

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：32665

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23039

研究課題名（和文）妊娠期ストレス負荷が仔の口腔顔面領域の疼痛情報伝達系に与える影響

研究課題名（英文）Maternal stress exposure in gestational period modulates pain sensitivity in the offspring

研究代表者

相馬 久実（SOMA, Kumi）

日本大学・歯学部・専修医

研究者番号：50875820

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：妊婦へのストレス負荷は、胎児の脳神経系機能の発達に影響を与えることが示唆されている。本研究では、母体ストレス負荷による胎生期ストレスモデルにおける顔面部の疼痛感受性変化とその発症メカニズムを解明することを目的とした。その結果、胎生期ストレスモデルラットは、成体期に顔面部機械アロディニアを生じること、また、その発症には三叉神経節におけるセロトニンおよびNav 1.8が関与することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、妊娠中のストレス負荷による口腔顔面領域における胎児の痛覚情報伝達機構への影響については不明であった。本研究により、胎児期における母体ストレスが生後の異常疼痛の発症を引き起こすメカニズムの一端が明らかになったことから、母体へのストレス負荷が誘因と考えられる患児に対する異常疼痛発症予防への応用が期待できる。将来、末梢神経系のセロトニンやNav1.8をターゲットとした薬物治療により、胎生期母体ストレスに起因した異常疼痛発症の抑制に役立つ可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Stress exposure in pregnant women affects the development of nerve system in their children. The purpose of this study was to elucidate the changes in facial pain sensitivity and the pathogenesis mechanism in the offspring of rats following maternal stress exposure in gestational period. The study demonstrated that the maternal stress exposure induced mechanical allodynia in the offspring at 7-weeks-old via a serotonin receptor 5-HT<sub>3</sub> and tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel 1.8 in the trigeminal ganglion. The results suggest that maternal stress exposure in gestational period induces long-lasting facial mechanical pain hypersensitivity in the offspring.

研究分野：小児歯科学、口腔生理学

キーワード：胎生期母体ストレス 三叉神経節 serotonin Nav 1.8

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多くの女性は、妊娠による体調の急激な変化や環境の変化に適応することが難しく、長期間精神的ストレスを抱えることが知られている。動物実験においては、妊娠中の過度なストレス負荷は、胎児の脳神経回路形成に影響を及ぼすことが報告されている (Constantinof et al., J Steroid Biochem Mol Biol. 2016)。このことから、妊娠時の精神的・肉体的ストレスが胎児の脳神経回路形成になんらかの可塑的变化を引き起こし、出生後の感覚情報伝達系に影響を及ぼす可能性がある。

過去の研究で、妊娠ラットへのストレス負荷後、胎生期ラット脳神経系におけるセロトニン (5-HT) 量およびケモカインの一種である CCL2 の増加が報告されている (Peters et al., Pharmacol Biochem Behav. 1990; Akhtar et al., J Neuroinflammation. 2017)。セロトニンは、一次ニューロンに発現する 5-HT<sub>3A</sub> 受容体を介して Nav のリン酸化を誘導し、内向き電流を増加させる (Cardenas et al., J Neurophysiol. 2001)。また、三叉神経節や後根神経節内のグリア細胞により産生放出される CCL2 は、ニューロンに発現する CC chemokine receptor type 2 (CCR2) を介して一次ニューロンの興奮性を増強する (Zhang et al., Cell Mol Life Sci. 2017)。

以上のことから、妊娠期のストレス負荷が胎児の疼痛情報伝達系に可塑的变化を引き起こし、成長後の異常疼痛発症のリスクを高める可能性があるとして仮説を立てた。本実験では、(1) 妊娠中の過度なストレス負荷は成長後の三叉神経節内のセロトニンと Nav1.8、CCL2 発現に変化をもたらすのか、(2) 成長後に生じた三叉神経節内のセロトニンと Nav1.8、CCL2 発現の変化は、一次侵害受容ニューロンの興奮性を増強し口腔顔面痛を引き起こすのか、という 2 点に着目した。

### 2. 研究の目的

母体へのストレス負荷が胎生仔へいかなる影響を与え、生後の顎顔面領域の感覚情報、特に疼痛情報伝達系にどのような影響を及ぼすかに注目し、妊娠中の過度なストレス負荷は胎児の三叉神経節内のセロトニンと CCL2 発現に可塑的变化をもたらす、その変化が成長後の口腔顔面痛に関与するかどうかを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 胎生期ストレスモデルの作製、各群の機械刺激に対する行動解析

妊娠ラットに対して、妊娠前期 (胎生 1 ~ 7 日)・妊娠中期 (胎生 8 ~ 14 日)・妊娠後期 (胎生 15 ~ 20 日) に 1 日 1 回 3 時間の拘束を行い、各時期の胎生期ストレスモデル (Early・Mid・Late 群) を作製した。また、拘束ストレスを与えない Naive 群を作製した。生後 7 週目に口髭部への機械刺激に対する逃避閾値を計測した。

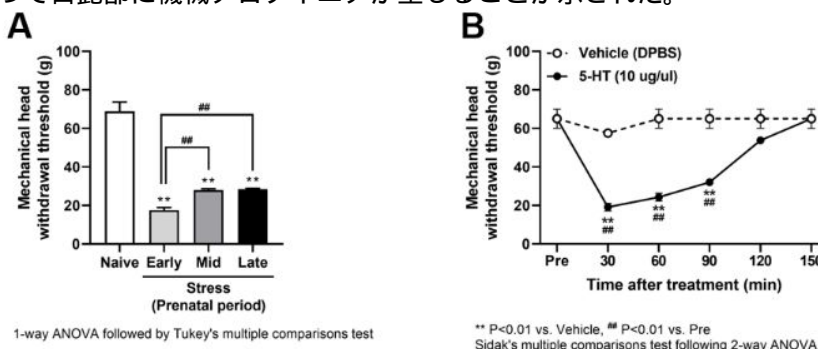
#### (2) TG への 5-HT または Nav1.8 Blocker および 5-HT<sub>3</sub> 受容体アンタゴニスト投与による行動解析

生後 6 週目の TG に薬物投与のための金属カニューレを局所麻酔下にて留置し (Soma et al., Neurosci Res. 2020)、その 1 週間後の Naive 群に対して 5-HT (10 µg/µl, Merck) または Vehicle (DPBS) を投与した。ストレス負荷群に対しては、Nav1.8 Blocker (10 mmol, Tocris Bioscience) または Vehicle (5% DMSO, 95% Polyethylene Glycol)、および 5-HT<sub>3</sub> 受容体アンタゴニスト (Granisetron, 10 mmol, TCI) または Vehicle (DPBS) を投与し、経時的に機械逃避閾値の変化を測定した。

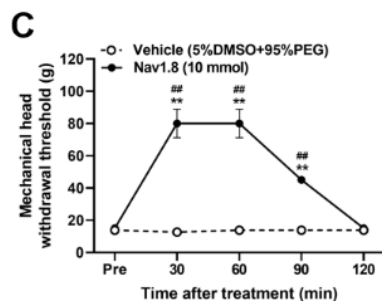
### 4. 研究成果

Naive 群と比較し、Early・Mid・Late 群で機械逃避閾値の有意な低下が認められた (図.A)。この結果より、成体期の機械アロディニアの増強には、胎児期の母体ストレスの関与が示され、特に胎生初期にその影響がより強く示された。

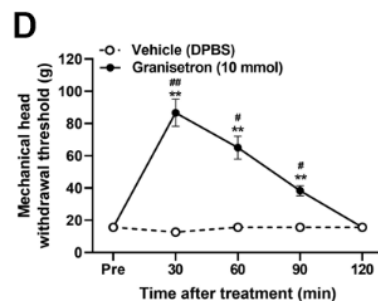
次に、Naive 群の TG への 5-HT 投与による機械逃避閾値への影響を調べたところ、Pre 値または Vehicle 群と比較して 5-HT 投与後 30 分 ~ 90 分に有意な機械逃避閾値の低下を認めた (図.B)。これにより、5-HT によって口髭部に機械アロディニアが生じることが示された。



また、Early 群の TGへ Nav1.8 Blocker または 5-HT<sub>3</sub> 受容体 アンタゴニスト (Granisetron) を投与したところ、Pre 値 または Vehicle 群と 比較し Nav1.8 Blocker および Granisetron 投与後 30 分~90 分に有意な機械逃避閾値の上昇を認めた (図.C, 図.D)。これにより、胎児期の母体ストレスによる成体期機械アロディニアには Nav1.8 および 5-HT<sub>3</sub> が関与することが示された。



\*\* P<0.01 vs. Vehicle, ## P<0.01 vs. Pre  
Sidak's multiple comparisons test following 2-way ANOVA



\*\* P<0.01 vs. Vehicle, # P<0.05, ## P<0.01 vs. Pre  
Sidak's multiple comparisons test following 2-way ANOVA

以上の結果より、母体ストレスが胎児の成体期における機械アロディニアを引き起こすことが明らかになった。また、5-HT および Nav1.8 が機械アロディニアの発症に関与することも示唆された。今後、胎生初期ストレスモデルにおけるセロトニン量や、セロトニン産生細胞と Nav1.8 陽性細胞を免疫組織化学的手法により同定することができれば、母体ストレスに起因する胎児のアロディニアの予防ができる可能性がある。

#### 引用文献

- ( 1 ) Andrea Constantino, Vasilis G Moisiadis, Stephen G Matthews (2016). Programming of stress pathways: A transgenerational perspective. *J Steroid Biochem Mol Biol* 160:175-80
- ( 2 ) A H Swiergiel 1, G Peters (1990). Failure of serotonin antagonist pizotifen to stimulate feeding or weight gain in free-feeding rats. *Pharmacol Biochem Behav* 35(1):61-7
- ( 3 ) Feroz Akhtar, Christopher A. Rouse, Gabriel Catano, Marcus Montalvo, Sarah L. Ullevig, Reto Asmis, Kusum Kharbanda, Shivani K. Maffi (2017). Acute maternal oxidant exposure causes susceptibility of the fetal brain to inflammation and oxidative stress. *J Neuroinflammation* 14(1):195
- ( 4 ) L M Cardenas, C G Cardenas, R S Scroggs (2001). 5HT increases excitability of nociceptor-like rat dorsal root ganglion neurons via cAMP-coupled TTX-resistant Na(+) channels. *J Neurophysiol* 86(1):241-8
- ( 5 ) Zhi-Jun Zhang, Bao-Chun Jiang, Yong-Jing Gao (2017). Chemokines in neuron-glia cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain. *Cell Mol Life Sci* 74(18):3275-3291
- ( 6 ) Kumi Soma, Masamichi Shinoda, Yoshinori Hayashi, Kohei Kanno, Tetsuo Shirakawa, Koichi Iwata (2020). Involvement of TNF in the enhancement of hypersensitivity in the adulthood-injured face associated with facial injury in infancy. *Neurosci Res.* 161:18-23

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 Matsui Tomoyuki, Hitomi Suzuro, Hayashi Yoshinori, Shibuta Ikuko, Otsuji Jo, Ando Masatoshi, Inada Takanobu, Soma Kumi, Iwata Koichi, Shirakawa Tetsuo, Shinoda Masamichi	4. 巻 63
2. 論文標題 Microglial activation in the trigeminal spinal subnucleus interpolaris/caudalis modulates orofacial incisional mechanical pain hypersensitivity associated with orofacial injury in infancy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral Science	6. 最初と最後の頁 170 ~ 173
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2334/josnusd.20-0648	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 相馬久実, 相馬千紘, 松井智行, 尾辻盛, 白川哲夫
2. 発表標題 新生仔期外傷に起因する三叉神経節でのNav1.8発現増強は成体期外傷後の機械アロディニアを亢進する
3. 学会等名 第59回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松井智行, 尾辻盛, 相馬千紘, 相馬久実, 伊藤寿典, 石山未紗, 白川哲夫
2. 発表標題 幼少期顔面部損傷後における顔面皮膚切開誘発機械アロディニアに対する延髄ミクログリア活性化の関与
3. 学会等名 日本小児歯科学会第36回関東地方会大会
4. 発表年 2021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
---------	---------