

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 中谷 暢佑
学位 博士 (歯学)
学位記番号 新大院博 (歯) 第420号
学位授与の日付 平成31年3月25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 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.
(フルオキセチンは心理ストレスによる三叉神経脊髄路核尾側亜核・上位頸髄部での咬筋侵害応答の増強を抑制する)

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 井上 誠

博士論文の要旨

【目的】

心理ストレス (以下、ストレス) により痛みが増大することは知られており、顎顔面部の慢性痛の診断・治療では、それに伴う負の心理状態の評価と対応が重要である。またストレスによるうつなど負の心理状態の生成と痛みの処理機構は脳メカニズムを共有することから、ストレスと痛みは密接に関係する。慢性痛の病態としては、中枢神経系の機能変化が知られている。さらに動物実験により、ストレスによる顎顔面部の侵害応答 (痛み) の増大は、顎顔面部など三叉神経領域の侵害応答の処理において重要な部位である三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)の機能変化が関係することが分かっている。よってストレスを制御することでVcの機能変化を抑制することは、顎顔面部の慢性痛の軽減へとつながることが予想される。しかしながらストレスの軽減が、顎顔面部の慢性痛を軽減する脳メカニズムは不明である。また抗うつ薬であるセロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)はストレスを軽減することで、うつ状態を改善するが、そのメカニズムとしてはストレスにより変調した脳内セロトニン機構の改善による抗ストレス効果が知られている。本研究の目的は、ストレスおよびその軽減が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3点を調べることで明らかにすることである。

- 1) ストレスによって引き起こされるうつ様行動 (ストレス応答) に対するSSRI効果、
- 2) ストレスがVc部での咬筋侵害応答へ及ぼす影響、
- 3) SSRIがVc部での咬筋侵害応答へ及ぼす影響。

【方法】

雄ラットにストレス処置 (強制水泳ストレス、以下FST) (10分間日×3日) または非ストレス(Sham)処置を行った。FST処置中の非水泳時間をうつ様行動 (ストレス応答) の指標とした。各ストレス処置の30分後、フルオキセチン (以下、SSRI) (1mg/kg/日) または生食水を腹腔内投与した。以上の処置を実施した翌日、全身麻酔下、左側咬筋へ侵害刺激 (5%ホルマリン、0.02 ml) を施行し、2時間後、灌流固定を行った。Vc部での咬筋侵害応答は、神経興奮のマーカースとして脳機構の機能解析に頻用されるFosタンパク(Fos)の発現を免疫組織化学的に同定し、陽性細胞数を計測することで定量した。Fos発現は、三叉神経脊髄路核中間亜核(Vi)とVcの移行部の腹側部 (以下、ViVc部)、およびVcと頸髄の移行部 (以下、caudal-Vc部) で定量した。

これらの部位は顎顔面部侵害受容に重要な役割を担うことが示されている。

【結果】

- 1) FST処置によるうつ様行動 (ストレス応答) に対するSSRIの効果。
FST処置は有意に非水泳時間が延長したが、SSRIの連日投与群では非水泳時間の延長を認めなかった。
- 2) FST処置がVc部での咬筋侵害刺激によるFos発現におよぼす影響。
FST処置群ではSham群と比較し、ViVc部およびcaudal-Vc部で咬筋ホルマリン刺激によるFos陽性細胞数の有意な増加を認めた。

3) SSRI が Vc 部での咬筋侵害刺激による Fos 発現におよぼす影響

FST 処置群への SSRI の連日投与は、ViVc 部および caudal-Vc 部において、咬筋ホルモリン刺激による Fos 陽性細胞数の有意な減少を認めた。一方、Sham 群では、SSRI の連日投与は咬筋ホルモリン刺激による Fos 陽性細胞数を変化させなかった。

【考察】

Vc は顎顔面部の侵害情報を上位脳へ中継する部位であるだけでなく、上位脳からの下行性制御を受ける部位である。よって顎顔面部の侵害情報を処理する上で、重要な役割を担っている。また先行研究により Vc の興奮性の増大が顎顔面部の痛みの増大に関連することが示されている。本研究では、ストレスが、咬筋侵害刺激による Vc の興奮性を増大することを、Fos の発現を指標に明らかにした。つまりストレスによる咬筋痛の増大は、Vc の機能変化をメカニズムとすることが明らかとなった。さらに、脳神経系のセロトニン機構の変化はストレスによるうつ状態の基盤であることから、ストレスによる Vc を興奮させるメカニズムとしてセロトニン機構の関与に着目した。そしてストレス軽減がストレスによる侵害応答の増大を軽減すると予想し、SSRI を投与したところ、ストレス応答（うつ様行動）は軽減し、Vc 部での咬筋侵害応答を低下させることを示した。非ストレス群では SSRI 投与による Fos の発現に変化を認めなかった。つまりストレス状態でのセロトニン機構の変調が、Vc 部での Fos 陽性細胞数の増加に関与することが考えられた。

【結論】

心理ストレスは、セロトニン機構を含む脳神経系の機能を変化させることで、Vc の機能を変化させ、咬筋での侵害応答の増大を引き起こすことが示唆された。

審査結果の要旨

慢性疼痛は、通常行われる治療の効果が低く、痛みが長期間続き、生活の質 (QOL) に大きな支障が出ている状態をいう。慢性疼痛の要因には、炎症や関節の変形、軟骨の変性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ものがあり、これらの要因が互いに密接に関連することで疼痛の慢性化、難治化に繋がっていると考えられている。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という“負の悪循環”がしばしば引き起こされ、慢性疼痛の治療がさらに困難なる場合がある。顎顔面領域でも難治性の慢性疼痛患者がうつ病を併発する例が知られ、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が、実際の患者ではすでに複数の因子が絡み合っており、患者個々の病態も均一ではないため、詳細なメカニズムの解明は未だなされていない。そこで申請者は、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るという本研究を立案した。強制水泳 (FST) によるストレス処置を行った動物において顎顔面領域への深部侵害刺激 (咬筋へのホルモリン注入) が侵害情報の感覚上行路における最初の中継部位である三叉神経脊髄核核尾側亜核 (Vc) ニューロンの興奮性を増大するという最近の知見をもとに、申請者はストレスが脳内のセロトニン機構を変化させることが、Vc ニューロンの興奮性の変化をもたらすとの仮説を立てた。仮説を明らかにするために、同様のストレスモデル動物で、ストレス処置後に抗うつ薬であるセロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) であるフルオキセチンを投与し、あらかじめ脳内セロトニンレベルの低下を抑制することが、その後に加えられる侵害刺激に対する Vc ニューロンの応答性を調べた。

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モリン注入を行い、Vc 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) FST とその後の生理食塩水注入を 3 日間繰り返すことでうつ様行動が誘発され、そのような動物では咬筋ホルモリン刺激後の Vc における Fos 陽性細胞数が両側生じ増加することを確認することで、過去の研究結果を確認した上で、2) FST 後に SSRI を投与することでうつ様行動の誘発が抑制されること、3) SSRI を投与した群では、咬筋侵害刺激による Vc における Fos 陽性細胞数の増加が両側生じ抑制させることを明らかにした。

SSRI はストレス応答 (うつ様行動) 応答を軽減させるだけでなく、Vc 部での咬筋侵害応答を低下させるという結果をもとに、申請者は、ストレス状態でのセロトニン機構の変調が Vc の機能を変化させ、咬筋での侵害応答の増大を引き

起こすと考察している。

本研究はストレス状態にあるものは侵害刺激に対する応答性が高まっており、同様の侵害刺激に対して、健常者よりも強い痛みやそれに伴う中枢神経系の可塑的な変化が誘発されやすい状態にあり、高い疼痛慢性化のリスクがあることを示した。その神経学的基盤として、ストレスそのものによる脳内セロトニン系の変化が脳内セロトニン濃度の低下を惹起させ、このことがうつ状態の発症だけでなく、慢性痛の要因となることを示した。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。