幼少期ストレスが 成熟期における慢性疼痛に及ぼす影響

西中 崇, 中本賀寿夫, 徳山 尚吾

要約: 近年, 幼少期における精神的あるいは身体的な虐待が大きな社会問題となっている。幼少期の不適切な養育環境を経験することによって, 成人期における精神疾患の発症リスクが増加することが報告されている。幼少期のストレスによる脳の機能的あるいは構造的な変化が成人期における精神疾患の発症に関与すると考えられている。さらに, 幼少期のストレスは, 成人期の精神疾患のみならず慢性疼痛の発症リスクを増加させることも報告されている。近年, 痛みの慢性化には, 脳内における神経の機能変化が関与していることが示唆されていることから, 幼少期ストレスは脳内の疼痛制御機構に対しても影響を与えることが示唆される。これまでに, 幼少期ストレスと疼痛, 特に治療対象となる慢性疼痛との関係については, 臨床的なエビデンスは得られているものの, そのメカニズムは不明な点が多い。また, 基礎研究に関してはほとんど検討されていない。そこで我々は, マウスを用いて幼少期ストレスによる成熟期における慢性疼痛の影響について解析を試みた。幼少期ストレスは成熟期のマウスにおいて情動機能障害を引き起こした。幼少期ストレスのみでは疼痛行動に対する影響は認められなかった。しかし, 神経障害性疼痛で認められる痛覚過敏は, 幼少期ストレスによって増強した。さらに, 幼少期ストレスは, 神経障害性疼痛後の情動機能障害を雌性マウスにおいてのみ増悪させた。神経系の発達や情動機能の調節にかかわる brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の脳内における発現変化が, ストレス負荷直後の幼少期においてのみ認められた。本研究の結果から, マウスにおいて幼少期ストレスは成熟期における神経障害性疼痛を増強することが示唆された。本モデルは幼少期ストレスと慢性疼痛の相互関係に関わる分

子的なメカニズムを明らかにするための有用なモデルになることが示唆された。

1. はじめに

日本国内では親などによる子供に対する虐待が深刻な社会問題となっている。平成 27 年度の厚生労働省による調査では, 全国の児童相談所が対応した児童虐待の相談件数は 8 万 8931 件であり, 児童虐待は年々増加の一途をたどっている。この数値には, 虐待そのものの自体の発生数の増加に加え, これまで見逃されていた虐待が認知され, 積極的に対応されていることが反映されていると考えられる。すなわち, 社会全体が児童虐待を含めた幼少期のストレスに対して関心が高くなっていることが窺える。したがって, 幼少期ストレスが成人期の生体に及ぼす影響を明らかにすることは重要な課題である。

以前から, 幼少期ストレスと情動ならびに精神機能の関係が着目されている。幼少期は脳神経系の発達が行われている時期であり, 過剰なストレスが加わることによってその発達に異常をきたし, 成人期の情動や精神機能に影響すると考えられている。実際に, 虐待を経験した人では, 情動機能の調節にかかわる前頭前皮質や海馬において脳領域の体積変化が認められている(1)。さらに, 幼少期のストレスにより内分泌系の異常が認められ, この異常が成人期におけるストレスの反応性に関わることが示唆されている(2)。これらの異常は, マウス等の動物を用いた基礎研究でも認められており, 生後間もない仔を一時的に母親と別々に飼育する母子分離が, 幼少期ストレスによる影響を分子的に解析するための動物モデルとして利用されている(3, 4)。

キーワード: 幼少期ストレス, 神経障害性疼痛, 不安, 抑うつ
神戸学院大学 薬学部 臨床薬学研究室 (〒650-8586 神戸市中央区港島 1-1-3)
E-mail: stoku@pharm.kobegakuin.ac.jp 原稿受領日: 2016 年 5 月 18 日, 依頼原稿
Title: Influence of early life stress on the chronic pain in maturation period
Author: Takashi Nishinaka, Kazuo Nakamoto, Shogo Tokuyama

幼少期ストレスは、疼痛制御に対しても影響を及ぼすことが示されている。例えば、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(5)。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(6)。このように、幼少期ストレスによって痛みが増悪・慢性化することが示唆される。しかし、その分子的なメカニズムについては不明である。また、これまでに実験動物において、慢性疼痛に対する幼少期ストレスの影響について解析した報告はわずかである。

そこで我々は、幼少期ストレスと慢性疼痛の関係を明らかにすることを目的として、マウスを用いたモデルの確立を行い、行動ならびに分子的なメカニズムの解析を行った。

2. 慢性疼痛に対する幼少期ストレスの影響

我々は幼少期ストレスとして、母子分離と社会隔離(maternal separation and social isolation : MSSI)を組み合わせたモデルを用いた(7)。生後2週目から3週目にかけて母子分離を行い、離乳後は実験終了まで個別ケージで飼育することによって社会隔離ストレスを負荷した。MSSI負荷群では、成熟期の7週齢以降に情動機能の障害が認められ、特に雄性マウスに比べて雌性マウスにおいて情動機能の障害が強くと認められた(8)。しかしながら、マウス後肢における機械的・熱的刺激に対する痛み感受性にMSSI負荷の影響は認められなかった。一方、幼少期ストレスによって機械的・熱的刺激に対する反応性に変化が認められることも報告されている。マウスにおいて、生後2~14日目における1日3時間の母子分離によって成熟期における機械的刺激に対する反応性が亢進することが示されている。さらに、母子分離を経験したマウスの体性感覚野では、神経伝達を担うグルタミン酸神経系やスパイン構造の変化が認められることが報告されている(9,10)。これらの知見は、幼少期のストレスによって痛みの調節を担う脳内のシステムが影響を受け、痛みの制御に影響を及ぼすことを示唆する。しかし、我々のモデルにおいて生後2~3週の時期における母子分離では、痛みや感覚刺激に対する変化が認められないことから、痛みの調節を担う神経系の発達には外界からの影響を受けやすい臨界期のようなものが存在することが考えられる。これまでに、脳内の疼痛制御系の発達様式については詳細に明らかにされていないことから、幼少期ストレスと疼痛制御系の発達との関係に

ついては今後の研究成果に期待したい。

次に慢性疼痛のモデルとして、後肢を支配する坐骨神経を部分結紮(partial sciatic nerve ligation : PSL)することによって作成される神経障害性疼痛を用いた。ストレスを負荷していないコントロールマウスでは、PSL処置側の後肢において機械的・熱的刺激に対する反応性の増加が認められる。MSSI負荷した雄性・雌性マウスでは、コントロール群に比べて、機械的・熱的刺激に対するさらなる強い反応性が認められた(図1)。興味深いことに、MSSI負荷マウスでは、PSL処置の反対側後肢においても機械的・熱的刺激に対する反応性の増加が認められた(8)。片側の末梢神経障害が、反対側にも影響を及ぼすことは知られている。このような現象は、痛みの程度が強い場合に共通して認められている(11)。最近、Burkeらもラットを用いて生後9日目における24時間の母子分離が、成熟期の雌性ラットにおける神経障害性疼痛を増強することを報告している(12)。以上の知見から、幼少期のストレス負荷は成熟期における神経障害性疼痛を増強させることが示唆される。さらに、我々の検討において、MSSI負荷しPSL処置の3週間後において、雌性マウスのみに神経障害性疼痛後の抑うつ様行動も観察された(13)。この結果は、ストレス負荷により神経障害による痛覚過敏を増強し、痛みを惹起してから4週間以内に情動障害を引き起こすという他のストレスモデルを用いた過去の研究結果と一致している(14)。したがって、ストレス負荷は痛みによる情動機能障害の進行を早めるはたらきがあることが示唆される。以上の結果より、MSSI負荷は神経障害による痛覚過敏の増強だけでなく痛みによる情動障害も増悪させることが示唆される。また、MSSI負荷による神経障害性疼痛の増強は雄性ならびに雌性マウスにおいて認められたにもかかわらず、神経障害性疼痛後の情動障害に対しては雌性マウスにおいてのみ変化が認められた。このことは、慢性疼痛に伴う情動障害が男性よりも女性の方が高い罹患率を示すことを報告した臨床研究の結果と一致している点において興味深い(15)。

3. 幼少期ストレスによる神経障害性疼痛の増悪に対するBDNFの関与

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)は神経成長因子の1つであり、その受容体であるtropomyosin-related kinase B (TrkB)を介して様々な生理作用を示す(16)。神経系の発達期では、BDNFはシナプス形成や神経の成長、分化や生存に関わる。また、成熟した脳内においても、BDNFは神経の可塑的变化やシナプ

図1 神経障害性疼痛後の痛覚過敏に対する幼少期ストレスの影響

(A, B) 神経障害後の熱痛覚過敏. (C, D) 神経障害後の機械的痛覚過敏. (A, C) 雄性マウス. (B, D) 雌性マウス. 8週齢時に、坐骨神経を結紮することで神経障害性疼痛モデルを作製した. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. PSL: partial sciatic nerve ligation. MSSI: maternal separation and social isolation. (文献8より改変)

図2 脳内 BDNF 発現に対する母子分離の影響

(A) 雄性マウス. (B) 雌性マウス. 母子分離終了後の3週齢時において各脳部位における BDNF 発現を解析した. * $P < 0.05$. BDNF: brain derived neurotrophic factor. MSSI: maternal separation and social isolation. (文献13より改変)

ス伝達の調節など、神経系の機能維持において重要な役割を果たす。特に、近年では BDNF による情動機能の調節が注目されており、うつ病などの精神疾患患者において、脳内や血清中の BDNF が低下しているとの報告があることから、精神疾患の病態に関わる因子であることが示唆されている(17, 18)。さらに、脳内 BDNF 発現変動は幼少期ストレスや慢性疼痛においても認められる(19, 20)。そこで我々は、幼少期あるい

は成熟期における脳内 BDNF 発現に対する MSSI 負荷の影響を検討した。

母子分離直後の3週齢時では、情動機能の調節に関わる前頭前皮質、海馬や線条体において BDNF 発現量の変動が認められたが、神経障害性疼痛の増悪が認められた成熟期では、BDNF 発現量に変化はなかった(図2)。近年、幼少期ストレスはエピジェネティックな機構を介して脳内 BDNF 発現を長期的に変動さ

せることが報告されているが(21), 今回の結果では BDNF の発現変動は幼少期の一過性であることから, エピジェネティックな機構ではない, 別のメカニズムを介していることが考えられる. これまでに, BDNF の発現変動が情動機能の障害と相関する一方で, BDNF ノックアウトマウスを用いた解析では, 顕著な行動変化が認められないとの報告もある(22). BDNF は神経系の成熟過程において重要な役割をもつこと, さらに, ストレスに対する感受性に影響することから, 母子分離後の幼少期における BDNF 発現変動が成熟期における情動機能の障害や神経障害性疼痛の増悪に影響している可能性が考えられる. 興味深いことに, 幼少期ストレスによって脳内において転写調節因子である REST4 (repressor element-1 silencing transcription factor 4) の発現が変動し, 成熟期のストレス応答に影響を与えることが報告されているが, この REST4 を成熟期において強制的に発現変動させても, ストレス応答に変化が認められない(23). 幼少期は神経系の成熟化が活発に行われている時期であり, この時期における BDNF の発現変動は, 成熟期における神経機能に強く影響を及ぼすことが考えられる. 幼少期ストレスやコルチコステロン処置によって引き起こされる抑うつ様行動の発現と BDNF-TrkB シグナルの変化は相関があるとされている(24). 一方, 神経障害性疼痛によって海馬における BDNF 発現量が減少することが報告されている(25). さらに, BDNF の生合成を促進する薬剤である 4-methylcatechol を脳室内投与することで, 神経障害性疼痛後の抑うつ様行動が改善することが明らかになっていることから, 痛みに伴う情動機能の障害においても BDNF がその病態形成に関与していることが考えられる(26). したがって, 幼少期ス

トレス負荷による BDNF 発現量の変動は, 成熟期における神経障害性疼痛後の情動障害発現に関与することが示唆される. 今回の結果から, 成熟期において BDNF 発現自体は幼少期ストレス負荷による変化が認められないことから, BDNF の下流にあるシグナル因子や神経の形態変化について今後検討していく必要がある.

母子分離直後の BDNF 発現変動には性差が認められており, 海馬では雄性マウスにおいてのみ発現の上昇が認められた. 海馬における BDNF の役割として神経新生の調節が挙げられる. 海馬における神経新生はストレス応答に影響することが知られ, 海馬の神経新生を低下させたマウスでは, ストレス負荷後のコルチコステロンの分泌量が増加し, 抑うつ様行動を示すことが報告されている(27). 一方, 慢性的な抗うつ薬の投与は海馬の神経新生を亢進させ, 同時に BDNF 発現量の増加を引き起こす(28, 29). さらに, 海馬の BDNF 発現量を増加させることで, ストレスに対する抵抗性を示し(30, 31), 幼少期ストレスは海馬におけるグルコルチコイド受容体の発現量を持続的に減少させることで, ストレスに対する脆弱性を惹起する(2). したがって, 雄性マウスの海馬における母子分離後の BDNF 発現量の増加は, 神経障害性疼痛後の情動障害の影響を減弱させるために作用していることが示唆される. 一方, 線条体では母子分離直後の雄性マウスにおいて, 一過性の BDNF 発現上昇が認められ, 雌性マウスでは発現低下が認められた. 特に線条体の一部である側坐核はストレス応答の調節において重要な役割を持つことが示唆されており, 社会敗北ストレスは抑うつ様行動を引き起こし, 側坐核における BDNF 発現量を増加させると言われている(32). ま

図3 神経障害性疼痛に対する幼少期ストレスの影響と BDNF 発現変動の関与

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, 特に痛みによる情動障害には雄性マウスに比べ, 雌性マウスにおいて強く影響を及ぼす. この痛みによる情動機能の障害増悪における性差には, 幼少期ストレス負荷時もしくは直後の脳内 BDNF の変動が関与していることが示唆される.

た, 線条体の神経発達において, 特に BDNF シグナル系が重要であることが知られている (33). したがって, 幼少期ストレスによる BDNF 発現変動の性差は, 成熟期におけるストレス脆弱性の性差に関与しているかもしれない. さらに, これら海馬や線条体といった脳領域は, 神経障害性疼痛時に神経の機能変化が引き起こされ, 痛みによる情動障害と関係があることが報告されている (34). これらの知見を踏まえると, 神経障害性疼痛後の情動障害における性差は幼少期ストレス負荷直後の脳内 BDNF の発現変動に関与していることが示唆される.

4. おわりに

以上, 本研究の結果から, 幼少期のストレスは成熟期において通常の痛み刺激に対する応答性には影響しないが, 神経障害性疼痛による痛覚過敏を増強させることが示唆された. 加えて, 幼少期のストレスは痛みによる情動機能障害を増悪させ, その影響には性差が認められた. さらに, この性差を引き起こすメカニズムとして, 幼少期ストレス負荷直後の脳内 BDNF 発現変化の違いが関与することが示唆された (図 3). 本モデルは幼少期ストレスと神経障害性疼痛の相互関係に関わる分子的なメカニズムを明らかにするための有用なモデルになることが示唆された. 今後, 今回確立したモデルをさらに詳細に解析することによって, 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.

著者の利益相反: 開示すべき利益相反はない.

文 献

- 1) Cohen RA, et al. *Biol Psychiatry*. 2006;59:975-982.
- 2) Hackman DA, et al. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11:651-659.
- 3) Pryce CR, et al. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003;27:57-71.
- 4) Melo AI, et al. *Dev Psychobiol*. 2006;48:209-219.
- 5) Imbierowicz K, et al. *Eur J Pain*. 2003;7:113-119.
- 6) Jones GT, et al. *Pain*. 2009;143:92-96.
- 7) Niwa M, et al. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2011;14:459-477.
- 8) Nishinaka T, et al. *Life Sci*. 2015;121:28-34.
- 9) Takatsuru Y, et al. *Front Mol Neurosci*. 2015;8:15.
- 10) Takatsuru Y, et al. *Brain Res*. 2009;1294:45-51.
- 11) Descalzi G, et al. *Mol Pain*. 2012;8:90.
- 12) Burke NN, et al. *J Pain*. 2013;14:1173-1184.
- 13) Nishinaka T, et al. *Neurosci Lett*. 2015;592:32-36.
- 14) Norman GJ, et al. *Mol Psychiatry*. 2010;15:404-414.
- 15) Tsang A, et al. *J Pain*. 2008;9:883-891.
- 16) Leal G, et al. *Neuropharmacology*. 2014;76:639-656.
- 17) Guilloux JP, et al. *Mol Psychiatry*. 2012;17:1130-1142.
- 18) Duman RS. *Neuromolecular Med*. 2004;5:11-25.
- 19) Thibault K, et al. *J Neurosci*. 2014;34:14739-14751.
- 20) Kikusui T, et al. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34:762-772.
- 21) Roth TL, et al. *Biol Psychiatry*. 2009;65:760-769.
- 22) Jiang C, et al. *Transl Neurosci*. 2013;4:46-58.
- 23) Uchida S, et al. *J Neurosci*. 2010;30:15007-15018.
- 24) Hill RA, et al. *Hippocampus*. 2014;24:1197-1211.
- 25) Al-Amin H, et al. *Exp Neurol*. 2011;228:30-40.
- 26) Fukuhara K, et al. *Cell Mol Neurobiol*. 2012;32:971-977.
- 27) Snyder JS, et al. *Nature*. 2011;476:458-461.
- 28) Li Y, et al. *Neuron*. 2008;59:399-412.
- 29) Nibuya M, et al. *J Neurosci*. 1996;16:2365-2372.
- 30) Taliaz D, et al. *J Neurosci*. 2011;31:4475-4483.
- 31) Toth E, et al. *J Neurochem*. 2008;107:522-532.
- 32) Berton O, et al. *Science*. 2006;311:864-868.
- 33) Baydyuk M, et al. *J Neurosci*. 2013;33:3363-3369.
- 34) Yalcin I, et al. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014;47:154-164.