

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 清水 志保
学位 博士 (歯学)
学位記番号 新大院博 (歯) 第448号
学位授与の日付 令和2年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 **Modulatory effects of repeated psychophysical stress on masseter muscle nociception in the nucleus raphe magnus of rats**
(情動ストレスは大縫線核(NRM)での咬筋侵害応答を増大させる)

論文審査委員 主査 教授 高木 律男
副査 教授 山村 健介
副査 教授 瀬尾 憲司

博士論文の要旨

【目的】

情動ストレス(ストレス)は痛みを増大する。慢性的にストレスがかかると、脳機能の異常を引き起こし、うつ状態を引き起こすことが知られている。過去の研究から、ストレスによるうつ状態では痛みが増強することがわかっており、ストレスと痛みは密接に関係していることが知られている。例えば、顎顔面痛の1つである顎関節症は、リスク要因の1つにストレスが挙げられる。

三叉神経領域である、顎顔面部に侵害刺激が加わると、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)で侵害情報を受け取り、上位脳へ伝達することにより、痛みを感じる。Vcは脳幹に存在し、三叉神経領域の侵害(痛み)情報の処理に重要な役割を担っている部位である。

また、Vcを調節する機構として下行性疼痛制御系があり、その主要部位に大縫線核(NRM)がある。NRMは延髄の上方に存在し、セロトニンニューロンを有する。VcはこのNRMからの投射によって調節されており、この投射は痛みの調節に働くことが知られている。

先行実験で、ストレス下における顎顔面痛の増大は、Vcでの興奮性の増大を基盤とすることが解明されている。しかし、Vcの興奮性を増大する基盤として、下行性疼痛制御系のNRMなどの興奮性の増大が考えられているが、詳細なメカニズムは解明されていない。

ストレスにより発症するうつ病の原因の1つに、脳内セロトニン機能低下があるとされる。その治療に用いられる抗うつ薬の1つであるセロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)は脳内セロトニン機能低下を代償することで抗ストレス効果をもたらす。臨床では慢性疼痛の治療に対しても用いられている。

そこで本研究の目的は、顎顔面領域の1つである咬筋を対象に、ストレスおよびその軽減がNRMでの咬筋侵害応答に与える影響を、抗ストレス効果を持つSSRIを用いて、以下の2点を調べることで明らかにすることである。

- ① ストレスによるうつ状態がNRMでの咬筋侵害応答へ及ぼす影響
- ② SSRI投与がNRMでの咬筋侵害応答へ及ぼす影響

【方法】

SD雄ラットを用いて3日間のストレス処置(強制水泳ストレス)(10分間/日)または非ストレス処置を行い、各ストレス処置の30分後にSSRI(フルオキセチン, 0.1mg/kg, 1.0mg/kg)または生理食塩水(vehicle)を腹腔内投与した。4日目に全身麻酔下に咬筋侵害応答の実験として、ラットの左側咬筋に(0, 1, 5%ホルマリン, 0.05ml)を注射し、2時間後に灌流固定を行った。NRMでの咬筋侵害応答の指標として、神経興奮のマーカーであるFosタンパク(Fos)を用いた免

疫組織化学を行い、Fos 陽性細胞数を定量し、比較検討した。

【結果】

①繰り返しストレスが NRM での咬筋侵害応答へ及ぼす影響

ストレス群では非ストレス群に比べ、咬筋侵害刺激による Fos 陽性細胞数の有意な増加を認めた。また、咬筋刺激において、生理食塩水投与群と比較し、5%ホルマリンを投与した群では、有意に Fos 陽性細胞数が増加した。

② SSRI が NRM での咬筋侵害応答へ及ぼす影響

ストレス群への SSRI 反復投与により、NRM での咬筋侵害刺激による Fos 陽性細胞数は有意に減少した。一方、非ストレス群への SSRI 反復投与では、Fos 陽性細胞数に変化を認めなかった。

【考察】

NRM は下行性疼痛制御系の主役であり、Vc の興奮性を調節している重要な部位である。先行研究では、Fos 陽性細胞の発現を指標に、ストレスによる咬筋侵害応答の増大は、Vc の興奮性の増大を基盤とすることが明らかになっている。

本研究では、ストレスが咬筋侵害刺激による NRM の興奮性を増大することを明らかにした。ストレスは NRM の興奮性を増大させることで Vc の興奮性を増大させ、その結果、咬筋侵害応答を増大することが示唆された。つまり、ストレスによる咬筋侵害応答の増大は、NRM の興奮性の増大を基盤とすることが明らかとなった。

さらに、ストレスによるうつ状態は、脳内のセロトニン機構を変調させることが知られており、また、NRM はセロトニン投射を有することから、ストレスによる NRM の興奮性の変化とセロトニン機構との関連に着目した。ストレス処置後に SSRI を投与したところ、うつ様行動（ストレス応答）は減少し、NRM における咬筋侵害応答の増大を抑制することが明らかとなった。

審査結果の要旨

慢性疼痛は、炎症などによる侵害受容性のもの、感覚神経系の病変や疾患による神経障害性なもの、感情の変化やストレスなどによる社会心理的なのが要因としてあげられ、これらが互いに密接に関連することで疼痛が慢性化、難治化し、生活の質（QOL）を悪化させる。加えて慢性痛によるストレスが痛みを悪化させ、そのことがさらなるストレスを誘発し、鬱のような精神疾患を発症させる場合がある。顎顔面領域でも顎関節症患者がうつ病を併発し、顎関節症を難治化させることがあり、臨床的に問題となっている。

このような慢性疼痛の効果的な治療を行う上で、発症の神経学的基盤を明らかにすることが不可欠である。申請者の研究グループは、ストレスモデル動物を用いて、ストレス状態にある動物の顎顔面領域への侵害刺激に対する脳内応答メカニズムを調べ、ストレス処置を行うことでうつ様行動が発現した動物では、顎顔面領域への深部侵害刺激（咬筋へのホルマリン注入）に対する痛覚上行路ニューロン（Vc: 三叉神経脊髄路核尾側亜核）の興奮性を増大させ、ストレス下における顎顔面痛の増大の主因となっていることを明らかにしている。そこで申請者はストレス下における Vc の興奮性の増大に、うつ病の原因のひとつとされる脳内セロトニン機能低下が脳内下行性疼痛制御系の主要部位である大縫線核(NRM)の変調をもたらしているという仮説を立て、ストレスによるうつ状態が NRM での咬筋侵害応答へ及ぼす影響および抗うつ薬の1つであるセロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)投与が NRM での咬筋侵害応答へ及ぼす影響を調べることでストレスおよびその軽減が NRM での咬筋侵害応答に与える影響を検証するという本研究を立案した。

実験には雄ラットを用い、一日あたり 10 分間の FST を 3 日間行わせた群と FST を行わせない未処置群について、それぞれの群で各日の FST 後に生理食塩水を投与した群、1 mg/kg の SSRI を投与した群、10 mg/kg の SSRI を投与した群を作製した。これら合計 6 群それぞれに対し、全身麻酔下で深部侵害刺激として咬筋へのホルマリン注入を行い、NRM における刺激 2 時間後の Fos タンパク陽性細胞数を計測することで、刺激に対するニューロン応答を評価した。

その結果、申請者は 1) ストレス群では非ストレス群に比べ、咬筋侵害刺激による Fos 陽性

細胞数の有意な増加を認めた。また、咬筋刺激において、生理食塩水投与群と比較し、5%ホルマリンを投与した群では、有意に Fos 陽性細胞数が増加すること、2) ストレス群への SSRI 反復投与により、NRM での咬筋侵害刺激による Fos 陽性細胞数は有意に減少した。一方、非ストレス群への SSRI 反復投与では、Fos 陽性細胞数に変化を認めないことを明らかにした。

これらの結果をもとに、申請者は、ストレスは脳内セロトニン機構の変調を引きおこし、NRM の興奮性を増大させることによって Vc の興奮を増大させ、咬筋侵害応答を増大すると考察している。本研究は、ストレス状態に認められる慢性疼痛憎悪の神経学的基盤には脳内セロトニン系の変化に伴う下行性疼痛制御系の病的変化があることを示した。さらに現在難治性慢性疼痛の患者に行われている抗うつ薬投与の科学的論拠と、投与に先立つストレス評価などの必要性も示した。

以上より本研究には学位論文として十分な価値があると考えた。論文内容に関する試問に対しても十分な回答を得ることができた。よって、博士（歯学）の学位を授与するにふさわしいと判断した。