

令和元年6月21日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11679

研究課題名(和文) ストレスが顎関節痛を増強させる脳神経メカニズム

研究課題名(英文) Neural basis for increases in TMJ nociception under stress conditions

研究代表者

岡本 圭一郎 (Keiichiro, Okamoto)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：50382338

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：心理ストレスは歯科領域での痛みを増大させる。本課題ではストレスが咬筋の痛みを増大させる生体機構を、脳神経系の機能変化と想定し、基礎的に解明した。三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)に着目した。これまでの研究によってVc部は顎顔面部の痛みの応答を制御する部位であることが解明されているからである。繰り返しストレス処置を加えると、咬筋への侵害刺激によるVcの興奮性は有意に増大することが明らかになった。さらに選択的セロトニン再取り込み阻害剤を繰り返し投与するとストレスによるVcの興奮性の増大は低下することがわかった。つまりストレスによるセロトニン機構の変調が咬筋の痛みを増大させることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレスが持続するとしばしば痛みが発生したり、増大したりする。一方、人が社会生活を営む上で心理ストレスは不可避である。本研究はストレスが痛みを増大させる事実を歯科的な痛みモデルで示した上で、抗うつ薬として広く使われている、セロトニン再取り込み阻害剤の投与が、ストレスによる痛みを軽減させることを明らかにした。つまりストレス制御こそが痛みのコントロールに重要であり、ストレスによる脳内セロトニン機構の変調の改善が、痛みの軽減に重要であることを示すものである。ストレスが日常的な存在である以上、生活習慣の中でセロトニン機構を調整することが生活の質を向上させる上で重要になる。

研究成果の概要(英文)：Psychological stress can increase orofacial nociception. We determined the basis for enhancement of orofacial nociception in the trigeminal subnucleus caudalis (Vc) under repeated stress conditions using the rat model. Repeated forced swim stress had facilitatory effects on nociceptive neural responses in the Vc region, suggesting that increases in orofacial pain responses could be due to the enhancement of neural excitability in the Vc region. We determined the effects of repeated administration of selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) on nociceptive neural activities in the Vc region in response to MM injury with formalin. Results revealed that SSRI could significantly inhibit enhanced neural activities in the Vc region under stress conditions. These results indicated that dysfunction of serotonergic mechanisms could contribute to the increases in masseter muscle nociception after repeated psychophysical stress conditions.

研究分野：痛み

キーワード：口腔顔面痛 ストレス 咬筋 ラット 三叉神経 三叉神経脊髄路核尾側亜核 侵害応答 うつ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性疼痛は生体内外の環境の変化に修飾される。そしてそのメカニズムが多様であるため臨床対応を困難にさせている。ストレスは身体的・精神的不調だけでなく疼痛の増大に関わることが示されている。そして顎顔面部の慢性疼痛を主症状とする **Temporomandibular joint Disorders (TMD)** も例外ではない。**TMD** での難治性疼痛の研究は臨床的立場から発展し、申請者らの基礎的研究成果等により、以下のような疼痛メカニズムが明らかにされて来た。**1)** 疼痛の主座が中枢神経系に存在すること、**2)** 下行性疼痛制御機構の変調をみること、**3)** 疼痛応答に自律神経機能の変化が関わること、などである。近年、**TMD** の診断では器質的因子に加えストレスなど、心理的因子の評価の重要性が挙げられている。申請者はこの観点から顎関節痛と心理ストレスの関係を研究してきた。そしてストレスが顎関節痛を増強させる事実を示した。しかしその基盤となる脳神経機構は不明である。本研究では**三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)**の興奮性を指標に、ストレスが痛みを増強させるメカニズムを実験動物(ラット)を用い追求することにした。何故、**Vc**なのか？**Vc**は顎関節部の疼痛情報が入力される最初の中枢神経である。同時に上位脳からの入力を受け、疼痛情報を調節する部位でもあり、又神経脊髄路核尾側亜核の興奮性の変調が痛みの原因であること、などによる。申請者はこれまで、ラットの**Vc**が顎顔面部の疼痛の危険因子である女性ホルモンやストレス感受性を持ち、その疼痛増強への関与を示した。本研究では**Vc**部のニューロンの興奮性を定量し、侵害応答の指標とすることで、ストレス誘発性の顎顔面痛の脳機構を検索することとした。そして**Vc**の興奮性が脳内のいずれの部位によって制御されているのかを検討すべく、以下**A-C)**の3箇所に着目した。

A)迷走神経：痛みやストレスは迷走神経刺激によって軽減される。この所見は**VN**を含む脳回路の痛みやストレス応答への関与を示唆する。迷走神経刺激による顎顔面痛の低下は示されているが、ストレス状態で迷走神経と疼痛反応の関係を明らかにした研究は見られない。

B)孤束核：自律神経機能を制御する孤束核は迷走神経由来の神経情報の入力部である。よって迷走神経刺激による疼痛やストレス応答には孤束核が関与する。孤束核の興奮は疼痛応答を抑制させるが、青斑核への出力はノルアドレナリン性の下行性疼痛制御機構への関与を推測させる。本研究ではストレスによる顎関節痛の増強機構における孤束核の役割を明らかにする。

C) 青斑核：孤束核からの入力を受け、**Vc**部へのノルアドレナリン性の下行性投射の出力部であり、**Vc**部の α_2 受容体を介し疼痛反応を抑制させる事が知られる。申請者は以前、慢性ストレスが青斑核の機能を変調させ、疼痛反応を増強させる事実を示した。しかしストレスによる迷走神経～孤束核の興奮と、その変調を経た結果としての青斑核の役割と疼痛機構の関連を明らかにした研究は見られない。以上の背景を元に本申請の仮説を以下のように設定する。『ストレス時、自律神経機能に関与する迷走神経/孤束核/青斑核を含む脳神経回路の変調が**Vc**部の興奮を経て、顎関節の疼痛増強に関与する』。

2. 研究の目的

持続性の心理的ストレスは疼痛反応を増強させることが示されている。申請者はこれまで顎関節痛モデルを用いストレスによる顎関節痛の増強は、**Vc**部の興奮性の増大に起因することを探求してきた。一般にストレスは自律神経機能に変調をもたらす一方、ストレス応答に関わる多くの脳内部位は疼痛制御にも関与することが知られる。本研究の目的は従来、注目度の低かったストレスによる植物機能回路の変調という視点から、ストレスと疼痛応答を統合する迷走神経、孤束核、青斑核を含む脳神経回路に焦点をあて、**Vc**部や咀嚼筋の興奮性を指標に、顎関節痛の増強の理由を明らかにする事である。本研究により自律神経機能の変調を伴うストレス状態での疼痛増大のメカニズムと疼痛治療の選択および開発に向けた科学的基盤を提示すること

が可能となる。

3. 研究の方法

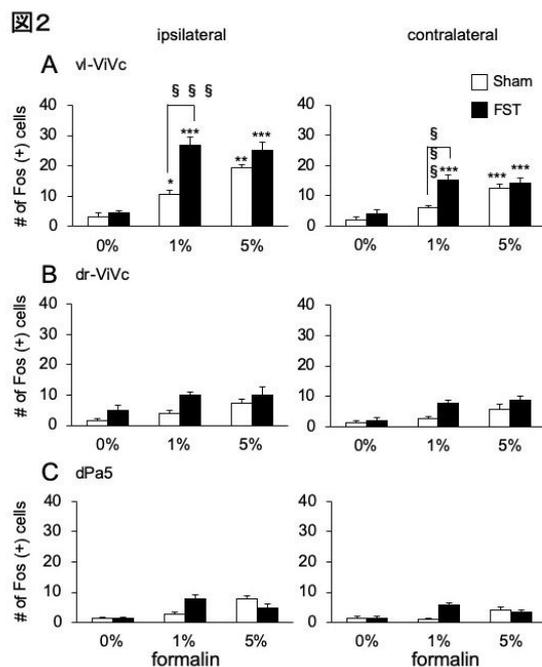
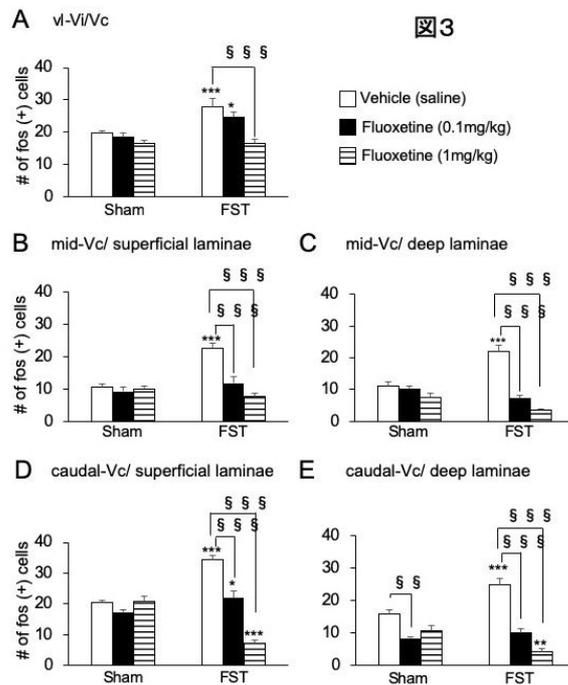
当初、予備実験を繰り返す中で、予定から研究の方向性を変更せざるを得ない部分が多くなっていった。以下にその概要を2点説明する。ラットを実験モデルとして疼痛とストレスに関する各脳神経部位の役割をストレス、非ストレス状態で比較する。ホルマリンの咬筋注入によって引き起こされる Vc 部の顎関節応答性ニューロンの興奮性と咀嚼筋活動の変化を咬筋痛（侵害受容）の指標とする。1）実験を開始する上で、疼痛刺激の対象部位を顎関節から咬筋に変更した。なぜならいわゆる **TMD pain** 状態における主たる痛みの部位は咬筋など咀嚼筋であるからである。2）当初、ノルアドレナリン系の脳メカニズムの探求を考慮していたが、予備実験によりストレスの有無にかかわらず青斑核の侵害応答への関与が見られた。この段階で本実験系ではノルアドレナリン系を軸とする下行性疼痛制御機構の役割は、予想より低いと判断し、研究の方向性をノルアドレナリン-青斑核系からセロトニン-大縫線核系にスイッチした。主たる実験は以下の通りである。1：ストレスが咬筋侵害応答に与える影響。2：ストレス誘発性の咬筋侵害応答の増大に対するセロトニン機構の関与である。その第一歩として選択的セロトニン再取り込み阻害薬によるストレス制御効果が咬筋侵害応答におよぼす影響について、

Vc 部の興奮性を指標に検討することとした。当初、ATP を用いた顎関節侵害応答の定量を予定していたが、予想に反し、

三叉神経脊髄路核尾側亜核の Lamina 5 における興奮性が芳しくなかったためホルマリンを用いた刺激を実施した。本研究系はまずは形態学的なアプローチから開始した。慢性ストレス状態における口腔顔面痛の増大をモデルラットを用い脳神経科学的に明らかにした。ストレス処置として繰り返し強制水泳ストレスを3日間行った。4日目、咬筋侵害応答を定量した。応答は神経興奮のマーカである Fos タンパクの発現を指標とした。咬筋へはホルマリン刺激を行なった。

4. 研究成果

繰り返しストレスは1）繰り返しストレスは強制水泳ストレス処置時の非水泳時間を有意に延長させた（図1）；2）三叉神経脊髄路核尾側亜核（以下、Vc）での Fos 陽性細胞数



を増加させた(図2)。Vc領域を区分しFos発現を定量した。Vcと頸髄の移行部では浅層、深層のいずれもFos細胞の増加を認めた。これらのストレス効果はホルマリン刺激側だけでなく反対側でも観察された。さらにVcと三叉脊髄路核中間亜核の移行部(ViVc)でのFos発現を定量した。ViVc部でもFos陽性細胞数の増加が確認された。ストレスは、Vc領域での侵害応答を増大させ、結果として痛みを増大させることを示唆する。さらに従来、咬筋など顎顔面部の侵害応答は、ViVcを興奮させるが環境の変化の影響を受けにくい。しかしこのストレス状態ではViVc部で興奮性の増大が認められた。つまりViVc部はストレス誘発性の咬筋侵害応答に積極的に関与していると思われる。次に以上の侵害応答の増大の生体基盤を検討した。選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)は抗うつ効果を示すが、SSRIの繰り返し投与による、うつ行動、増大した咬筋侵害応答の調節に関与するかを検討した(図3)。SSRIの繰り返し投与は、うつ様行動の低下を示した。またストレス処置によって増大したVc部の侵害応答の増幅は、SSRI投与によって低下することが明らかになった(右図参照)。以上の結果より、繰り返し強制ストレスは咬筋侵害応答を増大させるが、その機構はセロトニン機構の変調によることが示唆された。本研究成果は、以下の業績2)において公表された。

(関連する新しい成果)

上述した実験系とほぼ同じ系を用い、ストレス誘発性の咬筋侵害応答の増大にかかる、日本酒の影響についても検討した。結果、日本酒の投与はストレスにともなうVc領域におけるFos応答の増大を抑制することが明らかとなった。本研究成果は、下に示す業績1)において公表した。一方、顎関節部の持続性炎症モデルラットを用い、Vc部での咬筋侵害応答の変化をpERKの発現を指標に検討した。その結果、炎症状態では咬筋誘発性のpERKの発現は、非炎症群に比し、有意に増大すること、さらに一度、炎症状態の持続に伴い(慢性期)咬筋刺激による咬筋疼痛関連行動およびpERKの増加は刺激側に関係なく増大することが明らかとなった。つまり持続性の顎関節痛は、中枢神経系に機能変化をもたらすことが示された(以下、業績4)にて公表)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

- 1) Nakatani Y, Kakiyama Y, Shimizu S, Kurose M, Sato T, Kaneoke M, Saeki M, Takagi R, Yamamura K, Okamoto K: Japanese Rice Wine can reduce psychophysical stress-induced depression-like behaviors and Fos expression in the trigeminal subnucleus caudalis evoked by masseter muscle injury in the rats. **Biosci Biotechnol Biochem** 2018; 83:155-165.
- 2) Nakatani Y, Kurose M, Shimizu S, Hasegawa M, Ikeda N, Yamamura K, Takagi R, Okamoto K: Inhibitory effects of fluoxetine, an antidepressant drug, on masseter muscle nociception at the trigeminal subnucleus caudalis and upper cervical spinal cord regions in a rat model of psychophysical stress. **Experimental Brain Research**. 2018 Aug;236(8):2209-2221.
- 3) Yamamura K, Kurose M, Okamoto K: Guide to Enhancing Swallowing Initiation: Insights from Findings in Healthy Subjects and Dysphagic Patients. **Curr Phys Med Rehabil Rep**. 2018;6(3):178-185.
- 4) 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. **Experimental Brain Research** 235(3) 913-921 2017.

- 5) 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** 33(1) 83-90 2018.

〔学会発表〕(計 14 件)

- 1) 岡本圭一郎 日本酒は百薬の長を科学的に解明する方法. ライスエキスポ 2018 (新潟市) 2018.
- 2) Keiichiro Okamoto. Modulatory effects of psychological stress on descending pain controls. Oral Neuroscience 2018 (大阪) 2018年10月7日
- 3) 岡本圭一郎. ストレスと日本酒. 日本酒学シンポジウム(新潟市) 2018年8月3日
- 4) 岡本圭一郎. 教育講演 顎関節痛を調節する下行性疼痛制御機構. 日本口腔顔面痛学会(北九州市) 2018年7月8日
- 5) 黒瀬雅之、長谷川真奈、清水志保、中谷暢佑、藤井規孝、佐藤義英、山村健介、岡本圭一郎. 反復的な強制水泳がもたらす心理的ストレスは、吻側延髄腹側部(RVM)における顎顔面領域での侵害情報伝達を変調する. 第60回 歯科基礎医学会学術大会 2018.
- 6) Shiho Shimizu, Yosuke Nakatani, Masayuki Kurose, Mana Hasegawa, Nobuyuki Ikeda, Noritaka Fujii, Ritsuo Takagi, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto. Psychophysical Stress Enhances Orofacial Nociception in the Rostral Ventromedial Medulla. IADR 2018 London, UK
- 7) 長谷川真奈, 黒瀬雅之, 岡本圭一郎, 中谷暢佑, 清水志保, 山村健介, 藤井規孝. 三叉神経支配領域への侵害刺激を受容する吻側延髄腹側部ニューロンの電気生理学的特性. 第51回新潟歯学会総会 2018年
- 8) Masayuki Kurose, Mana Hasegawa, Shiho Shimizu, Yosuke Nakatani, Noritaka Fujii, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto Modulatory effect of psychophysical stress on orofacial nociception at the rostral ventromedial medulla in the rats. SFN2018 San Diego, USA, 2018.
- 9) 黒瀬雅之, 長谷川真奈, 岡本圭一郎, 中谷暢佑, 清水志保, 藤井規孝, 山村健介 強制水泳ストレスは顎顔面領域における侵害受容を変調する. 第51回新潟歯学会総会 2018年 新潟歯学会
- 10) 渡部清人, 黒瀬雅之, 岡本圭一郎, 山村健介. うまみは減塩につながるか? 塩味応答性の弧束核ニューロンに対するうまみ刺激の影響. 日本咀嚼学会第29回学術大会 2018年
- 11) Keiichiro Okamoto, Yosuke Nakatani, Shiho Shimizu, Masayuki Kurose, Yoshito Kakiyama, Ritsuo Takagi, Kensuke Yamamura. Japanese Rice Wine (Sake) reduced enhanced masseter muscle nociception under repeated forced swim stress conditions in rats. 第95回日本生理学会大会 2018年 高松市
- 12) Shiho Shimizu, Yosuke Nakatani, Masayuki Kurose, Kensuke Yamamura, Ritsuo Takagi, Keiichiro Okamoto. Psychophysical stress increases nociceptive neural activities evoked by masseter muscle injury in the rostral ventral medulla (RVM) in rats. 第95回日

本生理学会大会 2018年 高松市

13) Keiichiro Okamoto, Yosuke Nakatani, Shiho Shimizu, Masayuki Kurose, Yoshito Kakiyama, Makio Saeki, Ritsuo Takagi, Kensuke Yamamura. Japanese Rice Wine, Sake, inhibits Stress-Induced Jaw Muscle Nociception. IADR 2018 London, UK.

14) 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

〔図書〕(計1件)

1. 口腔顔面痛の診断と治療

岡本圭一郎

医歯薬出版 2017年9月

〔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:

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:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等: <http://www.dent.niigata-u.ac.jp/physio/physio.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 黒瀬 雅之

ローマ字氏名: **Masayuki Kurose**

所属研究機関名: 新潟大学大学院

部局名: 医歯学総合研究科口腔生理学分野

職名: 助教

研究者番号(8桁): **40397162**

研究分担者氏名: 山村 健介

ローマ字氏名: **Kensuke Yamamura**

所属研究機関名: 新潟大学大学院

部局名: 医歯学総合研究科口腔生理学分野

職名: 教授

研究者番号(8桁): **90272822**

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 高木 律男

ローマ字氏名: Ritsuo Takagi

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、研究者個人に帰属されます。