

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860382

研究課題名(和文) 拘束ストレスと情動系侵害受容に関与する帯状回ニューロン応答の性差

研究課題名(英文) Stress modified nociceptive responses in the anterior cingulate neurons during estrous cycle in female rats

研究代表者

山下 裕美 (YAMASHITA, Hiromi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・助教

研究者番号：50706174

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：痛みは生体にとって危険を知らせる警告信号であり重要な役割をもつ。近年、痛みとストレスの関係が注目されている。しかし、性周期の関与は不明な点が多い。そこで、雌ラットの膣スミアを採取しギムザ染色で性周期を特定し実験を行った。持続的なストレス負荷として、1日6時間、金網拘束ストレスを行った。侵害刺激は、ピンチ刺激を使用し、侵害刺激時の帯状回の応答を解析した結果、発情期において興奮性の応答が増加した。

研究成果の概要(英文)：The pain is the warning signal which tells danger for a living body, and I have the important role. A relation between a pain and a stress is watched in recent years. But there are a lot of unclear points for participation of a sexual cycle. So vagina sumea of a female rat was extracted, a sexual cycle was specified by Giemsa stain and an experiment was made. For 6 hours, a day a wire netting restriction stress was performed as a continuous stress load. After noxial stimulus used a pinch stimulus and analyzed a reply of the beltlike time of the time of noxial stimulus, it increased in a reply of excitability in estrus.

研究分野：感覚生理学

キーワード：帯状回 性周期 情動 侵害刺激

1. 研究開始当初の背景

痛みは、生体に危険を知らせる警告信号として重要な生理的役割を担う感覚・知覚である。さらに、痛みにより引き起こされる恐怖、悲しみ、不安などの不快な情動は強力なストレスとなり、生活の質 (quality of life: QOL) を低下させる。このため、近年、国内外の研究において、痛みと情動に関する関心が高まってきている (Vogt, 2005; 仙波, 2010)。また、慢性痛を有する群では、不安障害やうつ病などの精神疾患を患う割合が有意に高くなるとの報告もある (McWilliams et al., 2003)。痛みは、感覚的側面 (痛みの場所, 強さ), 情動的側面 (不安, 恐怖, 嫌悪, 抑うつ) といわれる 2 つの系を介して痛みとして認知することから、複合体験ともいわれる。感覚的側面は脊髄視床路を經由し視床の外側核群 (後内側腹側核 ventral posterior medial nucleus: VPM, 後外側腹側核 ventral posterolateral nucleus: VPL 等) を経て大脳皮質体性感覚野 野と野に達する系で、痛みの弁別系といわれる。また、情動的側面は、脊髄網様体路を經由し脳幹網様体、視床の内側核群 (内側中心核 central medial nucleus, CM, 束傍核 parafascicular nucleus, Pf 等) から帯状回などの大脳辺縁系に到達する系で、痛みの情動系といわれている。痛みの情動系に関する研究では、雄ラットを用いた研究が主で、性周期がどのように関与するかを雌ラットで検討した報告は一定の見解を得られていない。

2. 研究の目的

Wistar 系雌ラットを用いて性周期を厳密に判定した上で電気生理学的手法を用いてストレス・痛み・性周期との相互関係を解明する。雌ラットにおけるデータを雄ラットにおける過去のデータと比較することにより、最終的にはストレスと情動系侵害受容に關与する帯状回ニューロン応答の性差について究明する。

- (1) 機械的侵害刺激に対する逃避反応が各性周期におけるストレス負荷前後で差があるか否かを明らかにする。
- (2) 性周期各ステージにおける持続的ストレス負荷が、侵害刺激時の帯状回ニューロンへ及ぼす変調を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 雌ラットを用いて性周期各ステージで機械的侵害刺激に対する逃避行動がどのように変化するか von Frey タイプの圧刺激装置を用いて測定する。

1) 性周期の同定

成熟雌ラットには、発情前期、発情期、発情後期、休止期の 4 つの性周期ステージがある。スポットで雌ラットの膺スミアを採取し、ギムザ染色を行いデジタル顕微鏡で性周期の同定を行う。

2) 拘束ストレス

Katie (2007) らの手法を用いて、拘束ストレスを 6 時間与える。22.0cm x 26.0cm の亜鉛鋼を円柱状に折りその中にラットを入れ拘束する。拘束ストレスは、3 日間、7 日間、21 日間の 3 群を設定する。

3) ストレス前後の逃避行動の解析

雌ラットの顔面、両前肢、頸部、背部、両後肢、尾部の 8 か所を von Frey タイプの圧刺激装置を用いて加圧し、逃避行動を誘発した時の加圧値を逃避閾値として性周期各ステージで測定を行い比較する。測定にはストレインゲージアンプ (所有品) により加圧値をモニターする。

4) 刺激部位の違いによる逃避行動の差の解析を行う。

(2) 持続的ストレスと性周期の関係を明らかにする。

1) 性周期の同定 (同上)

2) 持続的ストレス負荷 (同上)

3) 刺激部位の違いによる帯状回ニューロン応答の差を各性周期で検証する。ニューロン活動の記録は、単一ニューロンからタングステン微小電極を用いて行い、前置増幅器 (所有品) - インターフェイス (CED1401, 所有品) を介して PC 上に転送し SPIKE2 ソフトを用いて解析する。

4. 研究成果

(1) 雌ラットを用いて性周期各ステージで機械的侵害刺激に対する逃避行動がどのように変化するか

1) 体表部位ごとに刺激の強さに対する閾値が異なり特に、鼻部はその他の体表部位より閾値が低かった (図 1)。

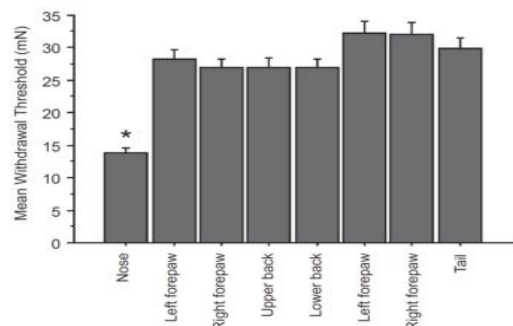


図 1 各部位における機械的侵害閾値

(2) 鼻部, 左右の前肢, 後肢, 尾部においては各性周期によって刺激の強さに対する閾値に有意差は認められなかった(図2)

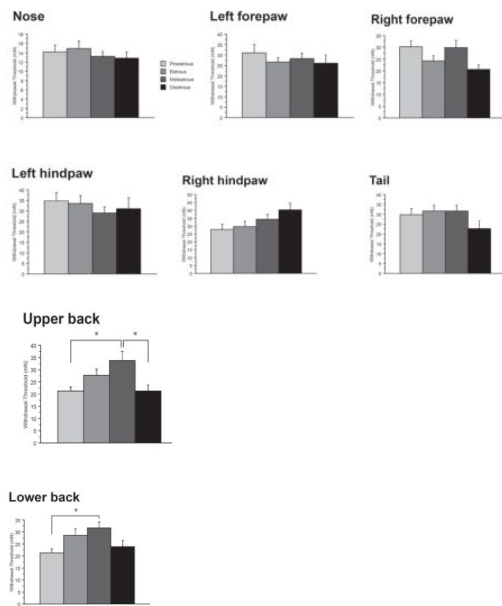


図2 各性周期における機械的侵害閾値

(3) 発情後期に有意な閾値の上昇を認めた(図3)

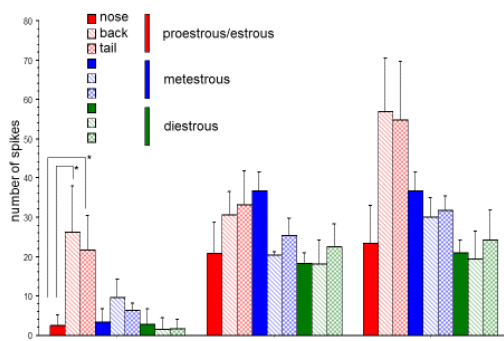


図3

(2) 持続的ストレスと性周期の関係

雌ラットを用いて各性周期(発情前期, 発情期, 発情後期, 休止期)ごとに同様の実験(7日間拘束)で比較した結果, 発情期において顔面, 尾部刺激時に興奮性の応答が増加する傾向を認めた(図4)

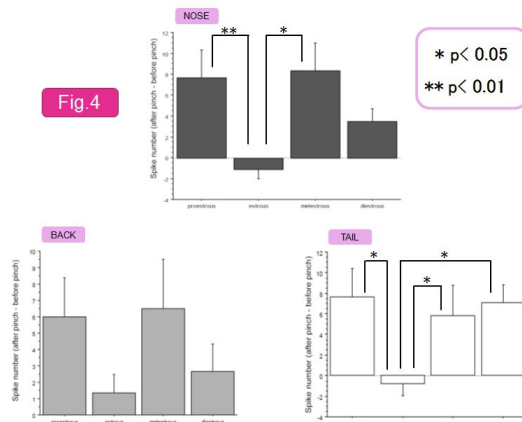


図4

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 1件)

Hiromi Yamashita, Jorge L Zeredo, Mari Kimoto, Zenro Nihei, Izumi Asahina, Kei Kaida, Kazuo Toda: Body site-dependent changes in pain threshold during the estrous cycle in rats. *Psychology and Neuroscience*, 8(3): 414-422, 2015 <原著>査読有

(学会発表)(計 2件)

Anterior cingulate responses evoked by mechanical nociceptive stimulation in female rats. Hiromi Yamashita, Jorge L Zeredo, Zenro Nihei, Kei Kaida, Mari Kimoto, Masahiro Umeda, Izumi Asahina, Kazuo Toda / FEPS, Budapest, Hungary, 27-30, August, 2014

Stress modified nociceptive responses in the anterior cingulate neurons during estrous cycle in female rats. Hiromi Yamashita, Jorge L Zeredo, Zenro Nihei, Kei Kaida, Mari Kimoto, Kazuo Toda / European Brain and Behaviour Society, Verona, Italy, 12-15, September, 2015

(図書)(計 0件)

(産業財産権)

出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等 無

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下 裕美 (YAMASHITA, Hiromi)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・
助教
研究者番号：50706174