

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K17268

研究課題名（和文）乳児期ストレスに起因する口腔顔面領域での異常疼痛の発症メカニズムについて

研究課題名（英文）The mechanism of unusual pain in orofacial region induced by stress in infancy

研究代表者

保田 将史（Yasuda, Masafumi）

神奈川歯科大学・歯学部・特任講師

研究者番号：60643715

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）：本研究では、ネグレクトをモデル化した、乳児期に雌親ラットとの接触時間を制限した母子分離モデルラットを作製した。モデルラットでは口腔顔面領域での疼痛感覚の変化が認められ、ストレスホルモンの血中濃度が有意に上昇していた。乳児期にコルチコステロンを毎日投与されたラットでは、口腔顔面領域での疼痛感覚の変化が認められた。さらにモデルラットにおいて、神経周囲細胞であるミクログリアの活性抑制剤として知られるミノサイクリンを投与したところ、口腔顔面領域での疼痛閾値の有意な上昇が認められた。以上の結果より、幼児期のストレスが感覚神経節でのミクログリアに作用し異常疼痛を発症させることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

過度なストレスに曝露されることによって心因性疼痛が引き起こされることはよく知られているが、その発現機序については不明な点が多く残されている。心因性疼痛は身体的変化を伴わないため原因不明の痛みとして取り扱われ、治療に苦慮することが多い。

本研究にて得られた成果が臨床応用を念頭においた行動薬理的な検討に生かされ、異常疼痛を抑える治療法の開発に結びつけば、人類の医学の進歩に貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we produced the rat modeled neglect which were limited nursing time in infancy. The pain sensation in orofacial region was altered and the concentration of corticosterone in serum was significantly higher in model rats. The alteration of pain sensation in orofacial region was induced in the rats which administrated corticosterone in infancy. The injection of minocycline that act as inhibitor of microglia increased the threshold of orofacial pain in model rats. These results suggested that the unusual pain induced by stress in infancy was attributed to altered microglia activity in ganglion.

研究分野：小児歯科

キーワード：口腔顔面痛 乳児期ストレス ストレスホルモン ミクログリア

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本邦における児童虐待の報告件数は増加傾向にあり、乳児期に経験した異常なストレスがその後の成長に影響することが知られている。実際、乳児期にネグレクトを経験した成人は、炎症や腫瘍などの器質的な変化が認められないにもかかわらず、侵害刺激に対する感受性が増強していることが報告されている。しかし、この症状に対する知見は少なく、特に発症の分子メカニズムに対する基礎的研究はほとんど行われていない。そのため、乳児期の強いストレスに起因する異常疼痛に対する認識は医療の現場においてもほとんどなく、原因不明の痛みとして診断されていることが実情であり、効果的な治療法は確立されていないといえる。本研究の特色は基礎的研究を通じた乳児期ストレスにより発症する異常疼痛のメカニズムの解明だけに留まらず、臨床応用を念頭において行動薬理学的検討も行うことにより、EBM に基づいた治療法開発の足掛かりをつくることも目的としている。本研究で得られた結果が、これまで適切な診断と治療がされてこなかった疾患のメカニズムの解明につながり、治療法の開発に貢献できれば、基礎医学研究だけでなく臨床医学に対しても多大な影響を与えるものと考えられる。

### 2. 研究の目的

ネグレクトを想定した母子分離モデルラットを作製し、ストレスホルモンの働きに注目し、乳児期ストレスにより引き起こされる異常疼痛の発症メカニズムを明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) ネグレクトモデル・母子分離ラット (MS) の作成

生後 2-14 日の Sprague-Dawley (SD) ラットを雌親ラットと隔離 (1 日 1 回、3 時間) して飼育し、生後 22 日目に離乳させたものを MS として用いた。

Naïve には離乳時まで雌親ラットと同じケージで飼育したものをを用いた。

以下の実験は MS および Naïve とともに体重が 250 - 320 g まで成長した雄ラットのみを用いて行った。

#### (2) ストレスホルモン血中濃度の測定

生後 14 日目のラットの動脈血を経心的に採取し、室温にて 3 時間放置する。その後、遠心分離 (4°C、4500rpm、15 分間) をかけ、得られた血清中のストレスホルモンの濃度を ELISA 法にて測定した。

#### (3) コルチコステロン投与ラット (CORT) の作成

生後 2-14 日の間、SD ラットの頸部にコルチコステロンを皮下投与し、直ちに雌親ラットと同じケージに戻して飼育したラットを CORT として実験を行った。

#### (4) 機械刺激に対する疼痛閾値の測定

ラットの左側口髭部皮膚を von Frey filaments にて 5 回機械刺激を行い、3 回以上の逃避行動を示した最小の値を疼痛閾値として測定した。

#### (6) ミクログリア活性抑制剤の効果測定

ミクログリアインヒビター (ミノサイクリン) を MS の腹腔内に投与し、機械刺激に対する疼痛閾値の変化を測定した。

### 4. 研究成果

ストレス環境下において分泌量の変化が予想されるコルチコステロン・エピネフリン・セロトニンの血中濃度を測定したところ、MS では Naïve と比較してコルチコステロンの有意な上昇が認められた。

MS の口髭部での機械的刺激に対する疼痛閾値は Naïve と比較して有意な低下が認められた。また、生後 2-14 日にコルチコステロンは投与した CORT では Vehicle であるエタノールを投与した群と比較して口髭部の疼痛閾値の有意な低下が認められた。以上の結果より、乳児期の母子分離により引き起こされる血中でのコルチコステロンの有意な増加が、口腔顔面領域に異常疼痛を引き起こすことが示唆された。

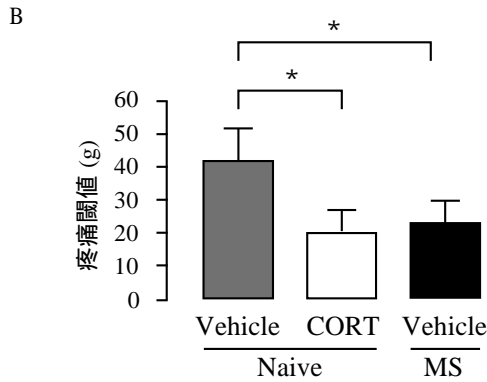
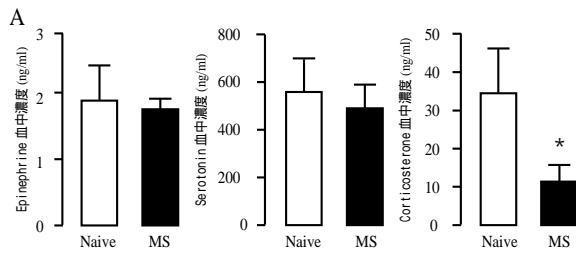


図1 ストレスホルモンによる効果の測定

(A) ストレスホルモンの血中濃度変化

Epinephrine; n=10 in naïve, n=10 in MS  
 Serotonin; n=9 in naïve, n=9 in MS  
 Corticosterone; n=10 in naïve, n=10 in MS  
 \*P < 0.05, Student's t test.

(B) コルチコステロンによる疼痛閾値変化

n=5 in vehicle-treated naïve, n=5 in CORT-treated naïve,  
 n=6 in vehicle-treated MS

\*P < 0.05, 1-way ANOVA, followed by Bonferroni's multiple-comparison tests.

ミクログリアはグリア細胞の1つであり、その活性化が神経侵害性疼痛の発生に重要な役割を果たしていると報告されている。そこで、ミクログリア活性化抑制作用を持つミノサイクリンをMSの腹腔内に投与したところ、口髭部での機械的刺激に対する疼痛閾値が、投与前と比較して投与後60分後で有意な上昇が認められた。

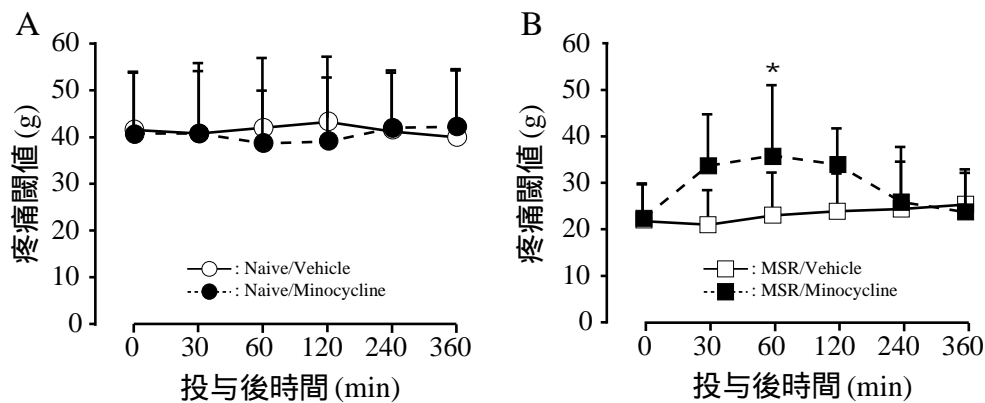


図2 Minocycline 投与による効果の測定

(A) Naive; n=8 in each

(B) MSR; n=7 in each

\*P < 0.05, vs. 0 min. 2-way ANOVA, followed by Tukey-Kramer's multiple-comparison tests.

以上の結果から、乳児期の母子分離によるストレス刺激がコルチコステロンの血中濃度の有意な上昇を引き起こし、口髭部の疼痛閾値の低下を引き起こす。この異常疼痛の発症にはミクログリアの活性化が関与することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 保田将史、大谷茉衣子、中村州臣、中島知佳子、木本茂成
2. 発表標題 口腔顔面痛に対する児童虐待が与える影響
3. 学会等名 第62回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2024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
---------	---------