

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17164

研究課題名（和文）アロマセラピーによるストレス誘発性咬筋痛改善の脳神経メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the neural basis by which aromatherapy improves stress-induced masseter pain

研究代表者

長谷川 真奈（Hasegawa, Mana）

新潟大学・医歯学系・特任助教

研究者番号：90779620

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：口腔顔面領域のストレス誘発痛は、中枢神経系の可塑的变化に起因することが明らかにされている。本研究では、補完代替療法がストレス誘発性咬筋痛にもたらす効果とその神経機構を三叉神経脊髄路核尾側亜核（Vc）および吻側延髄腹内側部（RVM）の興奮性を指標に明らかにすることを目的とした。介入方法としてアロマセラピーと同じ補完代替療法である運動療法に注目した。繰り返しストレス処置により咬筋の侵害応答およびVcの興奮性が有意に増大したが、トレッドミル走による運動療法によりこれらの応答は低下した。運動療法のストレス誘発痛改善効果は、変調したVcの機能の改善によるものである可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ストレスに伴う疼痛（ストレス誘発痛）はQOLの低下だけでなく社会的生産性をも損なう。一方で、ストレスはヒトが社会生活を営む上で不可避な存在であるため、これを制御するためには日常的で人体に負担の少ない方法でストレスを解消することが望ましい。本課題では、心理社会的ストレスが誘発する顎顔面部の痛みを、補完代替療法の一つである運動療法が改善する効果と、その脳神経メカニズムが変調した三叉神経脊髄路核尾側亜核（Vc）部の機能改善であることが明らかになった。本研究成果は、日常的なストレス解消法である運動療法の有効性とその科学的根拠の一部を歯科的観点から示したものである。

研究成果の概要（英文）：Stress-induced pain in the orofacial region has been shown to be due to plastic changes in the central nervous system. The purpose of this study is to clarify the effect of complementary and alternative therapy on stress-induced masseter pain and its neural mechanism from the excitability of the caudal subnucleus (Vc) and rostral medulla oblongata (RVM) of the trigeminal spinal tract. It is to do. As an intervention method, we focused on exercise therapy, which is the same complementary and alternative therapy as aromatherapy. Repeated stress treatment significantly increased the masseter nociceptive response and Vc excitability, but exercise therapy with treadmill running reduced these responses. It was suggested that the stress-induced pain-improving effect of exercise therapy may be due to the improvement of the modulated Vc function.

研究分野：痛み

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

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含むすべての動物はストレス状態におかれると、しばしば痛みを自覚する。痛みは生体への組織障害という刺激によって発生する不快な情動体験と定義されるが、ストレスという実体の見えない刺激によるものは、この定義には必ずしも当てはまらない。すなわち、外的な物理化学的刺激による末梢侵害受容体の刺激を起点とする体性感覚というより、ストレスによる生体内部環境の変化/変調がもたらす感覚というのが適当であると考えられる。そのため、ストレス誘発痛の原因は内部環境の変化にあり、換言すればストレスによって機能変化をきたした脳機能が痛みのジェネレーターである可能性は非常に高い。したがって、ストレスによる痛みの制御を行うためには変調した脳機能の改善が必要になる。しかし、被ストレス状態のほとんどは治療を必要とする健康障害には至らず、積極的な医療の介入は時期尚早と考えられることが多いため、簡便かつ確実、効果的な対処法が待望されていた。ストレスに伴う疼痛(ストレス誘発痛)はQOLの低下だけでなく社会的生産性をも損なうため、健康生活を維持する上でこれを制御することは非常に重要である。また、歯科領域で見られる慢性疼痛を主症状とする疾患においてもストレスが痛みの増強因子であることが知られている。たとえば、慢性疼痛を主症状とする Temporomandibular joint disorders の診断/治療では、ストレスによる心理因子は、医学生物学的評価と同様に評価されるべきとされており、国際的にも広く実施されている。口腔顔面領域のストレス誘発痛は中枢神経系の可塑的变化に起因することが明らかにされている。申請者らは、これまでにストレス誘発性咬筋痛の脳神経機構の解明に取り組んでおり、ストレスは顎顔面部への侵害刺激による三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)の興奮性を上昇させるだけでなく、脳幹の吻側延髄腹内側部の興奮性を増大させることを、Fos タンパク(神経興奮のマーカー)の発現を指標とした形態学的実験によって明らかにした。内因性疼痛調節機構の主役といえる RVM ニューロンが発する下行性線維は、Vc など侵害受容 2 次ニューロンの興奮性を制御することによって痛みを調節する。すなわち、ストレスに伴う RVM の機能低下、つまり RVM ニューロンの興奮性の上昇または低下が痛みの増大と密接にリンクすると考えられる。アロマ(匂い)セラピーは嗅覚機能に関係する健康増進法で補完的代替医療として生体恒常性機構の促進作用を持つといわれており、特にストレスの軽減効果は広く知られている。多くの場合、ストレスに伴う負の生体応答は脳神経系の機能変化に起因する。なかでも扁桃体はストレスに伴う“負の情動生成”に関わる部位であることから“情動脳”と呼ばれ、疼痛調節にも関係すると考えられている。このため、扁桃体 RVM への下行性投射回路は、負の情動生成(=扁桃体機能不全)が内因性疼痛制御機構を変調させ(=RVM 機能不全) ストレス誘発痛を引き起こすメカニズムであると想定できる。さらに、扁桃体は嗅覚情報の入力を受ける部位としても知られるため、アロマセラピーによる嗅覚刺激は扁桃体を介して RVM の内因性疼痛制御機構に作用し、ストレス誘発痛を軽減すると考えられる。アロマセラピーによる疼痛抑制のメカニズムに関する研究は、RVM を含む高位脳機能解析を中心に行動学的手法でなされている(Ikeda ら, Mol Pain 2014)。しかし、アロマによるストレス誘発痛の軽減効果における RVM 機能の役割を解明した報告はみられない。高齢複雑化する現代社会はさらに良質で人体に負担の少ない医療を求めており、これに応えることは次世代の医療を支える基礎医学研究で喫緊の課題と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、科学的根拠に基づくストレス対処法の確立を目的とし、ストレス誘発性疼痛の代表格である咬筋の痛みを題材としてアロマセラピーの介入効果を探求する。すなわち、匂いという嗅覚刺激による RVM 機能の調整効果がストレス誘発痛を軽減する根拠を、RVM のニューロン

の興奮性を指標に明らかにする。RVMのニューロンは疼痛刺激に対する興奮性の違いから3種類に分類され(On cell:疼痛促進に関与、Off cell:疼痛抑制に関与、Neutral cell:疼痛への関与は不明)それぞれを細胞外記録により単離することが可能である。具体的にはストレスによる各RVMニューロンの興奮性の変化およびアロマセラピーがそれらに与える影響を明らかにすることで、ストレス誘発痛におけるRVMの内因性疼痛制御機構の役割を解明し、科学的根拠に基づくストレス対処法を確立する。

3. 研究の方法

マウスを実験モデルとし、ストレスモデルには社会的敗北ストレスモデル(Social Defeat Stress (SDS))を使用した。これは、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(Kumarら, Nature Commun 29.2014)、ヒトの社会心理的なストレス状態に近いといわれる(図1)。ストレス状態の判定にはSocial Interaction Test(SI)(図2)と強制水泳試験(Forced swim stress(FST))を併用した。咬筋痛の誘発法には、申請者が使用してきた咬筋痛モデルを用い、最後のストレス処置を実施した24時間後に行った。2.5%ホルマリンを咬筋に注入し、顎顔面部の疼痛関連行動(Grooming, Scratching)時間ならびに、Vcでの侵害性の興奮を定量した。Vcの興奮性の変化は、神経活動のマーカであるc-FosおよびFosBタンパクの発現量を指標とした。アロマ刺激はリラックス効果が認められているラベンダー精油を用いた。アロマ刺激は動物にストレス処置の直後にアロマで満たされた空間に約2時間安置することによって行うこととした。当初予備実験を行う中で、アロマセラピーの効果にはばらつきが大きく、予想した結果が得られない可能性が高いと考えられた。そこで、アロマセラピーと並ぶ日常的なストレス管理法であり、また補完代替療法としても知られる運動療法を併用することを考えた。近年、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注目されており、適度な運動療法はうつ病や認知障害など、ストレスに関連する脳機能障害を改善するといわれている。予備実験において、10日間のトレッドミル走がストレス誘発性の咬筋痛を軽減することが示された(図2)。そこで、今回は運動療法が顎顔面部のストレス誘発痛を軽減する効果を、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)の興奮性の変化を指標として検討した。

4. 研究成果

(1)社会的敗北ストレス(SDS)が心理ストレス状態および咬筋疼痛関連行動に及ぼす影響
10日間の社会的敗北ストレス(SDS)は、ストレスマウスに心理的ストレス状態を引き起こした(FST中の非水泳時間の増加(図4A)) SI TestにおいてAggressor(+)時(Post)のIZ滞在時間の短縮(図4B))。また、SDSは咬筋ホルマリン刺激による疼痛関連行動時間を延長させた(図4C)。

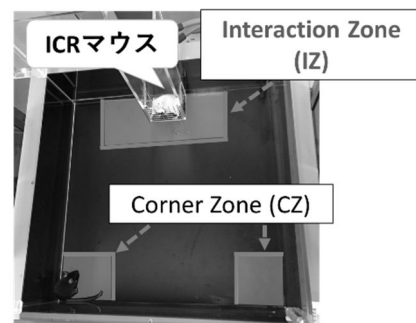
図1 SDS処置(10日間)

黒マウスを白マウスのケージに入れると、



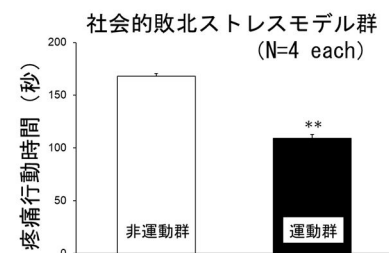
侵入マウス(黒) (ストレスマウス) C57BL/6J♂	居住マウス(白) (Aggressor) ICR♂
連日、ストレス状態におかれる	侵入マウスに対し激しく攻撃行動を示す

図2

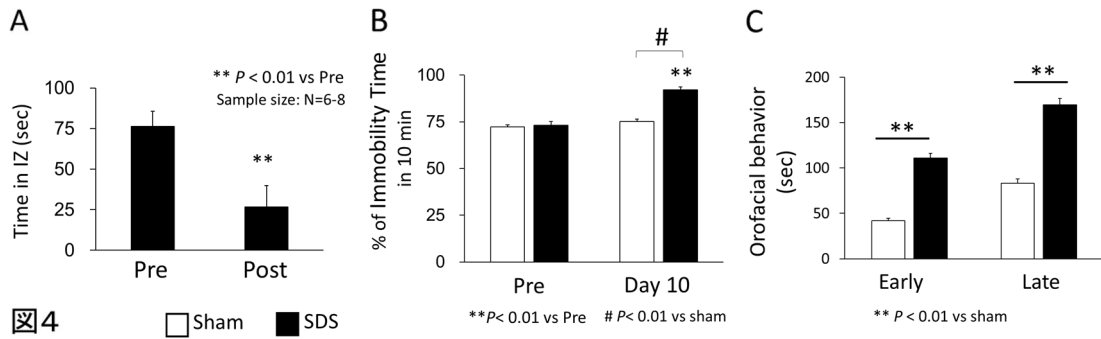


SDSを受けたマウス(黒)のIZ滞在時間を計測する。

図3



トレッドミル走(10日間)は、咬筋ホルマリン刺激による痛み行動時間を短縮した。



(2)トレッドミル走が心理ストレス状態および咬筋疼痛関連行動に及ぼす影響

トレッドミル走は、SDS群において、心理ストレス状態を軽減させた(SDS群と比較し、FST中の非水泳時間の短縮(図5A))

SI Testにおいて Aggressor(+)時(Post)のIZ滞在時間の短縮を認めなかった(図5B)。また、SDS+トレッドミル運動群はSDS群と比較し、咬筋ホルマリン刺激による疼痛関連行動時間が短縮した(図5C)。

すなわち、トレッドミル走を用いた運動療法が、心理社会的なストレスによる顎顔面痛を軽減できることが示唆された。

(3)トレッドミル走がC2領域で咬筋誘発性のc-FosおよびFosBタンパク発現に及ぼす影響
C2領域を区分しSDS処置ならびにトレッドミル走による運動がc-FosおよびFosBタンパクの発現に及ぼす影響を定量した。

10日間のSDS処置は咬筋ホルマリン刺激によるc-Fosの発現をC2の浅、深層で増加させた。(図6A、B)一方SDS+トレッドミル運動群ではC2の浅、深層ともにc-Fos発現の増加を認めなかった。また、SDS処置はそれ自身がC2のc-Fos陽性細胞を増加させたが、トレッドミル走によりこの応答は深層で低下した(図6A~C)。

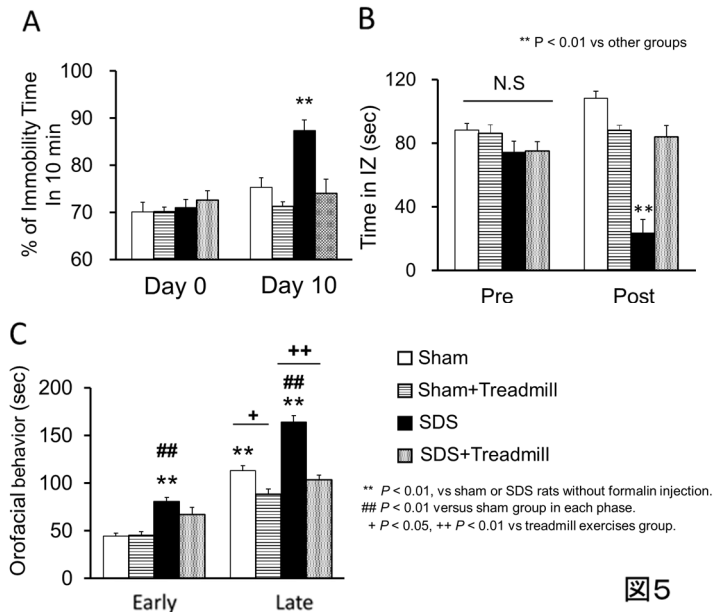
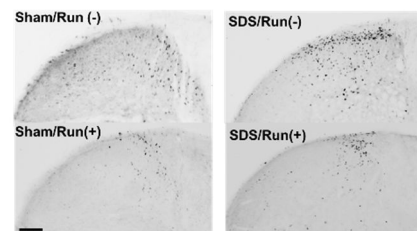
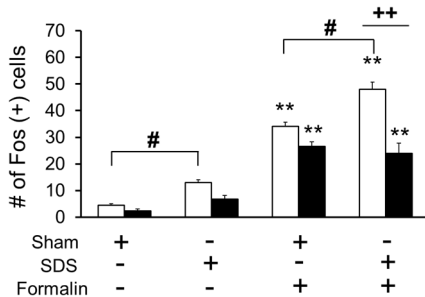


図5

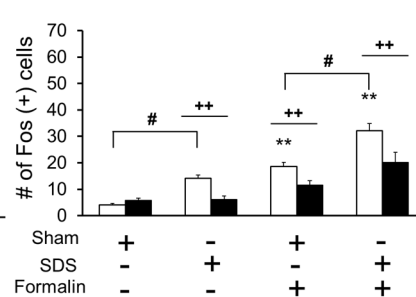
図6A



B C2浅層(刺激側)



C C2深層(刺激側)

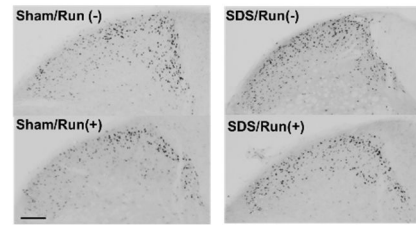


□ sedentary
■ exercise

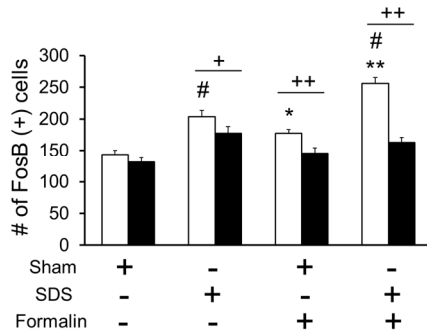
** P < 0.01, vs sham or SDS rats without formalin injection.
P < 0.05, sham vs SDS group.
+ P < 0.05,
++ P < 0.01 vs exercise group.

10 日間の SDS 処置は咬筋ホルマリン刺激誘発性の FosB の発現を、主に C2 の浅層で増加させたが、深層では有意な発現を認めなかった。SDS+トレッドミル運動群では C2 浅層での FosB 発現の増加を認めなかった。また、SDS 処置のみ（ホルマリン刺激無）でも FosB の発現は増大し、トレッドミル走によりこの応答は低下した（図 7A ~ C）。

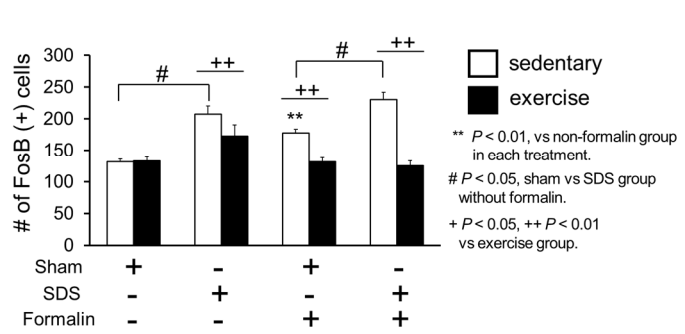
図 7 A



B C2浅層(刺激側)



C C2浅層(反対側)



以上の結果より、トレッドミル走が心理社会的ストレスによって誘発される咬筋侵害応答の増大を軽減すること、またストレス自体が C2 レベルの興奮性に及ぼす影響は、運動療法により改善する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakatani Y, Kurose M, Shimizu S, Hasegawa M, Ikeda N, Yamamura K, Takagi R, Okamoto K	4. 巻 236
2. 論文標題 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.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Experimental Brain Research	6. 最初と最後の頁 2209-2221
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00221-018-5297-0	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10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 長谷川真奈, 大竹正紀, 上村藍太郎, 齋藤功, 藤井規孝, 山村健介, 岡本圭一郎
2. 発表標題 トレッドミル走は心理社会的ストレス誘発性の咬筋の痛覚過敏を軽減する.
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川真奈, 岡本圭一郎
2. 発表標題 トレッドミル走は社会的敗北ストレスが引き起こす咬筋痛を軽減する.
3. 学会等名 第25回日本口腔顔面痛学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川真奈, 岡本圭一郎, 藤井規孝, 山村健介
2. 発表標題 繰り返したトレッドミル運動は社会的敗北ストレスによる顎顔面領域の侵害応答増大を抑制する.
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hasegawa M, Fujii N, Yamamura K, Okamoto K
2. 発表標題 Modulatory Effects of Psychophysical Stress on Neural Activities in the Rostral Ventromedial Medulla Evoked by Noxious Craniofacial Stimulation in Rats.
3. 学会等名 International Collaborative Symposium on Development of Human Resources in Practical Oral Health and Treatment.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hasegawa M, Kurose M, Fujii N, Yamamura K, Okamoto K
2. 発表標題 Modulatory effects of repeated psychophysical stress on nociceptive neural activities in the rostral ventromedial medulla (RVM) evoked by noxious stimulation to the craniofacial tissue in the rats.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川真奈, 黒瀬雅之, 岡本圭一郎, 藤井規孝, 山村健介
2. 発表標題 顎顔面部への侵害刺激による吻側延髄腹内側部 (RVM) の興奮性は繰り返しストレスによって変化する.
3. 学会等名 第13回三叉神経領域の感覚-運動統合研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川真奈, 藤井規孝, 黒瀬雅之, 石崎裕子, 伊藤晴江, 奥村暢旦, 塩見晶, 中村太, 佐藤拓実, 原さやか, 野村みずき, 佐藤大祐
2. 発表標題 機械学習を応用した 歯科臨床技能評価システム開発の提案
3. 学会等名 第38回日本歯科医学教育学会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masayuki Kurose, Mana Hasegawa, Yosuke Nakatani, Shiho Shimizu, Noritaka Fujii, Yoshihide Satoh, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto
2. 発表標題 Psychological stress modulates On- and Off-cell activity in the rostral ventromedial medulla.
3. 学会等名 FAOPS 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masayuki Kurose, Mana Hasegawa, Yosuke Nakatani, Shiho Shimizu, Noritaka Fujii, Yoshihide Satoh, Kensuke Yamamura, Keiichiro Okamoto
2. 発表標題 Modulatory effect of psychophysical stress on orofacial nociception at the rostral ventromedial medulla in the rats.
3. 学会等名 SFN 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 反復的な強制水泳がもたらす心理的ストレスは、吻側延髄腹内側部(RVM)における顎顔面領域での侵害情報伝達を変調する。
3. 学会等名 第60回 歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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