

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H06817

研究課題名(和文) ストレスによる内因性疼痛制御機構の変調のメカニズム

研究課題名(英文) The effect of psychological stress on endogenous pain modulatory systems.

研究代表者

長谷川 真奈 (Mana, Hasegawa)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：90779620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：ストレスが慢性疼痛の危険因子であることは広く知られており、歯科的疾患である顎関節症の主症状である顎顔面部の慢性疼痛も例外ではない。本研究では、ストレス状態が内因性疼痛制御機構に及ぼす影響を明らかにするため、侵害刺激に対する吻側延髄腹内側部(RVM)ニューロンの応答性から、その神経科学的特性について検討した。その結果、RVMには侵害刺激に対して活動様式の異なるON、OFF、NEUTRAL cellが存在し、ストレス状態では侵害刺激受容時のON cellの活動量の増加が認められた。以上より、慢性的ストレス状態での顎顔面痛の亢進には、RVMニューロンの可塑的な変調が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：It is well documented that psychological stress is a risk factor for chronic pain and this is the case for chronic orofacial pain conditions like TMD. The basis for chronic stress-induced pain is not fully understood, but evidence indicated that changes in neural activity in the rostral ventromedial medulla (RVM), a critical area for descending pain controls to regulate nociception, could contribute to induce orofacial pain. We have determined the neural properties in the RVM. Our results revealed that 1) three types of neurons, so-called, On-, Off- and Neutral-cells were identified in the RVM, 2) psychophysical stress significantly altered excitability of On-cell in response to noxious stimulation to the facial skin. These findings supported our hypothesis that increases in orofacial pain under chronic stress conditions could be due to the neural plasticity in the RVM.

研究分野：神経生理学

キーワード：痛み ストレス 顎関節症 RVM ニューロン ラット

1. 研究開始当初の背景

ストレス状態が痛みの増大における危険因子であることは広く知られ、歯科的疾患である **Temporomandibular joint Disorders (TMD)** の主症状である顎顔面部の慢性疼痛も例外ではない。TMD 患者では疼痛部位での著明な病的所見が見られないこと、末梢指向性の治療効果に乏しい一方、抗うつ剤等の中枢指向性の薬剤の効果が示されていること、脳の各部位での形態的变化が示されていること、顎顔面領域以外での疼痛反応の増強が見られることから、疼痛の発生のメカニズムとして中枢神経系の関与が示されている。よって本疼痛の機序の解明と制御には中枢神経系の機能の理解が重要である。

基礎的立場による TMD の疼痛機構の解明は、主に一次知覚ニューロンである三叉神経節および三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) を対象に発展してきた。後者 (Vc) は顎関節の入力を受ける最初の中枢神経組織であるが、上位脳からの下行性の制御を受ける部位でもあり、疼痛情報処理において重要な部位である。申請者の所属する分野の岡本は Vc 部に存在する顎関節応答性の神経細胞の興奮性はストレスにより増大することを示し、顎関節疼痛における同部の重要性を明らかにした (岡本ら、*Pain* 154:1057-2013)。TMD 患者では内因性疼痛制御機構の変調が臨床研究により示される一方、Vc 部の興奮はこの制御機構により調節される。つまり内因性疼痛制御機構の変調が TMD における疼痛の増大に深く関与する。脳幹部に位置する吻側延髄腹内側部 (RVM) は内因性疼痛制御機構を担う部位である。RVM は Vc 部にセロトニン性 (5HT) 等の下行性線維を送り、Vc 部の興奮性を調節する。従来、RVM の下行性出力が Vc 部の興奮を抑制し、疼痛反応を低下させることから、疼痛抑制系としての役割が強調されてきた。ところが疼痛の強度、持続期間などの状況の変化に伴い、RVM の役割が疼痛の“抑制”から“促進”に“スイッチする”事実が明らかになった。その脳神経学的基盤として RVM の神経細胞機能の可塑的变化が有力な仮説として多くの研究により支持されている。例えばストレス状態での後肢の疼痛応答の増大は RVM の機能変化によるという科学的根拠が示された (井辺、岡本ら、*Pain* 112, 361-, 2004, *Brain Res* 1329,103-,2010)。最近、顎関節応答性の RVM ニューロンの電気生理学的性質が報告されたが (岡本ら、*J Neurophysiol.*113, 14, 2015)、ストレス状態での顎関節痛の増大を RVM の神経細胞の性質の変調という点から追求した研究は見られない。以上の背景を元に、本研究計画では仮説を「ストレスによる顎関節痛の増強が RVM のニューロンの可塑的变化に起因する」とし、疼痛反応に対するストレス効果を RVM ニューロンの興奮性を指標に検討することとした。

2. 研究の目的

TMD の慢性疼痛のメカニズムの基礎的解明は、主に三叉神経脊髄路核尾側亜核部 (Vc) の興奮性を指標に行なわれ、多くの知見がもたらされた。TMD 痛における Vc 部の重要性に異論はない。一方、近年、画像検査など多くの手法により TMD 患者の疼痛機構について、Vc 部より上位脳の重要性が示されるようになった。抗うつ薬、行動療法など中枢神経機能の調節を対象とした治療の有効性が報告される現状からも、TMD 痛の脳神経機構の対象部位としての上位脳の役割の検討は、疼痛機構の解明につながる重要なアプローチである。さらに Vc 部と比べ、より複雑な機能を有する上位脳の機能の追求のスタートとして、確立された手技を用いる本研究プランは、精度の高い実験結果を得ることが可能となるだけでなく、今後、本研究を発展させるに際し重要な根拠となる。本研究はストレス状態での顎関節疼痛刺激による RVM の神経興奮を定量化し、その役割を追求する。得られる結果は RVM の神経興奮の変調という点でストレスと痛みをリンクさせる意義のある所見となり、今後の中枢神経指向性の治療薬の開発をふまえ、有用な科学的根拠をもたらすことにつながると考えた。加えて歯科臨床で遭遇頻度の高い TMD の疼痛機構の追求は、歯科的な立場から脳神経機能を提唱しうる医学生物学的意義と可能性を持つ。

3. 研究の方法

1) 使用動物

口腔顔面痛患者は女性に多いが、ストレス処置を受けたラットにおける顎関節疼痛応答には性差を認めなかったことから (岡本ら *Pain* 154, 1057- 2013)、本研究ではオスのラットを用いた。

2) ストレスモデルの作成

ストレス環境は繰り返し強制水泳ストレスモデル (Porsolt ら、*Nature*, 1977) によって創出した。本モデルはうつ様状態を起こすが、同時に四肢 (井辺、岡本ら、*Brain Res* 1329, 103-, 2010) や顎関節での (岡本ら *Eur J Neurosci.* 36; 2025-, 2012) 疼痛反応の増大も示されている。ストレス処置は 10 分間/1 日を 3 日間施行し、これをストレス群とし、特にストレスを与えずに飼育した群 (非ストレス群) と実験結果を比較した。

3) 吻側延髄腹内側部 (RVM) での単一神経細胞記録

ストレス群と非ストレス群の動物を用いて、イソフルラン全身麻酔下で該当部位の骨に電極を刺入用の穴を開け、RVM 相当部に微小電極を入れ、上下方向に電極を微動させながら、尻尾へのピンセットによるつまみ動作に応答する神経細胞を同定した。この際、対象としたのは、1:ON Cell つまみ動作に対して応答する神経細胞 2: OFF Cell 持続的な

活動を有しているが、つまみ動作を受けることで抑制される神経細胞 3: Neutral Cell
つまみ動作に対して反応しないの3種類の神経細胞である(図1)。

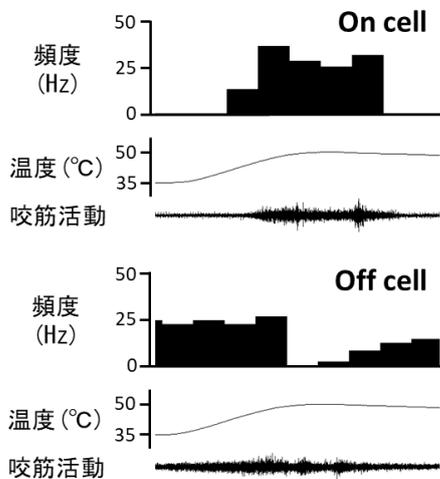


図1 ラット咬筋刺激時のRVMニューロンの活動の例

4) 疼痛刺激

ストレスおよび非ストレス両群の動物に対し、尻尾・後肢・前肢および咬筋相当部皮膚へのピンセットによるつまみ動作、後肢・咬筋相当部皮膚への温冷刺激装置 (Medoc社)を介した50度の熱刺激を30秒間行い、それぞれの応答性を記録し、その活動量や活動を開始する温度を両群間で比較した。実験の目的は顎口腔領域への疼痛刺激によるRVMの興奮性の変化を記録することであるが、RVMニューロンは四肢領域と顎口腔系すなわち三叉神経支配領域とで疼痛刺激に対する反応性が異なることが多いため、四肢領域と三叉神経支配領域の両部位への疼痛刺激を行い、RVMニューロンの特性を比較した。また、細胞外記録と同時に舌骨上筋および咬筋の筋電図記録を行った(図2)。

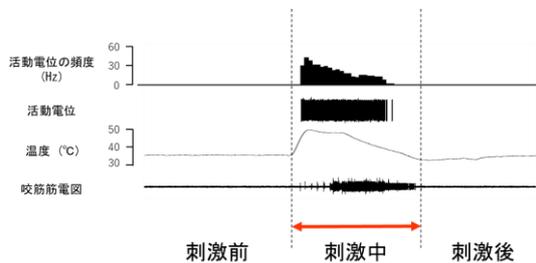


図2 顔面皮膚への侵害性熱刺激時の記録の一例

4. 研究成果

1) 吻側延髄腹内側部 (RVM) での単一神経細胞記録

後肢への熱刺激に対する電気生理学的な

応答性の違いよりRVMニューロンを分類したところ、それぞれの割合はON cell: 29.4%、OFF cell: 21.5%、NEUTRAL cell: 49.0%であった(図3)。続いて同一のニューロンについて、顔面皮膚刺激への応答性により分類をしたところ、ON cell: 31.4%、OFF cell: 39.2%、NEUTRAL cell: 29.4%であった(図4)。顔面皮膚刺激群は後肢刺激群と比較し、OFF cellの割合が増加し、NEUTRAL cellの割合が減少した。

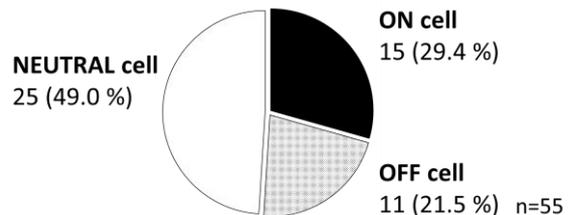


図3 後肢刺激時のRVMニューロンの分類

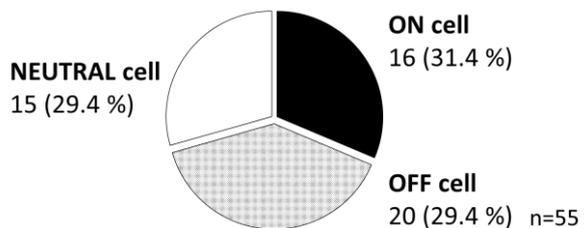
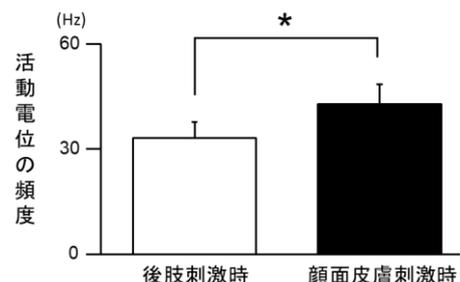
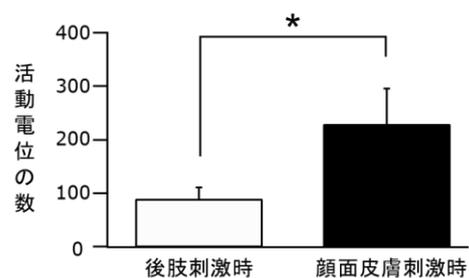


図4 顔面皮膚刺激時のRVMニューロンの分類

また、ON cellの割合は後肢刺激群と顔面皮膚刺激群とで同程度であったが、顔面皮膚刺激群の熱刺激に対するRVMニューロンの興奮性(活動電位の発火数、活動電位の頻度、活動電位発生の温度閾値)は後肢刺激群と比較して増大した(図4)。



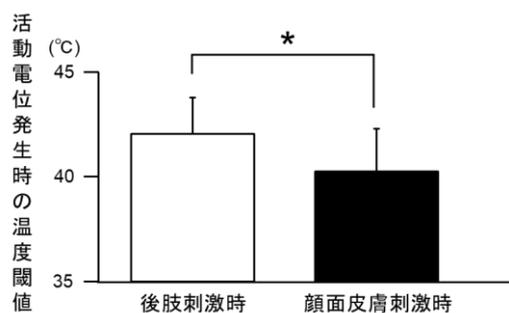


図5 侵害性熱刺激の部位による ON cell の興奮性の比較

以上より、脊髄支配領域と三叉神経支配領域では、侵害刺激に対する RVM ニューロンの応答性が異なり、このことから、内因性疼痛制御機構の役割が侵害刺激を受容する部位依存性であることが示唆された。

2) 強制水泳ストレスが RVM ニューロンの活動性に及ぼす影響

強制水泳は受動的ストレス対処行動の指標である無動時間を優位に増加させた。

また、非ストレス群への侵害性熱刺激は温度変化に伴う ON cell の一過性の活動性の増加を誘発した。それに対し、ストレス群では、温度刺激にともなう活動性の増加に加えて、増加した神経活動が刺激終了後も持続した(図6)。

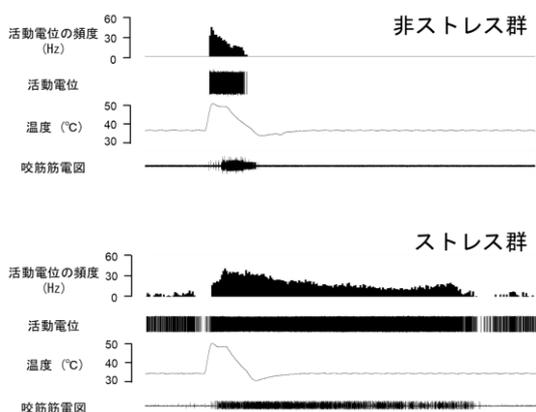


図6 ストレス群・非ストレス群における 顔面皮膚刺激時に対する応答性

侵害性熱刺激中の筋電図反応量および神経活動量は、ストレス群と非ストレス群とで有意差を認めなかった。刺激開始からそれぞれ 30 秒後(刺激開始から終了まで)、60 秒後(刺激開始から終了後さらに 30 秒) 120 秒後(刺激開始から終了後さらに 90 秒後)までの筋電図反応量と神経活動量を比較したところ、非ストレス群では刺激中(30 秒後)と刺激後(60 秒後・120 秒後)で有意差を認めなかったのに対し、ストレス群では 60 秒後、120 秒後と時間の経過に伴い筋電図反応量、神経活動量ともに有意な増加を認めた(図7)。

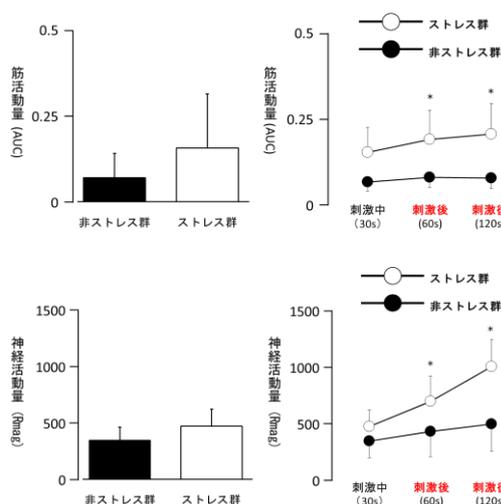


図7 侵害性熱刺激中および刺激後の筋活動量と神経活動量の変化

以上の結果より、情動ストレスは顎顔面領域の侵害刺激に対する反応を増強させ、その増強には下行性疼痛調節系、特に RVM ニューロンのうち ON cell の可塑性の変化が関連していることが示唆された。

3) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクトおよび今後の展望

RVM に存在するニューロンの中には、侵害刺激を受容する部位、すなわち脊髄支配領域(四肢・体幹)と、三叉神経支配領域(頭部・口腔顔面)とで、その応答性が変化するものが存在することが明らかとなり、過去の報告とも矛盾のない結果となった。

また、ストレス状態では顎顔面領域の疼痛応答増大とともに、RVM ニューロンの活動量の増大と活動の延長が認められた。これは、ストレス状態での顎関節痛の増大のメカニズムの原因のひとつが、RVM ニューロンの、特に ON cell の可塑性の変化による内因性疼痛制御機構の変調であることを示唆しており、新しい知見である。

今後は抗うつ剤として知られているセロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)等の薬剤投与が、ストレス状態下での疼痛応答や RVM ニューロンの応答性に及ぼす影響について検討する予定である。

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 3 件)

- ① Hasegawa M, Kurose M, Okamoto K, Yamada Y, Tsujimura T, Inoue M, Sato T, Narumi T, Fujii N, Yamamura K: Differential Response Pattern of Oropharyngeal Pressure by Bolus and Dry Swallows. Dysphagia 査読有 33(1):83-90, 2018.

- ② Sakuma T, Kurose M, Okamoto K, Hasegawa M, Fujii N, Nakatani Y, Takagi R, Sato T, Kodama Y, Ominato R, Yamamura K, Yamada Y: Use of a Novel Device to Assess Intraoral and Intraplaryngeal Baropressure during Sound Production. *Folia Phoniatr Logop* 査読有 2016 68(6): 274-281, 2017.
- ③ Kurose M, Imbe H, Nakatani Y, Hasegawa M, Fujii N, Takagi R, Yamamura K, Senba E, Okamoto K: Bilateral increases in ERK activation at the spinomedullary junction region by acute masseter muscle injury during temporomandibular joint inflammation in the rats. *Exp Brain res* 査読有 235(3): 913-921, 2017.
- [学会発表] (計 13 件)
- ① Hasegawa M, Kurose M, Okamoto K, Shimizu S, Nakatani Y, Yamamura K, Fujii N: Comparison of neural activity in rostral ventromedial medulla induced by noxious stimulation to trigeminal and spinal regions. International Symposium on Development of Human Resources in Practical Oral Health and Treatment, Jakarta, February 11, 2018.
- ② Nakatani Y, Okamoto K, Kurose M, Hasegawa M, Fujii N, Takagi R, Yamamura K: Effect of repeated and acute psychophysical stress on masseter muscle nociception in the trigeminal subnucleus caudalis region of the rats. 第 95 回日本生理学会大会, 高松, 2018 年 3 月 28-30 日, 第 95 回日本生理学会大会プログラム・抄録集, 2018.
- ③ 長谷川真奈, 黒瀬雅之, 岡本圭一郎, 渡辺啓介, 新井啓介, 佐藤秋彦, 家亀里佳, 山村健介, 山田好秋: 多チャンネル容量性触圧センサを用いた頬粘膜の咀嚼時接触面圧測定. 日本咀嚼学会第 28 回学術大会, 東京, 2017 年 9 月 22-24 日, 日本咀嚼学会雑誌 27(2)115, 2017.
- ④ 中谷暢佑, 黒瀬雅之, 清水志保, 柿原嘉人, 木口哲郎, 長谷川真奈, 佐伯万騎男, 高木律男, 山村健介, 岡本圭一郎: セロトニン再取り込み阻害薬は繰り返シストレスによる咬筋の侵害受容反応の増強を抑制する. 第 59 回 歯科基礎医学会学術大会, 塩尻, 2017 年 9 月 16-18 日, *Journal of Oral Biosciences Supplement* 463, 2017.
- ⑤ 岡本圭一郎, 中谷暢佑, 黒瀬雅之, 柿原嘉人, 木口哲郎, 長谷川真奈, 藤井規孝, 佐伯万騎男, 高木律男, 山村健介: 『酒は百薬の長』の根拠を科学的に解明するストレス誘発性の咬筋侵害受容反応に対する日本酒の影響について. 第 59 回 歯科基礎医学会学術大会, 塩尻, 2017 年 9 月 16-18 日, *Journal of Oral Biosciences Supplement* 462, 2017.
- ⑥ 黒瀬雅之, 長谷川真奈, 岡本圭一郎, 清水志保, 中谷暢佑, 藤井規孝, 高木律男, 山田好秋, 山村健介: 顎顔面皮膚および深部組織への侵害刺激がもたらす吻側延髄腹側部ニューロンの応答特性. 第 59 回 歯科基礎医学会学術大会, 塩尻, 2017 年 9 月 16-18 日, *Journal of Oral Biosciences Supplement* 456, 2017.
- ⑦ 長谷川真奈, 黒瀬雅之, 岡本圭一郎, 清水志保, 中谷暢佑, 山村健介, 藤井規孝, 高木律男, 山田好秋: 多チャンネル容量性触圧センサを用いた咀嚼時の頬粘膜による接触面圧測定. 第 59 回 歯科基礎医学会学術大会, 塩尻, 2017 年 9 月 16-18 日, *Journal of Oral Biosciences Supplement* 297, 2017.
- ⑧ Yosuke Nakatani, Keiichiro Okamoto, Masayuki Kurose, Mana Hasegawa, Noritaka Fujii, Ritsuo Takagi, Kensuke Yamamura: Effect of repeated and acute psychophysical stress on masseter muscle nociception in the trigeminal subnucleus caudalis region of the rats. 第 94 回日本生理学会大会, 浜松, 2017 年 3 月 28-30 日.
- ⑨ 長谷川真奈, 山田好秋, 黒瀬雅之, 岡本圭一郎, 山村健介: 大気圧センサを用いた健常者の嚥下時咽頭内圧変化の測定. 日本咀嚼学会第 27 回学術大会, 広島, 2016 年 11 月 4-6 日.
- ⑩ Mana Hasegawa, Keiichiro Okamoto, Masayuki Kurose, Takanori Tsujimura, Makoto Inoue, Noritaka Fujii, Yoshiaki Yamada, Kensuke Yamamura: Measurements of Pharyngeal Barometric Pressure During Swallowing in the Healthy Subjects: 第 22 回日本摂食嚥下リハビリテーション学会学術大会, 新潟, 2016 年 9 月 23-24 日.
- ⑪ 長谷川真奈, 岡本圭一郎, 黒瀬雅之, 山田好秋, 藤井規孝, 山村健介: 大気圧センサを用いた咽頭内圧測定システムによる嚥下機能の評価. 第 58 回歯科基礎医学会学術大会, 札幌, 2016 年 8 月 24-26 日.

- ⑫ 黒瀬雅之, 岡本圭一郎, 長谷川真奈, 中谷暢佑, 藤井規孝, 山田好秋, 佐藤義英, 山村健介, 増田 裕次: 口唇随意運動時の脳活動の変化 fNIRS による分析. 第 58 回歯科基礎医学会学術大会, 札幌, 2016 年 8 月 24-26 日.
- ⑬ 岡本圭一郎, 黒瀬雅之, 中谷暢佑, 長谷川真奈, 藤井規孝, 高木律夫, 山村健介: 持続性の顎関節炎が両側性の咬筋に痛覚過敏を引き起こす中枢メカニズム. 第 58 回歯科基礎医学会学術大会, 札幌, 2016 年 8 月 24-26 日.

[その他]

ホームページ等

新潟大学医歯学総合研究科 口腔生理学分野 ホームページ

<http://www.dent.niigata-u.ac.jp/physio/physio.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 真奈 (HASEGAWA, Mana)
新潟大学・医歯学総合病院・医員
研究者番号: 90779620