

予備審査の学位論文の要旨

（又は，学位論文の要旨）

No. 1

論文題名	
幼少期ストレス負荷後の成熟期における神経障害性疼痛の増悪機構の解明	
氏 名	西 中 崇
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> 学籍番号若しくは 94121003 所属機関名 </div>
主 論 文	
1. Nishinaka T., Nakamoto K., Tokuyama S., Enhancement of nerve-injury-induced thermal and mechanical hypersensitivity in adult male and female mice following early life stress, <i>Life Sci.</i> , 121, 28-34 (2015). 2. Nishinaka T., Kinoshita M., Nakamoto K., Tokuyama S., Sex differences in depression-like behavior after nerve injury are associated with differential changes in brain-derived neurotrophic factor levels in mice subjected to early life stress, <i>Neurosci. Lett.</i> , 592, 32-36 (2015). 3. Nishinaka T., Nakamoto K., Tokuyama S., Exposure to early life stress induces sex-dependent increases in the phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase in the brains of mice with neuropathic pain, <i>Eur J Pain.</i> , papers in revision 4. Nishinaka T., Shimojo M., Nakamoto K., Tokuyama S., Early life stress causes sex-dependent changes NMDA and dopamine receptor expression in the medial prefrontal cortex of mice with neuropathic pain. <i>Neuroreport</i> Submitted	
要 旨	
<p>【緒言】</p> <p>炎症や組織の障害によって引き起こされる慢性に生じる痛みは、全く不必要な感覚であり、治療の対象となりうる。本邦において、慢性疼痛の患者数は約 2700 万人であると推計されており、多くの国民が痛みを抱え、それが生活の質の低下を来す一因となっている。慢性の痛みを引き起こす原因の一つに神経障害性疼痛があり、これは、神経系の一次的損傷あるいは機能的障害によって発生する痛みであり、慢性疼痛の中でも既存の治療薬が奏功しにくいことが知られている。痛みは不快な情動を伴うことから、神経障害性疼痛では</p>	

不安障害や抑うつなどの情動障害を合併することが多い。したがって、痛みは慢性化するに従い、器質的異常だけでなく、精神的、心理的、社会的な要因が複雑に関与して、痛みを増悪させ、遷延させることが示唆されている²⁾。以上のことから、痛みを慢性化させないことが重要であり、そのためには、痛みの早期発見・早期治療に加えて、慢性化に関係する精神的、心理的、社会的な要因による影響を明らかにする必要がある。

痛みの慢性化につながる精神的・社会的な要因の一つに幼少期の養育環境が挙げられる。幼少期に虐待を受けた人では慢性疼痛の一つである線維筋痛症の発症リスクが高くなることが報告されている³⁾。さらに、母親の死別や経済的な問題のある家庭で育った子供は、成人期における慢性的な広汎性疼痛の発症リスクが高くなることが示されている⁴⁾。このように、幼少期に受ける過度のストレスによって痛みが増悪・慢性化する機構が形成されていることが示唆される。幼少期ストレスと慢性疼痛の関係性を明らかにすることで、痛みが慢性化しやすい、あるいは強い痛みが生じやすい人の特徴を把握でき、慢性疼痛治療において重要とされる早期発見・早期治療に貢献できるものと思われる。

そこで、本研究においては、幼少期のストレス負荷による成熟期における神経障害性疼痛に対する影響に関して解析を行った。さらに、成熟期の神経障害性疼痛に影響を及ぼす因子の探索ならびに脳内の神経機能に及ぼす影響についての検討も加えた。

【方法】

実験には、ddY 系のマウスを使用した。幼少期ストレスとして、母子分離と隔離飼育ストレスを組み合わせたモデル (maternal separation and social isolation; MSSI) を用いた。生後 2 週目から 3 週目の間に、1 日 6 時間仔マウスを別々のケージに移し母子分離を行い、生後 3 週目以降は単独で飼育することで隔離飼育ストレスを与えた。Control は母子分離を行わず、離乳後はグループ飼育したものをを用いた。7 週齢時において、elevated plus-maze (EPM) 試験、open field 試験、social interaction 試験、sucrose preference 試験を用いて情動行動の評価を行った。9 週齢時において、坐骨神経部分結紮 (partial sciatic nerve ligation; PSL) により神経障害性疼痛モデルを作製した。疼痛行動の評価には、von Frey 試験 (機械的刺激) ならびに Plantar 試験 (熱的刺激) を用いた。神経障害性疼痛後の情動機能の評価には、抑うつ様行動の評価系である強制水泳試験を用いた。脳内の BDNF (brain-derived neurotrophic factor) タンパク質発現は、Western blot 法を用いて検討した。各脳部位における神経細胞の活性化マーカーである p-ERK の発現は、免疫組織学的手法を用いて解析した。

【結果】

1. 体重変化に対する MSSI の影響

雄性ならびに雌性マウスにおいて、体重変化に対して MSSI による有意な変化は認められなかった。

2. 成熟期の情動機能に対する MSSI 影響

Open field 試験における総行動量に関して、雄性ならびに雌性マウスにおいて MSSI による有意な変化は認められなかった。雄性マウスでは、MSSI は center zone 滞在時間に有意な影響を示さなかった。一方、雌性マウスでは、MSSI により center zone 滞在時間の有意な低下が認められた。EPM 試験において、MSSI は雌性マウスにおいてのみ open arm 滞在時間の有意な減少を引き起こした。Social interaction 試験において、雄性ならびに雌性マウスの Control 群では、no target session と比較して target session における interaction zone 滞在時間が有意に増加した。MSSI は target session における interaction zone 滞在時間を雄性ならびに雌性マウスにおいて有意に減少させた。MSSI は雄性ならびに雌性マウスにおいて、Control と比べて Sucrose preference を有意に減少させた。

3. 坐骨神経障害後の熱的痛覚過敏に対する MSSI の影響

ストレス負荷のみでは、雄性・雌性マウス共に熱的刺激に対する反応性に影響は認められなかった。しかし、PSL 処置により痛みを惹起したところ、ストレス負荷群では対照群と比べて、雄性・雌性マウスともに熱的刺激に対する反応性の有意な亢進が認められた。

4. 坐骨神経障害後の機械的痛覚過敏に対する MSSI の影響

雄性ならびに雌性マウスにおいて、後肢処置側ならびに反対側における反応回数は Control と MSSI の間に有意な変化は認められなかった。PSL 処置 1、2 週間後の雄性ならびに雌性マウスにおいて、0.16g の filament に対する後肢処置側の反応回数は MSSI では control と比較して有意な増加が認められた。同様に、0.4g の filament に対する後肢処置側の反応回数は MSSI では Control と比較して有意な増加が認められた。PSL は Control において、後肢反対側における反応回数に影響を与えなかった。一方、MSSI は雄性ならびに雌性マウスにおいて、後肢反対側における反応回数を有意に増加させた。

5. 坐骨神経結紮後の抑うつ様行動に対する MSSI の影響

雄性マウスにおいて、PSL は Control ならびに MSSI において無動時間に影響は認められなかった。一方、雌性マウスでは、PSL は MSSI においてのみ無動時間を増加させた。

6. 脳内 BDNF 発現に対する MSSI の影響

3 週齢時において、母子分離は雄性マウスにおける海馬ならびに線条体の BDNF 発現量を有意に増加させた。反対に雌性マウスでは、母子分離は線条体における BDNF 発現量を有意に低下させた。

神経障害性疼痛後の情動障害が認められた PSL 処置 3 週間後（12 週齢時）では、MSSI による BDNF 発現変化はいずれの脳領域において認められず、さらに PSL 処置も BDNF 発現に影響しなかった。

7. 脳内 p-ERK 発現に対する MSSI の影響

雄性マウスにおいて、内側前頭前皮質、側坐核では p-ERK 陽性細胞数に対する MSSI の影響は認められなかった。室傍核ならびに扁桃体では、MSSI による p-ERK 陽性細胞数の増加が sham 群において認められた。一方、雌性マウスでは、MSSI は sham 群において内側前頭前皮質ならびに側坐核における p-ERK 陽性細胞数を有意に増加させた。さらに、室傍核と扁桃体では、MSSI は PSL 群において p-ERK 陽性細胞数を有意に増加させた。

【考察】

以上、本研究から、幼少期のストレスは成熟期における神経障害性疼痛を増悪し、痛みによる情動障害にも影響を及ぼすこと、加えて、幼少期ストレスによる影響には性差が認められることが示された。さらに、幼少期ストレス負荷後早期あるいは成熟期の脳内における物質的な変化が、痛みの増強や情動障害の増悪に関与していることが示された。

今後、今回確立したモデルをより詳細に解析することにより、痛みの増悪あるいは慢性化機構の解明に寄与すると考えられる。将来的には、慢性疼痛治療において重要とされる早期発見・早期治療に貢献できるものと期待される。

文 献

1. Ogawa S, Iseki M, Kikuchi S. A large-scale survey on chronic pain and neuropathic pain in japan. *J. Japanese Clin. Orthop. Assoc.*, **47**, 565–574 (2012).
2. Ministry of Health, Labour and Welfare
<<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2010/06/dl/s0601-7a.pdf>>
3. Imbierowicz K., Egle U.T. Childhood adversities in patients with fibromyalgia and somatoform pain disorder. *Eur. J. Pain*, **7**, 113–9 (2003).
4. Jones G.T., Power C., Macfarlane G.J. Adverse events in childhood and chronic widespread pain in adult life: Results from the 1958 British Birth Cohort Study. *Pain*, **143**, 92–6 (2009).