にもトピックとして取り上げられ、身体的運動が単なるストレス解消や健康増進だけでなく、顎関節症に代表される歯科領域の慢性痛への対応の一助となる可能性を広く示すことができた。

研究成果の概要（英文）：Stress is known to be an enhancing factor for pain in diseases with chronic pain in the maxillofacial region, the main symptom of which is found in dentistry. On the other hand, stress is inevitable and should be controlled by daily stress relief. We have previously reported that the central mechanism of stress-induced pain is the modulation of the function of the Vc region. This study focused on exercise therapy, which has recently been attracting attention as a stress reduction method, with the aim of elucidating the effects of exercise therapy on stress-induced maxillofacial pain and its central mechanisms. In male mice model SDS, pain-related behaviors by masseter muscle formalin test and expression of c-Fos and FosB proteins in Vc were quantified as indices. The group that exercised once every 3 days showed no significant improvement in nociceptive response and increased Vc excitability. The above results were submitted to an English journal.

研究分野：口腔生理学 疼痛学

キーワード：疼痛 ストレス 運動療法 マウス トレッドミル 三叉神経脊髄路核尾側亜核

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

1) 顎顔面痛と運動療法

顎関節症など歯科領域で遭遇する慢性痛は、脳機能の変調を基盤とする。そして心理ストレス(以下、ストレス)は、脳機能を変調させ、うつ病など中枢神経系の機能障害による様々な病態をもたらすだけでなく、顎顔面痛(以下、ストレス誘発痛)を増大させる。

我々はこれまでに、ストレス誘発痛の中枢メカニズムが、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)、および上部頸髄後角領域の神経活動の変調(=ニューロンの興奮性の増大)であることを、心理・身体的ストレスモデルを用いた研究により明らかにした(長谷川ほか、Exp Brain Res. 2018)。したがって、Vc および C1/C2 部の痛み応答性のニューロンの興奮性を適切に制御する分子機構の解明が、ストレス痛の治療法を提案するために重要である。一方で、ストレスは実態が不明瞭で、社会生活を営む上で不可避であることから、これを制御するには日常的に実施可能で簡便な方法が望ましい。運動療法は、健康増進および慢性疾患のセルフマネジメント法として近年注目されている非薬理的アプローチである。運動療法の疼痛抑制効果は、後肢の炎症性疼痛モデル(Sartori CR ら、PLoS One. 2020)、神経障害性疼痛モデル(Lopez-Alvarez VM ら、Exp Neurol. 2018)、筋骨格系疼痛モデル(Allen J ら、Arthritis Rheumatol. 2017)など、前臨床モデルを用いた複数の研究により報告されており、そのメカニズムは中枢神経系の機能障害の改善であることが示されている(Lesnak JB ら、Pain Rep. 2020)。顎関節症の病因は多面的であるため、顎顔面痛の慢性疼痛の制御には運動を含む集学的アプローチが有効である。ある研究では、運動頻度が週1回より少ない人の方が顎関節症の有病率が高かった(Miettinen O ら、Int J Environ Res Public Health. 2021)。しかし、運動の種類、時間、強度など、適切な運動処方を決定するために重要な、顎顔面痛の侵害受容に対する身体運動の抑制効果については不明である。

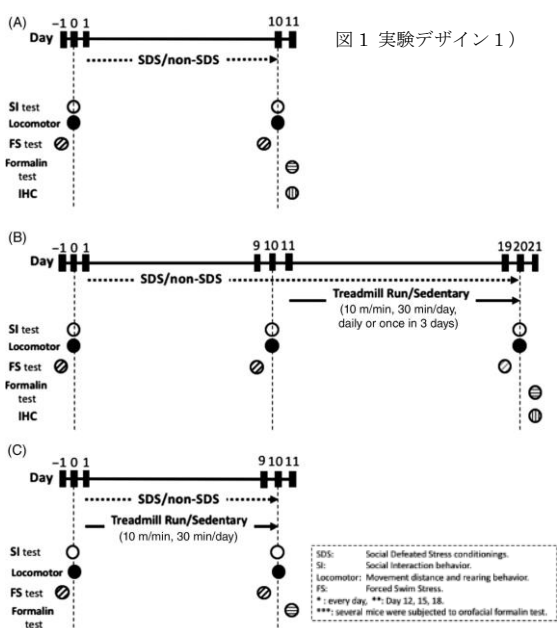
2) 社会的敗北ストレス(SDS)モデルとストレス伝染

ストレスは、不安や抑うつ、緊張状態といったネガティブな感情の総称であるが、ストレスを受けた個体から他の傍観者へと伝染する性質をもち、「ストレス伝染」とよばれる(Ferretti V ら、Genes Brain Behav. 2019)。ストレス伝染は、他の霊長類やげっ歯類などさまざまな種で観察されており、ストレス伝染条件付けを受けた傍観者のげっ歯類において、不安や抑うつ様の行動が誘発されることが実証されている(Brandl HB ら、Proc Biol Sci. 2022)。現在、SDSモデルは、マウスにおいて不安や抑うつ様行動を示す有効なモデルとみなされている。一方、SDSマウスと同居するマウスは、SDSマウスのストレス事象を目撃していないにもかかわらず、不安誘発様行動が増加することが知られているが、このとき、同居マウス(傍観者)には神経、ホルモン、行動などの変調が生じ、心理的苦痛が誘発されている可能性がある(Baptista-de-Souza D ら、Neuropharmacology. 2022)。前述の通り、ストレスは顎関節症を患う患者の痛みを悪化させるが、ストレス伝染によっても顎顔面痛の痛み応答が増大するのか?は不明である。

吻側腹内側髄質(RVM)内に位置する大脳辺縁核(NRM)と外側傍巨細胞網状核(LPGi)は、下行性疼痛制御の重要な役割を担っており、咬筋侵害受容を制御するC1/C2領域へのセロトニン作動性(5-HT)投射の供給源である。多くの研究により、ストレスがRVMの神経活動に影響を及ぼす一方、これらの領域の活動を抑制すると、ストレス誘発性の疼痛関連行動が抑制されることが明らかになっている。ストレスにより、RVMおよびC1/C2領域の5-HT機構に影響を及ぼす可能性が示されている(Shimizu S ら、J Oral Sci. 2020)が、ストレス伝染が上記の領域の神経活動や5-HT機構、特にNRMとLPGiに及ぼす影響については不明である。

2. 研究の目的

ストレス誘発痛に対する運動療法の有効性を、ストレスによって変調した脳機能の改善効果と



位置づけ、運動療法の脳神経機能への介入メカニズムを解明する。また、ストレス伝染が顎顔面部の侵害受容とその基盤となる脳機能（特に 5HT 機構）に及ぼす影響を検討すること。

3. 研究の方法

1) トレッドミルによる身体的運動がストレス誘発痛に及ぼす影響 (図 1)

マウス (雄) を用い、社会的敗北ストレス (SDS) モデルを採用した。本モデルは大型マウスによる小型マウスへの攻撃性を利用した心理社会的ストレス生成モデルであり、人の社会心理的なストレス状態に近いといわれる。ストレス状態の判定には行動解析装置 (SCANET MV-40) を用いた Social Interaction Test (SI)、強制水泳試験 (Forced swim stress (FST)) を併用した。顎顔面部の評価として、咬筋ホルマリン注射による疼痛関連行動時間を計測した。併せて、Vc および C1/C2 部での興奮性の変化を、神経活動のマーカである c-Fos および FosB の免疫応答を指標に定量した。身体的運動としてトレッドミル走 (10m/min、30min/日) を行い、SDS および咬筋ホルマリン刺激によって惹起される咬筋侵害受容や Vc、C1/C2 部の神経興奮に及ぼす影響を定量した。

2) ストレス伝染が顎顔面部の侵害受容と、関連する脳機能に及ぼす影響 (図 2)

ストレス伝染モデルとして、1 匹のマウスを SDS マウス 1 匹と 10 日間同一のケージで飼育した。SDS マウスに対する SDS 処置は居住ケージとは別室で実施した。咬筋侵害受容は、咬筋ホルマリン試験、条件づけ場所嫌悪性テストにより定量した。不安状態の行動学的検討には、SI、明暗箱試験 (DL)、オープンフィールド試験 (OF)、高架型迷路試験 (EPM) を用いた。形態学的検討として、島皮質、前帯状回、LPGi、C1/C2 部の興奮性 (c-Fos, FosB 発現)、RVM、C1/C2 での 5HT 発現、島皮質、前帯状回、RVM での BDNF 量 (ELISA) の検討を行った。

4. 研究成果

1) SDS と身体的運動がストレス状態に及ぼす影響 (図 3)

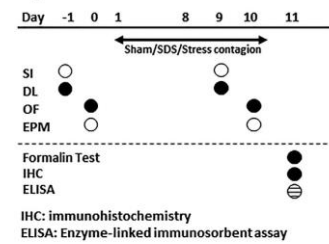
10 日間の SDS 処置により、82.1% のマウスで SI test における Inter zone 滞在時間が有意に短縮し、ストレス感受性群と判定した。17.9% のマウスでは非ストレス群と比較して有意な変化を示さず、ストレス耐性 (レジリエンス) 群とした。ストレス耐性については、他施設からもその存在が報告されている (Russo SJ ら、CNS Neurosci Ther. 2021.)。また、トレッドミル運動群では、毎日運動を実施した場合に、day20 には短縮した Inter zone 滞在時間が Day0 と同程度まで回復した。しかし、3 日に 1 回運動を実施した群では運動効果は認められなかった。

2) SDS と身体的運動が咬筋ホルマリン誘発性の疼痛関連行動に及ぼす影響 (図 4)

10 日間の SDS 処置により、ストレス感受性群において咬筋ホルマリン誘発性の疼痛関連行動が Early phase、Late phase とともに有意に延長した。一方、レジリエンス群では Early phase、Late phase とともに非 SDS 群と同程度であり、有意な変化を認めなかった (図 4A)。

次いで、10 日間の SDS (非ストレス) 処置後、レジリエンス群を除いたストレス感受性群と非ストレス群を対象に、身体的運動 (トレッドミル走) を実施し、day21 に咬筋ホルマリン試験を行った。非ストレス群においてトレッドミル走は疼痛関連行動に有意な変化はみられなかった。ストレス感受性群では、トレッドミル走を毎日行った群において、非運動群と比較し、Late

Experiment 1.



Experiment 2.

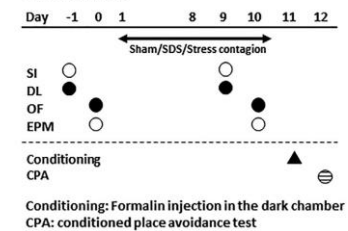


図 2 実験デザイン 2)

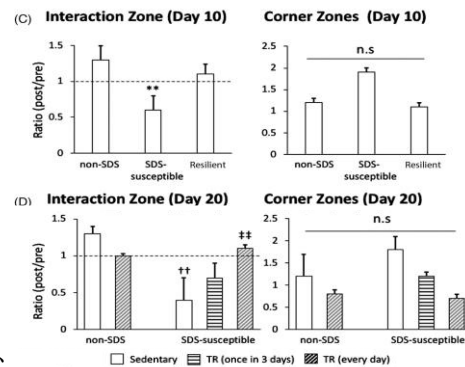


図 3 SDS と身体的運動がストレス状態に及ぼす影響

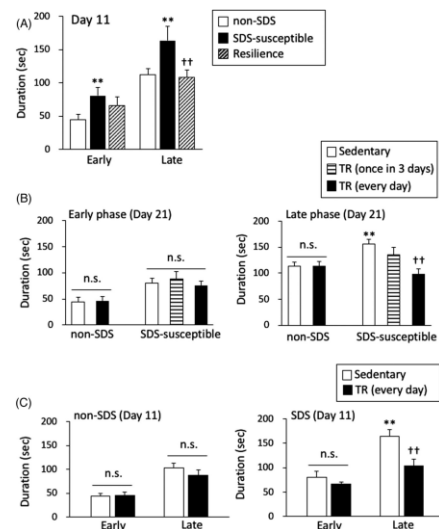


図 4 SDS と身体的運動が疼痛関連行動に及ぼす影響

phase の疼痛関連行動時間を有意に短縮したが、Early phase では有意な変化がみられなかった。この知見は、トレッドミル走による咬筋侵害受容への影響は、中枢神経系の制御の変化を介している可能性が示唆される。一方、3日に1回運動を実施した群では、非運動群と比較して疼痛関連行動時間に有意な差がみられず、運動効果は認められなかった。

また、トレッドミル走の顎顔面痛に対する予防効果を検討した。SDS 処置実施後にトレッドミル走 (10m/min、30min/日) を10日間実施し、Day11に咬筋ホルマリン試験を行った。SDS 処置群では、トレッドミル走群で疼痛関連行動のLate phase が優位に短縮した。非ストレス群ではトレッドミル走の有無による有意な差はみられなかった。

3) SDS と身体的運動が咬筋ホルマリン誘発性の咬筋侵害受容に及ぼす影響 (図5、6)

上部頸髄 (C1/C2) において、c-Fos および FosB タンパクの発現を指標に、免疫組織化学的に咬筋の侵害応答を定量した。ストレス感受性群では、ホルマリン刺激の有無にかかわらず、非ストレス群と比較して、両側の浅層 (I-II層) および深層 (III-V層) で c-Fos、FosB 陽性細胞数が有意に増加したが、レジリエンス群では有意な変化がみられなかった。

10日間のトレッドミル走は、非 SDS・ホルマリン刺激無し群に対しては、c-Fos、FosB 発現に有意な変化を及ぼさなかった。ストレス感受性マウスにおいて、10日間毎日トレッドミル走を実施した群では、両側の浅層 (I-II層) および深層 (III-V層) で c-Fos、FosB 陽性細胞数を有意に減少させた。一方、3日に1回運動を実施した群では、ホルマリン刺激後の c-Fos、FosB 発現に変化がみられなかったが、同側の深層の侵害受容応答は低下していた。

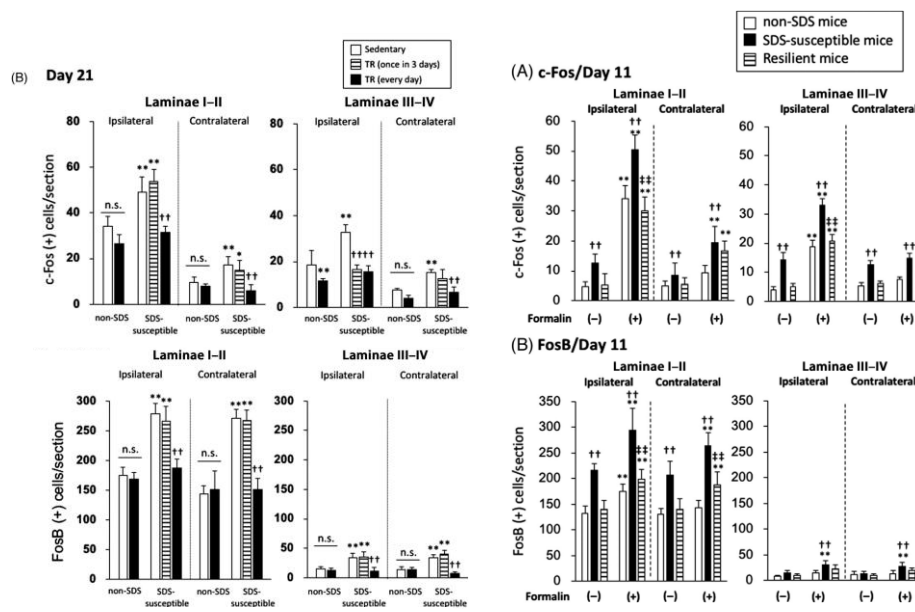


図5 SDS が C1/C2 の興奮性に及ぼす影響

図6 身体的運動が C1/C2 の興奮性に及ぼす影響

3) ストレス伝染が不安行動と咬筋ホルマリン誘発性の疼痛関連行動に及ぼす影響

ストレス (SDS) 群およびストレス伝染群では、SI test における Interaction zone 滞在時間の短縮、DL test における明室滞在時間の短縮、OF test における center zone 滞在時間および移動距離の現象、EPM test における open arm 滞在時間の短縮がみられ、非ストレス群と比較して有意な不安行動の増大をみとめた (図7)。

咬筋ホルマリン誘発性の疼痛関連行動時間は、ストレス群、ストレス伝染群、非ストレス群の3群において、図8Aに示すように二相性のパターンを示した。各 phase での比較では、ストレス群とストレス伝染群において、非ストレス群よりもLate phase が有意に延長した (図8B)。非ホルマリン刺激では、ストレス群、ストレス伝染群、非ストレス群との間で疼痛関連行動時間に有意な差はみられなかった。

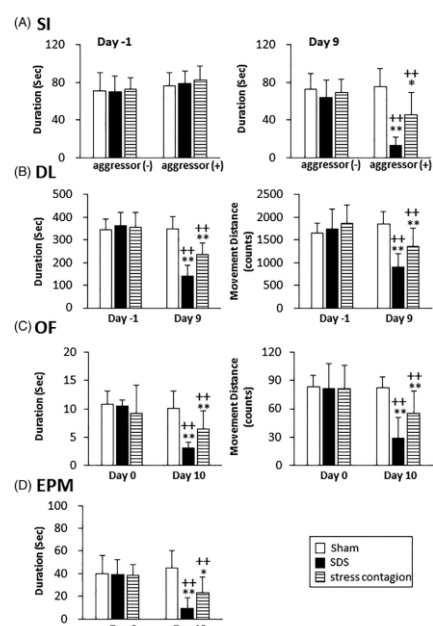


図7 ストレス伝染が不安行動に及ぼす影響

4) ストレス伝染が咬筋ホルマリン誘発性の咬筋侵害受容に及ぼす影響 (図9, 10)

咬筋ホルマリン刺激後の咬筋侵害応答を免疫組織化学的に定量した。ストレス伝染群では、上部頸髄 (C1/C2) における c-Fos および FosB 免疫反応性の増大、LPGi および RVM での c-Fos の発現の増大がみられた。また、ストレス伝染群で、RVM の 5HT レベルが上昇し、LPGi で 5HT 陽性細胞数が増加した。また、ストレス伝染は前帯状皮質と島皮質における c-Fos と FosB の発現を増大させ、これらは口腔炎症性疼痛様行動と正の相関を示した。脳由来神経栄養因子 (BDNF) のレベルは、ストレス伝染下で島皮質において増加した。これらの結果から、ストレス群でみられたように、ストレス伝染が脳内の神経変化を引き起こし結果、咬筋の侵害受容が亢進する可能性が示唆された。

上記の研究成果を、

- 1) DOI: 10.1111/eos.12882 PMID: 35842906
- 2) DOI: 10.1111/eos.12942 PMID: 37377104 に公表した。

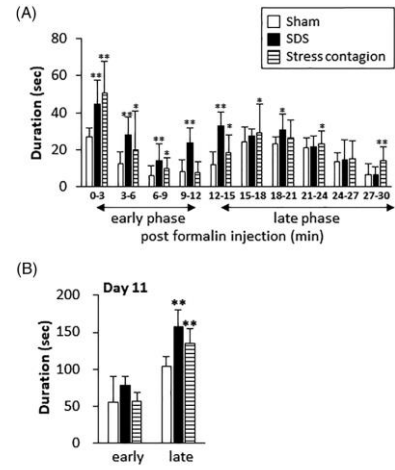


図8 ストレス伝染が疼痛関連行動に及ぼす影響

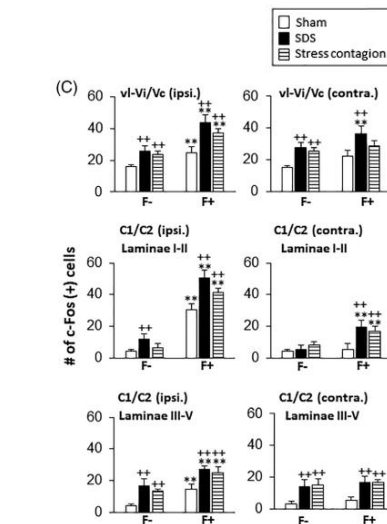


図9 ストレス伝染が C1/C2 の興奮性に及ぼす影響

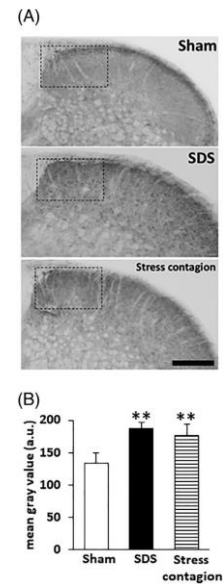


図10 ストレス伝染が C1/C2 の 5HT レベルに及ぼす影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hasegawa M, Piriyastrasath K, Otake M, Kamimura R, Saito I, Fujii N, Yamamura K, Okamoto K	4. 巻 130
2. 論文標題 Effect of daily treadmill running exercise on masseter muscle nociception associated with social defeat stress in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Eur J Oral Sci	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/eos.12882	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Okamoto Keiichiro, Hasegawa Mana, Piriyastrasath Kajita, Kakiyama Yoshito, Saeki Makio, Yamamura Kensuke	4. 巻 57
2. 論文標題 Preclinical models of deep craniofacial nociception and temporomandibular disorder pain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Dental Science Review	6. 最初と最後の頁 231 ~ 241
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdsr.2021.10.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Piriyastrasath Kajita, Hasegawa Mana, Kakiyama Yoshito, Iwamoto Yuya, Kamimura Rantaro, Saito Isao, Fujii Noritaka, Yamamura Kensuke, Okamoto Keiichiro	4. 巻 131
2. 論文標題 Effects of stress contagion on anxiogenic and orofacial inflammatory pain like behaviors with brain activation in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Oral Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/eos.12942	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Piriyastrasath Kajita, Kakiyama Yoshito, Kurahashi Atsushi, Taiyoshi Mayumi, Kodaira Kazuya, Aihara Kotaro, Hasegawa Mana, Yamamura Kensuke, Okamoto Keiichiro	4. 巻 15
2. 論文標題 Preventive Roles of Rice-koji Extracts and Ergothioneine on Anxiety- and Pain-like Responses under Psychophysical Stress Conditions in Male Mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 3989 ~ 3989
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu15183989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kajita Piriyaprasath, Mana Hasegawa, Noritaka Fujii, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto
2. 発表標題 Effects of the contagion of social defeat stress on masseter muscle nociception in male mice
3. 学会等名 第100回生理学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長谷川真奈, 藤井規孝, 山村健介
2. 発表標題 トレッドミル走は、社会的敗北ストレスによって増大した上部頸髄におけるミクログリア活性を低下させる
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kajita Piriyaprasath, Yuya Iwamoto, Mana hasegawa, Yoshihito Kakihara, Noritaka Fujii, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto
2. 発表標題 Effects of Rice-koji extracts and ergothioneine on anxiety- and pain-like responses under psychophysical stress conditions in mice
3. 学会等名 第101回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長谷川 真奈, 岡本 圭一郎
2. 発表標題 ストレス伝染による咬筋侵害応答の増大と下行性疼痛制御系の変調について
3. 学会等名 第28回日本口腔顔面痛学会総会・学術大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

長谷川真奈, 岡本圭一郎, Piriyaprasath Kajita, 藤井規孝, 山村健介: エクササイズは顎顔面部の慢性痛を軽減する? 歯界展望, 140(2): 217-220, 2022.

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------