

長期抑圧の際の AMPA 受容体のエンドサイトーシスおよびリソソームへの輸送は Stargazin の脱リン酸化により制御される

松田信爾, 柚崎通介 (慶應大・医・生理学教室)

神経細胞間の情報伝達効率は神経活動に依存して変化することが知られており, この現象はシナプス可塑性と呼ばれている. このシナプス可塑性は記憶や学習といった高次脳機能の細胞レベルの基盤と考えられており, その分子機構について多くの研究がなされて, 重要な知見が得られつつある. 例えば, シナプス可塑性の1形態である長期抑圧 (LTD) が誘導される分子機構として, 以下のようなモデルが提唱されている. 神経活動が亢進すると, 神経細胞の NMDA 受容体が活性化され, 神経細胞内のカルシウム濃度が上昇し, カルシニューリンが活性化され, AMPA 型グルタミン酸受容体に強固に結合する TARP (Transmembrane AMPA receptor Regulatory Protein) が脱リン酸化される. この脱リン酸化が引き金となり, AMPA 受容体がクラスリン依存性のエンドサイトーシスにより, 初期エンドソームへと輸送され, 細胞表面の, シナプス伝達に関与する AMPA 受容体の量が減少し長期抑圧が引き起こされると考えられている.

一方, このモデルではまだ明らかにされていない点も多数存在する. 例えば, TARP の脱リン酸化が LTD の誘導に必須であることが知られているが, なぜ, この脱リン酸化が LTD 誘導の引き金となるのかは明らかにされていない. さらに AMPA 受容体は LTD 誘導刺激を受けた後, シナプス表面から初期エンドソームに輸送されることが知られているが, その後どのように処理されるのかといった点についても明らかにされていない.

我々は, TARP の脱リン酸化がなぜ AMPA 受容体のエンドサイトーシスを引き起こすのかを解明することを目的として研究を開始した.

以前の研究から, TARP の C 末細胞内領域がアダプタータンパク質の1つである AP-4 に結合することが明らかになっていた [1]. そこで, AP-4 以外のアダプタータンパク質, つまりエンドサイトーシスに必須の働きをする AP-2 や初期エンドソームから後期エンドソームおよびリソソームへの輸送を司る AP-3A にも結合するのではないかと考えた. そこで TARP の C 末細胞内領域を GST 融合タンパク質として精製し, AP-2 および, AP-3A に結合するかどうかを解析した. その結果, TARP の C 末は AP-4 と同様に AP-2 や AP-3A にも結合することが明らかになった. さらに興味深いことに TARP のアダプタータンパク質結合領

域には TARP のリン酸化されるセリン残基が含まれることも明らかになった. そこでこれらのセリンをアラニンに置換した, 脱リン酸化状態を模倣した TARP そしてアスパラギン酸に置換したリン酸化状態を模倣した TARP を GST 融合タンパク質として精製し, アダプタータンパク質との結合性を解析した. その結果, 脱リン酸化型の TARP は AP-2, AP-3A に結合するがリン酸化型は結合しないことが明らかになった. つぎに AP-2 には結合できないが AP-3A には結合できない変異 TARP (TARPDAP2), AP-3A には結合できないが AP-2 には結合できる変異 TARP (TARPDAP3A) を作成し, これらの TARP が AMPA 受容体の細胞内輸送にどのような影響があるかを解析した. その結果, TARPDAP2 を発現させた神経細胞では LTD 誘導刺激を与えても, AMPA 受容体のエンドサイトーシスが引き起こされないことが明らかになった. さらに ARPDAP3A を発現させた神経細胞では LTD 誘導刺激を与えた場合, AMPA 受容体は一旦エンドサイトーシスによって初期エンドソームに取り込まれるが, 後期エンドソームには輸送されず, 細胞表面にすぐにリサイクルされることが明らかになった. またこれらの変異 TARP を発現させた神経細胞では電気生理学的な LTD も引き起こされないことを明らかにした.

これらの結果から, LTD 誘導刺激が神経細胞に加わり, TARP が脱リン酸化されると, AMPA 受容体-TARP 複合体は AP-2 に結合することにより, エンドサイトーシスによって初期エンドソームに輸送され, その後, AP-3A に結合することで後期エンドソーム, リソソームへと運ばれることで, 細胞表面にリサイクルされことなく長期にわたって細胞表面の AMPA 受容体量が減少し LTD が引き起こされると考えられる.

本シンポジウム発表について, 開示すべき利益相反関係にある企業等はない.

1. Matsuda et al: *Neuron* **57**: 730-745, 2008

Non-apoptotic role of caspase-3 in synapse refinement

Zhen-Ge Luo (Institute of Neuroscience, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, China.)

During the development of vertebrate neuromuscular junction (NMJ), agrin stabilizes, whereas acetylcholine (ACh) destabilizes AChR clusters, leading to the refinement of synaptic connections. The intracellular mechanism

underlying this counteractive interaction is not completely understood. Here we show that caspase-3, the effector protease involved in apoptosis, mediates elimination of AChR clusters. We found that caspase-3 was activated by cholinergic stimulation of cultured muscle cells without inducing cell apoptosis and this activation was prevented by agrin. Interestingly, inhibition of caspase-3 attenuated ACh agonist-induced dispersion of AChR clusters. Furthermore, we identified Dishevelled1 (Dvl1), a Wnt signaling protein involved in AChR clustering, as the substrate of caspase-3. Specific blockade of Dvl1 cleavage also prevented induced dispersion of AChR clusters. Finally, inhibition or genetic ablation of caspase-3 resulted in stabilization of aneural AChR clusters. Thus, caspase-3 plays an important role in the elimination of postsynaptic structures during the development of NMJs.

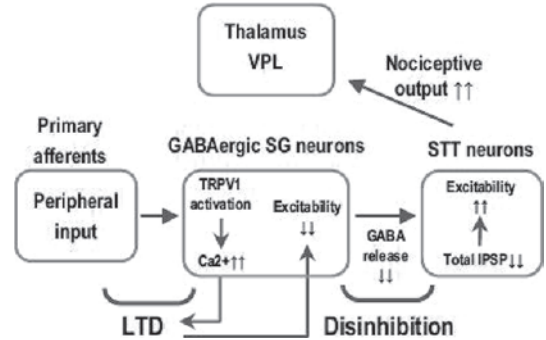
There is no conflict of interest.

1. Sanes et al: Nat Rev Neurosci 2: 791–805, 2001
2. Lin et al: Neuron 46: 569–579, 2005
3. Chen et al: Neuron 55: 247–260, 2007

A Critical Role of Central TRPV1 in the Nociceptive Circuitry of Spinal Dorsal Horn

Seog Bae OH (National Research Laboratory for Pain, Department of Neurobiology and Physiology, School of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea.)

Neuropathic pain and mechanical allodynia may arise from sensitization of central circuits. In this symposium, I will present a novel mechanism of disinhibition-based central sensitization resulting from long-term depression (LTD) of GABAergic interneurons as a consequence of TRPV1 activation in the spinal cord. Intrathecal administration of TRPV1 agonists led to mechanical allodynia that was not dependent on peripheral TRPV1 neurons. TRPV1 was functionally expressed in GABAergic spinal interneurons and activation of spinal TRPV1 resulted in LTD of excitatory inputs and a reduction of inhibitory signaling to spinothalamic tract (STT) projection neurons. Mechanical hypersensitivity after peripheral nerve injury was attenuated in TRPV1^{-/-} mice but not in mice lacking TRPV1-expressing peripheral neurons. Mechanical pain



Schematic representation of TRPV1 activation in GABAergic SG neurons and hypothesized sequence of events for the genesis of pain hypersensitivity through disinhibition of nociceptive circuitry in the spinal cord.

was reversed by a spinally applied TRPV1 antagonist while avoiding the hyperthermic side effect of systemic treatment. Our results demonstrate that spinal TRPV1 plays a critical role as a synaptic regulator and suggest the utility of CNS-specific TRPV1 antagonists for treating neuropathic pain.

There is no conflict of interest.

1. Kim et al: Neuron 74 (4): 640–647, 2012

シナプス成熟と自閉症：シナプス接着因子の役割

田淵克彦^{1,2,3}, 張文欣³, Asgar Mohamed Nur Farehan³, Sudhof C. Thomas⁴, 重本隆一³

(¹信州大・医・神経生理学, ²科学技術振興機構 さきがけ, ³自然科学研究機構生理学研究所脳形態解析研究部門, ⁴スタンフォード大学医学部)

自閉症は社会的相互作用の障害, コミュニケーションの障害, 興味の範囲と行動の著しい限局性を特徴とする精神発達障害である。2~3歳頃にこれらの行動異常が現れることにより診断されるが, 原因が不明なため有効な治療法は存在しない。自閉症の症状は症例ごとに幅があり (このため自閉症スペクトラムと呼ばれる), 知的障害を伴う症例が多い一方, 特定の物事に対して著しい記憶能力を示す例も散見されている (自閉症サバン)。近年, 自閉症の原因としてシナプス異常との関係が注目されている。我々は, 自閉症患者から見つかった, シナプス後終末局在性細胞接着因子 Neuroligin-3 の451番目のアルギニンがシステインに置換された変異 (R451C変異) を有するノックインマウスを作成し, 自閉症との関係について解析を

行った。

このマウスは正常に発生、成長し、目立った外見的異常は見られなかった。初対面のマウスとの接触をモニターした社会的相互作用試験を行ったところ、R451C 変異マウスでは野生型に比較して接触時間の低下（社会的相互作用の障害を反映しているとされる）が見られた。原因を探るために、大脳皮質体性感覚野の II/III 層の錐体ニューロンのシナプス機能を電気生理学的に解析したところ、抑制性シナプス機能の選択的な亢進が認められた。これが自閉症の原因と関係しているかどうか確かめるために、R451C 変異マウスに GABA 遮断薬である picrotoxin を低用量腹腔内投与し、亢進した抑制性シナプス機能を改善して社会的相互作用の試験を行うと、初対面のマウスとの接触時間が野生型と同等まで回復した。このことから、このマウスにおいては大脳皮質の抑制性シナプス機能の亢進が社会的相互作用の障害の原因であることが示唆された。

また、モリス水迷路試験により、Neurologin-3 R451C 変異マウスでは空間学習記憶能力の著しい亢進が認められた。このメカニズムを探る目的で、海馬 CA1 領域の錐体細胞のシナプス機能を電気生理学的に解析したところ、このマウスでは長期増強 (LTP) の亢進および NMDA/AMPA 受容体応答比の上昇が認められた。R451C 変異マウスでは NMDA 受容体性応答の減衰時間の延長が見られることから、NMDA 受容体のサブユニット組成に関して NR2B が優位になっていると疑い、NR2B 特異的遮断薬である ifenprodil の効果を調べたところ、これに対する感受性の上昇が R451C 変異マウスで上昇していたことから、NR2B 優位であることが確認された。海馬錐体ニューロンの

興奮性シナプスは、成熟過程において、まず NR2B 優位の NMDA 受容体がシナプス後膜に挿入され、成熟に伴い AMPA 受容体がシナプス下膜へ加わり、同時期に NR2B 優位の NMDA 受容体はシナプス外膜へ移動し、代わって NR2A 優位の NMDA 受容体がシナプス下膜へ挿入される。これらを鑑みると、Neurologin-3 R451C 変異マウスの海馬のシナプスは、未熟な状態のシナプスが維持されている状態であることがうかがえる。興味深いことに、Neurologin-1 の過剰発現マウスでは形態学的にシナプスの成熟の亢進が見られるが、LTP の低下や空間学習記憶能力の低下など、R451C 変異マウスと真逆の表現系を示すことから、この変異では Neurologin のシナプス成熟効果が阻害されているものと考えられる。NR2B を過剰発現したマウスおよびラットでは、LTP の上昇などシナプスの可塑性が亢進し、同時に学習記憶能力の亢進が見られることが知られている。これは、子供が意味のないことを覚える単純記憶能力に優れることと一致する。

自閉症はヘテロジーニアスな疾患であり、全ての自閉症の原因を 1 つに絞ることは困難であるが、少なくともあるタイプの自閉症のモデルとして、シナプスの正常な成熟が障害されるために、成長に伴って獲得すべき社会性に異常をきたすと同時に、単純記憶に優れ、サバン症候群に見られる症状を生み出す原因となっているのではないかと考えられる。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Tabuchi et al.: *Science*. **318** (5847): 71–76, 2007
2. Etherton et al.: *Proc Natl Acad Sci U S A*. **108** (33): 13764–13769, 2011

組織培養法と細胞種特異的遺伝子導入法を用いたシナプス刈り込みのメカニズムの解明

上阪直史 (東京大・医・神経生理)

生まれたばかりの動物の神経系には、シナプスが過剰に存在しており、シナプスの密度は成熟脳の2倍程度にのぼる。しかしこの時期のシナプスは機能的に未熟であり、動物個体としても脳機能は未熟な状態にある。成長につれて、必要なシナプスは強められて残存し、不必要なシナプスは弱められて除去されることによって、成熟した機能的神経回路が完成する(シナプスの刈り込み)。この過程は、ヒトを含む様々な動物の発達期の脳で見られ、生後発達期の神経系で普遍的におこる重要な現象であると考えられている。シナプス刈り込みのメカニズム解明に先導的な役割を果たしているモデル系の一つとして、小脳の登上線維—プルキンエ細胞シナプスの生後発達が挙げられる[1]。成熟動物のプルキンエ細胞は1本の登上線維による興奮性シナプス入力を受けているが、発達初期には複数の登上線維により支配されている。発達が進むにつれ過剰な登上線維シナプスが除去され、マウスでは生後3週までに単一支配になる。シナプス刈り込みの分子機構に関して、末梢神経系を含めても、小脳登上線維シナプスの実験系が最も研究が進んでいるが、それでも、同定された分子は20個に満たず、その機構の解明にはほど遠い状態である。この原因の一つは発達過程の実験の難しさにある。発達に関与する分子の同定に、従来、脳内薬物投与や遺伝子組み換え動物が用いられてきたが、一つの分子を同定するだけでもかなりの時間と手間を要する。また、これらの方法では任意の期間あるいは任意の組織・細胞で分子の機能を操作することは極めて難しく、因果関係が明確になりにくい。

そこで、本研究ではシナプス刈り込みの分子機構解明を促進するために、候補遺伝子のノックダウンや過剰発現、および薬物投与を簡便かつ迅速に行うことが可能であり、かつ生体内の細胞構築が維持される組織培養標本の開発を行った。生後10日前後のラット(あるいはマウス)の小脳皮質と胎生15日のラットの下オリーブ核を含む延髄を共培養し、シナプス刈り込みが*in vitro*で再現できるかを調べた。その結果、下オリーブ核の神経細胞が登上線維を伸長し、小脳プルキンエ細胞との間に機能的なシナプスを形成し、その後登上線維シナプスが刈り込まれることが見いだされた。さらに本研究では、この共培養システムと平井らが開発したレンチウイルスを用いたプルキンエ細胞特異的遺伝子発現システムを用いてシナプス刈

り込みに関わる分子の同定を目指した。その結果、これまで不明であった神経活動依存的にシナプス刈り込みを促進する因子として、前初期遺伝子Arcを同定した。また、プルキンエ細胞に存在し、登上線維シナプスを除去する逆行性シグナル分子をスクリーニングした結果、プルキンエ細胞にあるSema7Aが登上線維に存在するSema7A受容体のPlxnC1とItgB1に働きかけることで登上線維シナプスが除去される可能性が示唆された。

これらの結果から、延髄—小脳共培養標本と細胞特異的遺伝子発現システムを組み合わせることで、シナプス刈り込みの分子機構の解明が大幅に促進されることが期待される。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Watanabe M et al: Climbing fiber synapse elimination in cerebellar Purkinje cells. *Eur J Neurosci* **34** (10): 1697-1710, 2011
2. Uesaka et al: Organotypic coculture preparation for the study of developmental synapse elimination in mammalian brain. *J Neurosci* **32** (34): 11657-11670, 2012

アルドラーゼC—ヴィーナスノックインマウスを用いた小脳縦縞区画の研究

杉原 泉¹, 藤田啓史^{1,3}, 青木華古¹, 山崎真弥², 崎村建司² (¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム神経生理学, ²新潟大学脳研究所基礎神経科学部門細胞神経生物学分野, ³Systems Neurobiology Laboratories, The Salk Institute for Biological Studies)

アルドラーゼは、解糖系の1段階に関わる酵素で、A, B, Cのアイソザイムが存在し、それぞれ、筋と脳、肝臓、脳に優位に発現する。このうち、アルドラーゼCは、他の幾つかの分子とともに、小脳のプルキンエ細胞の一部に強く発現する。小脳皮質は、分子の発現パタンとの違うプルキンエ細胞集団の配列によって、40以上の縦縞区画に分かれている[1]。個々の縦縞区画に関して、入力である登上線維と出力であるプルキンエ細胞の投射パターンは同定されているが、アルドラーゼC陽性と陰性の区画の間では明白な違いが存在する[1, 2]。投射パタンの違いから機能的な違いも想定され、アルドラーゼC陰性の縞は、体性感覚に関連した機能を主とし、アルドラーゼC陽性の縞は、それ以外の(眼球運動、前庭系、大脳系に関連した)機能を主とすると推定される。このように、アルドラーゼC発現パターンは小脳の基本的な構造を反映すると考えられるので、この縦縞構造

を可視化して解剖学的・生理学的解析を進めるため、アルドラーゼC遺伝子に蛍光タンパク Venus の遺伝子が挿入されたノックインマウス (Aldoc-Venus) を作製した。

Aldoc-Venus マウスでは、アルドラーゼCの発現パターンに完全に一致して、VenusがアルドラーゼCと置き換わるようにして発現していると期待されるが、このことは野生型、ヘテロ接合体、ホモ接合体の小脳組織のウエスタンブロットと切片の免疫染色により確認された。ヘテロ接合体、ホモ接合体のマウスにおいて、体や脳の大きさ、脳の内部構造および行動に明白な表現型は認められず、繁殖も可能であった。以下ヘテロ接合体のマウスを用いて解析を行った。脳と脊髄の全体に蛍光が認められ、小脳と網膜に強い蛍光が認められた。細胞レベルでは、脳と脊髄では、アストログリア細胞に全般的に中等度の発現があり、ニューロンとしては、アルドラーゼC陽性のプルキンエ細胞と背側蝸牛神経核の cartwheel 細胞に強い発現が認められた。

小脳のどの領域でも、アルドラーゼCの発現パターンを見ると、その発現パターンに対応する投射パターンがすでに登上線維とプルキンエ細胞軸索においてほぼ明らかにされているため、トレーサー注入を行わずともその領域の線維連絡を知ることができる。Aldoc-Venus マウスを用いると、免疫染色の必要がないため、連続切片のすべてを容易に回収してアルドラーゼC発現を蛍光標識として得ることができる。そのため、切片の蛍光写真から各小葉の分子層部分を抜き出して整列させるといった精密な解析方法により、発現の強弱の連続性を小脳全体で従来 [3] よりも正確に解析することができた。その結果、これまでには認識されていなかった新たな縦縞構造が、片葉などで見出された。また、Crus IはそのほとんどがアルドラーゼC陽性で、かつ特殊な投射を持つ小葉であると考えられていたが、実際には、Crus Iの大部分はその前後の小葉から連続する縞が占めていることが確認

できた。このことから、Crus Iの中の特殊な投射を持つ部位が実際にどこを占めているのか、今後検討していく必要がある。

片葉に関しては、従来は全体がアルドラーゼC陽性と思われていたが [1, 3], 吻側 (小脳の他の部分の外側に相当) は陰性、尾側 (内側に相当) は陽性という2つの縦縞区画からなることが示された。片葉には、ウサギ・ネコで大きく3個の機能的ゾーンがあることが知られ (中央のゾーン2は水平方向、両端のゾーン1および3は垂直方向の眼球運動の制御に関与), それがラット・マウスにも当てはまると考えられている。ゾーン2に投射することが知られている下オリブ核の背帽部からの登上線維投射を蛍光標識したところ片葉のアルドラーゼC陰性区画に投射が見られた。一方、ゾーン1のプルキンエ細胞はheat shock protein 25陽性であることが知られているが、それを蛍光免疫染色したところアルドラーゼC陽性区画と一致した。従って、片葉にて新たに見出されたアルドラーゼC発現の縦縞と機能的ゾーンの密接な対応が示された。

Aldoc-Venus マウスでは、麻酔下に開頭して露出した小脳においても蛍光によって明白な縦縞構造が認められる。これを利用して、in vivo 標本で小脳の縦縞構造を同定した上での生理学的・解剖学的実験が可能である。われわれは現在、特定の縦縞に蛍光標識の逆向性トレーサーを注入することにより、縦縞特異的な苔状線維の投射パターンを解析している。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Sugihara et al: J Neurosci **24**: 8771-8785, 2004
2. Sugihara et al: J Neurosci **27**: 9696-9710, 2007
3. Sugihara et al: J Comp Neurol **500**: 1076-1092, 2007
4. Fujita et al: J Neurosci **32**:15688-15703, 2012

幼少期のストレスが脳に及ぼす影響：母子分離モデル動物を用いた解析

西 真弓, 堀井 謹子, 笹川 誉世 (奈良県立医科大学第一解剖学)

【目的】幼少期の養育環境の劣悪化等のストレスが脳の機能・構造に重大かつ継続的な諸問題を引き起こし、うつ病、心的外傷後ストレス障害 (PTSD) などに罹患する確率が上昇すること等が報告されている [1, 2]。しかし、幼少期の一過性のストレスが生涯にわたって行動に影響を及ぼす分子基盤は未だ完全には解明されていない。本研究は、母子分離 (maternal separation: MS) 動物を用い、幼少期ストレスが発達期及び成長後の脳の可塑性に及ぼす影響を、遺伝子と環境との相互作用を切り口に、分子から行動まで生物階層性の段階を追って解析する。母子分離を施した個体は、成体期にストレス応答の亢進や行動異常を示すことが報告されている。

本研究では、繰り返し母子分離 (repeated MS: RMS) と一回限りの母子分離 (Single-time MS: SMS) を行った。RMS は、一日 3 時間、生後 1—14 日 (RMS14) または 14—21 日 (RMS21) の期間に行い、SMS は生後 14 日目 (SMS14) もしくは 21 日目 (SMS21) に 3 時間行った。いずれの場合も仔マウスを母親から分離し、一匹ずつ隔離した。実験最終日に分離前後の血中 CORT 濃度を ELISA 法にて、分離直後の c-Fos 発現を免疫組織化学法にて調べた。さらに、成長後において通常の恐怖条件付けテストおよび PTSD 誘引刺激に対する反応を解析した。

【結果】

<血清 CORT 濃度> 14 日齢ならびに 21 日齢の両 RMS 群における分離前の CORT 値は、分離を

施していない同日齢のコントロールと同等であったが、分離直後は有意に増加し、その程度は同日齢の SMS 群と同等であった。一方、成体においては RMS14 においてのみ定常状態における CORT が有意に上昇していた [3] (図 1)。この結果より、同じ繰り返しの母子分離ストレスでも、成体における CORT の定常状態に影響を及ぼすのは生後 1 日~14 日齢であり、この期間が血中 CORT 濃度を規定する臨界期である可能性が示唆された。

<c-Fos 発現> 分離直後の c-Fos 発現は、14 日齢の RMS 群では同日齢の SMS 群とほぼ同等の顕著な増加が脳の多領域に認められたが、21 日齢の RMS 群では視床下部室傍核含むほとんどの領域でコントロールと同等まで抑えられていた。興味深いことに、扁桃体延長領域と呼ばれる分界条床核と扁桃体内側核の領域では RMS14 群においてすでに c-Fos 発現の増加は認められず、これらの領域においてはこの時期にすでに繰り返しストレスに対する慣れが生じている可能性が示唆された [3]。

【結語】幼少期のマウスでは RMS による CORT 応答の減弱は生じないが、c-Fos 発現の抑制は 21 日齢のみで認められた。幼少期では繰り返しストレスに対する対応が発達に伴い変化し、また成体期とは異なることが示唆された。今後は扁桃体延長領域に着目し、繰り返しストレスに対する耐性に関与することが報告されているエンドカンナビノイドやその受容体の発現について解析していく予定である。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Levine S: Psychoneuroendocrinol **30**: 939-946,

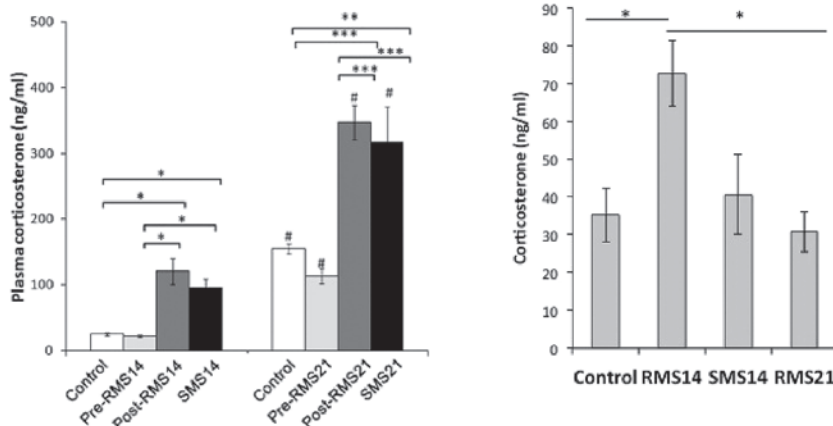


図 1. 血清 CORT 濃度

2005

2. Yehuda R et al: Psychopharmacology **212**: 405-417, 2010
3. Horii-Hayashi N et al: J Neuroendocrinol **25**: 158-167, 2013

妊娠, 出産, 子育てが神経可塑性へ及ぼす影響

古田 都, 船橋利也, 福島 篤, 明間立雄 (聖マリアンナ医科大学生理学)

1. 背景

①ヒトでは, 産後うつ病の治療として, エストロジェン補充療法を行った結果, 症状が軽減したという報告 [1] があるが, 詳細は明らかではない. エストロジェンの不安行動に対する抗不安作

用については, 卵巣摘除ラットによる ER α および β 拮抗薬および作動薬を用いた研究 [2] や ER β ノックアウトマウスの研究で ER β が不安行動に関与していることが明らかになっている [3]. しかし, 出産後のマウスおよびラットにおけるエストロジェンの抗不安作用および作用機序については明らかにされていない. ②ヒトでは, 海馬での神経発達の異常が, うつ病や統合失調症の発症に関与しているという報告 [4] もあるが, エストロジェンや ER と海馬の神経構造への関与に関する報告はなく, 産後うつ病の治療として, エストロジェンがどのような機序で効果があるのか明らかでない. ラットでは, CA1 にて, 妊娠後期では樹状突起の長さや密度の増加が空間学習の能力の向上に関与している報告 [5] がある.

2. 目的

①産後うつモデルの作成および発症機序の解明を産後の神経内分泌的な変化がヒトと類似しているラットを用いて行う. 産後のエストロジェンの低下に着目し, エストロジェンの補充およびエストロジェンレセプター (ER α および β) 作動薬による, 産後の不安様行動, うつ様行動および神経回路の変化への影響を検討する. ②産後性周期が回帰した後の産後5週間目の非発情期ラットでは, 産後から長期間維持される, 学習, 記憶における行動変化を, 海馬の神経発達およびシナプスの形成に着目して, その変化のメカニズムの解明を行う.

3. 方法

①先行研究にてうつ様, 不安様行動のみられる産後3週間目の LE ラットを用いて, Vehicle, E2 (0.1mg/ml), PPT (ER α agonist ; 0.25mg/ml) および DPN (ER β agonist ; 0.25mg/ml) 投与群に分け, うつ様, 不安様行動にどのような影響を及ぼすかを検討した. また, ウェスタンブロット法にて BDNF, TrkB および pERK1/2 への影響も検討した. ②性周期が回帰する, 産後5週間後の非発情期 LE ラットおよび未経産ラット (同週齢) を用いた. (1) Y 迷路とモリス水迷路を用いて妊

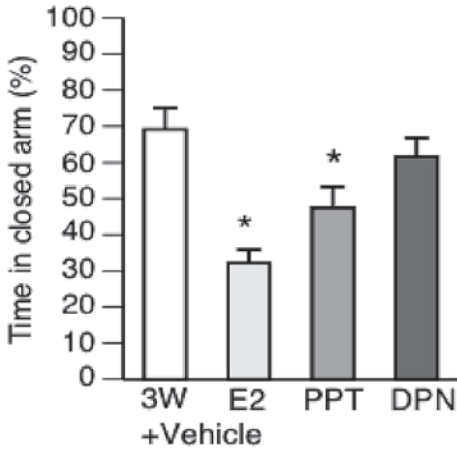


図1. 高架式十字迷路

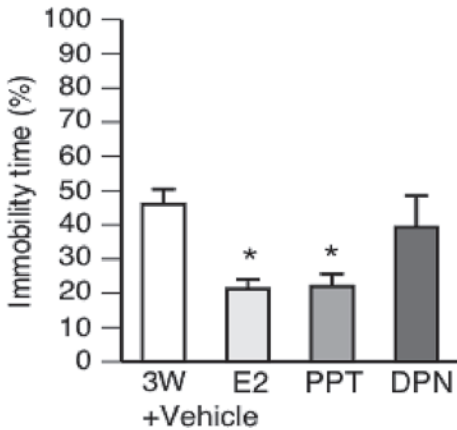


図2. 強制水泳

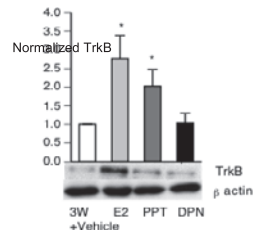


図3. TrkB (MEA)

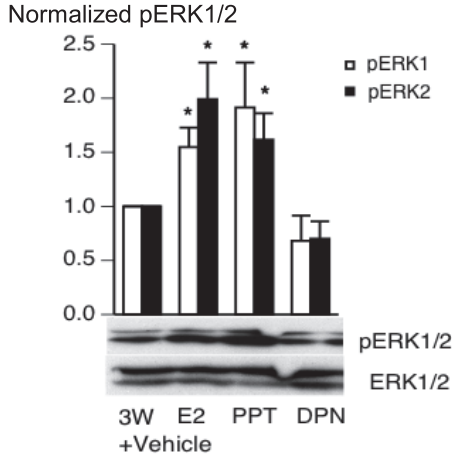


図4. pERK1/2 (MEA)

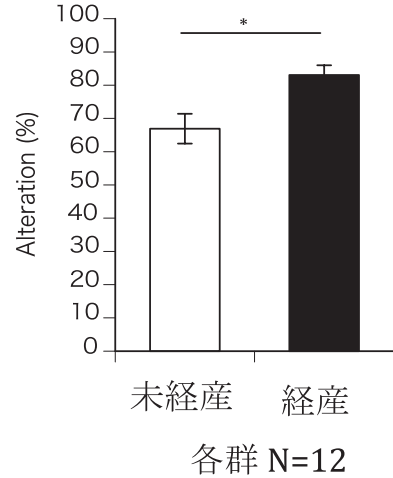


図5. Y 迷路

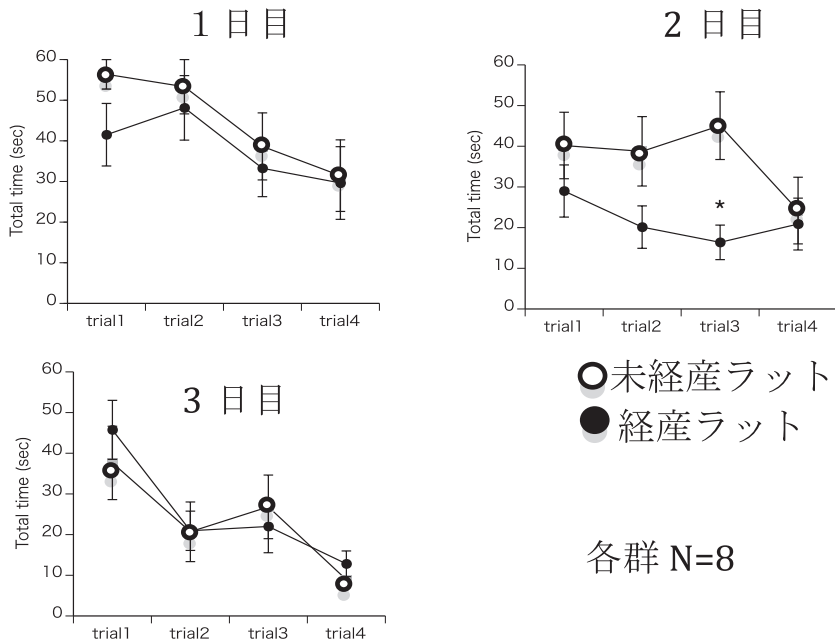


図6. モリス水迷路

娠-出産-子育て後による学習, 記憶の変化を明らかにした. (2) 経産ラットのCA1における神経の発達およびシナプスの形成を免疫組織化学的手法を用いて検討した.

4. 結果

① E2およびPPT投与群では, 不安様 (図1)

およびうつ様 (図2) 行動がみられなかった. 同様に, 扁桃体内側 (MEA) の TrkB (図3) および pERK1/2 (図4) の発現は, E2およびPPT投与群では, Vehicle投与群と比較して有意な増加を示した. ②経産ラットは, 未経産ラットと比較してY迷路テスト (図5) モリス水迷路 (図6) に

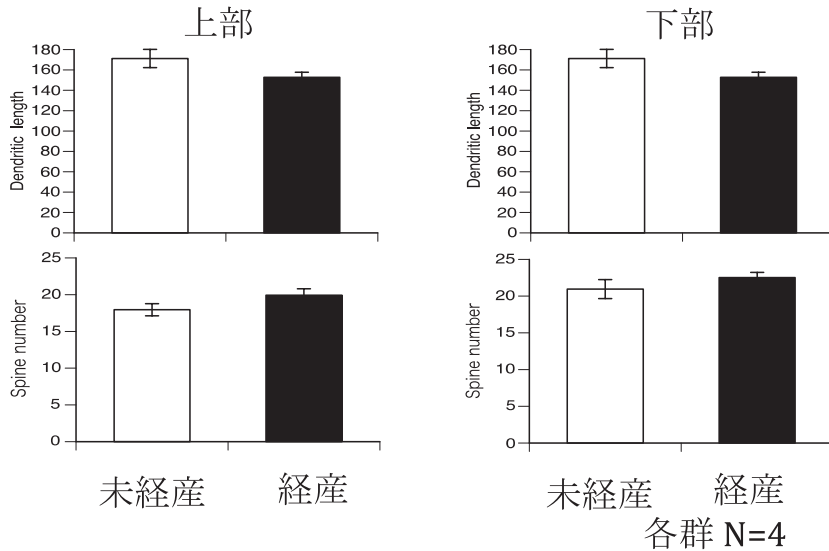


図7. 樹状突起の形態

における空間学習にて良好な成績であった。シナプスの形態には有意な差はみられなかった(図7)。この研究結果を踏まえると、経産ラットは、未経産ラットと比較してY迷路テストにおける空間学習にて良好な成績であったのは、海馬内の神経およびシナプスの形態変化によるものではない可能性が明らかとなった。

5. 結論

①産後にみられる不安、うつ様行動からの回復には、ERa-TrkB-pERK1/2のシグナル伝達系の活性が関与する可能性を示唆した。②妊娠、出産、子育て経験後の学習機能の向上には、海馬の形態変化は、関与しない可能性を示唆した。

本研究は、利益相反なし。

1. Ahokas et al: J Clin Psychiatry **61**: 166-169, 2000
2. Lund et al: Endocrinology **146**: 797-807, 2005
3. Krezel et al: Proc Natl Acad Sci **98**: 12278-12282, 2001
4. Yamasaki et al: Molecular Brain doi: 10.1186/1756-6606-1-6, 2008
5. Stafisso-Sandoz et al: Brain Res Bull **45**: 307-313, 1998

母性愛、父性愛、子の愛着の神経相関

篠原一之, 西谷正太, 高村恒人 (長崎大院・医歯薬・神経機能学)

現在, ヒトの様々な認知機能や精神疾患に関連

した脳機能の解明が行われているが, こうした研究と同様に, 愛の神経基盤について解明を行う研究が進められ, 恋人間の愛や母親のわが子に向けた母性愛といった愛に至っては, その神経相関を示す脳領域が明らかにされるまで研究が行われてきた。しかし, ヒトの他者との関係性の中で, 愛が介在する関係性は他にもあり, とりわけ, 他の家族間同士での愛(家族愛)は, 普遍的価値が認知されながらも, 現在, その神経基盤が明らかにされるまでには至っていない。そこで, 我々は, (1)母性愛に加え, (2)父親のわが子に向けた父性愛, (3)祖母の孫に向けた祖母性愛, (4)思春期における子の母親に向けた愛, のそれぞれの神経相関を明らかにすることを目的に, 近赤外分光法(NIRS)による非侵襲脳機能イメージング研究を行ってきたので, この成果について報告する。

まず, 愛は特定の人物への特別な感情である故, こうした愛の神経相関を脳機能計測から調べる際の実験方法として, 被験者が愛する対象となる特定の人物(例 母親が被験者の場合, 我が子)の笑顔映像を実験刺激に用い, また, 愛する対象とはならない人物(例 母親が被験者の場合, 我が子と同年代の見知らぬ子)の同様な映像を対照刺激に用い, これら刺激観察中の脳活動を比較する方法が用いられる場合が多い。そこで, 以下の我々の研究は, この方法論を踏襲して行った。一方, 動物実験を含め, 先行研究の結果から, 愛には報酬系ネットワーク活動の賦活化が欠かせない要素

であることが示唆され、ヒトの場合、特に前部前頭前野 (APFC) における眼窩前頭皮質 (OFC) 活動に反映され易いことも報告されている。このことから、我々は OFC を含む APFC を標的に脳活動の計測を行った。

(1) 母性愛：実験は、右利きの母親 43 名 (年齢 32.3 ± 4.3 歳, 37% が経産婦) を対象に行い、映像の撮影対象であった子どもは、 9.9 ± 2.7 ヶ月齢であった。その結果、母親は、他児の笑顔映像観察時に比べ、わが子の笑顔映像観察時に、右 OFC 活動に有意な増加が見られた。この OFC 活動は、先行研究との一致から報酬系活動を反映しているものと考えられる。

(2) 父性愛：実験は、右利きの父親 41 名 (年齢 33.6 ± 4.2 歳, 53% が第二子目以上) を対象に行い、映像の撮影対象であった子どもは、 14.6 ± 8.5 ヶ月齢であった。その結果、父親では脳活動の賦活が見られなかった。そこで、我々は vole の雄を、父性行動を行う種、全く行わない種の二系統に分ける原因分子として特定されたバゾプレッシン受容体遺伝子多型に注目し、父親を二系統に分け、再解析を行った。その結果、マイクロサテライトである 334 アレルを有さない父親は、他児の笑顔映像観察時に比べ、わが子の笑顔映像観察時に、左 OFC 活動に有意な増加が見られたが、334 アレルを有する父親では有意な活動増加が見られなかった。ヒトでも父親は、子煩悩かそうでないかの二系統に大別され、報酬系活動の生じ易さが、その表現系の違いに関与しているのかもしれない。

(3) 祖母性愛：実験は、右利きの父親 17 名 (年齢 63.7 ± 6.6 歳, 閉経年齢 49.0 ± 2.5 歳, ミニメンタルステータス検査 27.5 ± 2.1) を対象に行い、映像

の撮影対象であった子どもは、 33.6 ± 4.3 ヶ月齢であった。その結果、祖母は、他児の笑顔映像観察時に比べ、孫の笑顔映像観察時に、両側の前頭極の内側前頭前野、左背外側前頭前野に有意な活動増加が見られた。内側前頭前野は認知的共感性やメタ認知、背外側前頭前野は注意制御やワーキングメモリに関連して賦活が見られる。祖母は、こうした脳機能が働く故に、孫の心理状態を注意深く観察し、自己の内省も同時処理することで、孫に適切な行動を選択する術を得ているのかもしれない。

(4) 思春期における子の母親に向けた愛：実験は、第二次性徴の発達を示すタナー段階の I 度、III 度、V 度に相当する年代毎に、右利きの小学生男児 28 名 (年齢 9.3 ± 0.8 歳, I 度)、中学生男児 31 名 (年齢 14.0 ± 1.0 歳, III 度)、大学生男児 25 名 (年齢 20.9 ± 1.7 歳, V 度) に行った。その結果、I 度は、母親ではない女性の笑顔映像観察時に比べ、母親の笑顔映像観察時に、右前頭極の内側前頭前野に有意な活動増加が見られた。一方、III 度では左前頭極の内側前頭前野、左背外側前頭前野に有意な活動増加が見られ、I 度とは部分的に左右対称であった。優位半球が左になることに、それまでとは異なる母親との関係性が生じたことが反映されているのかもしれない。最後に、既に成人とほぼ同様に発達を遂げた V 度では、脳活動の賦活が見られなかった。思春期から成人する間は、最も恋愛の盛んな時期である為、母親に向けた愛よりも異性に向けた愛に目覚めた故かもしれない。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない

グリア細胞が呼吸リズムを形成する！

岡田泰昌 (村山医療センター臨床研究センター電気生理学研究室)

これまでの呼吸リズム形成メカニズムの研究では、ニューロンにのみ焦点が当てられてきた。しかし、呼吸リズム形成の中核部位である延髄 pre-Bötzing complex 領域 (pre-BötC) を含み、自発的な呼吸神経出力形成能を持つリズムミク延髄スライス標本では、グリア細胞の代謝を阻害すると呼吸神経出力の形成が抑制される [1]。また、近年、グリア細胞研究の進展に伴い、グリア細胞、特にアストロサイトは、ニューロンと連携して中枢神経系の情報処理に積極的に関わっていることが明らかになってきた [2]。そこで、われわれは、pre-BötC においてアストロサイトが呼吸リズム形成において積極的な役割を果たしているとの仮説を実験的に検証することとした。

実験では、新生ラットから作成したリズムミク延髄スライス標本を対象とし、pre-BötC における細胞活動をカルシウムイメージング法により観察したところ、吸気性神経出力に先行して活動を開始するアストロサイト (前吸気性アストロサイト, preinspiratory astrocyte) が見い出された。ニューロン活動のみを抑えるテトロドトキシンを投与するとニューロン活動および呼吸神経出力は消失したが、前吸気性アストロサイトの周期的な活動は残った。ただし、テトロドトキシン投与により、前吸気性アストロサイトの周期的活動の頻度は低下した。したがって、前吸気性アストロサイトの周期的な活動は自律的なものであるが、それらはニューロンからも興奮性の信号を受けていると考えられた。さらに、オプトジェネティクス的手法によって [3]、すなわち、光照射にて細胞を活性化させるチャンネルロドプシン2をアストロサイトにのみ発現させた新生マウスより作成したリズムミク延髄スライス標本において pre-BötC のアストロサイトを光照射で興奮させたところ、吸気性ニューロンの活動を惹起させることができた。

これらの結果から、少なくともリズムミク延髄スライス標本においては、pre-BötC のアストロサイトが吸気性神経活動を駆動しているものと考えられた [4]。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Hülsmann et al: Eur J Neurosci **12**: 856-862, 2000
2. Fellin, et al: Neuron **43**: 729-743, 2004
3. Tanaka, et al: Cell Reports **2**: 397-406, 2012
4. Okada, et al: J Physiol **590**: 4933-4944, 2012

呼吸リズム形成機構の不思議

小泉英彦 (米国・国立衛生研究所 (NINDS, NIH))

呼吸運動は、出生直後より活動を開始する必要があり、そのリズム形成機構は本来単純なものと考えられがちであるが、じつは、きわめて複雑で、また巧妙に作られている。言い方を変えれば、呼吸という極めて重要な活動には、いかなる状況においても停止することがないように、さまざまなバックアップ機構あるいは補助的機構を内包した複雑なリズム形成機構が必要とも言える。このようなメカニズムを十分な練習もなく、生まれたての新生児が使いこなすのは、とても不思議なことである。

われわれは、様々な呼吸活動時における脳幹内リズム形成機構を解明するために、イオンチャンネル、ニューロン、シナプス、あるいはネットワークレベルで多角的に解析を行っている。呼吸リズムの発現には、pre-Bötzing complex (Pre-BötC) が重要な役割を担っていることが知られているが、この Pre-BötC が、異なる呼吸パターンにおいて、それぞれ、どのような役割を担っているかについては、よく知られていない。そこで今回は、2つの異なる実験標本、すなわち、Pre-BötC と他の呼吸性ニューロン群である Bötzing complex (BötC) や橋の相互連関を保持した *in situ* perfused rat brainstem-spinal cord preparations (灌流脳幹標本) と Pre-BötC を isolate した、*in vitro* 脳幹スライス標本を用いて、Pre-BötC ニューロンの呼吸リズム形成機構への関わりについて、比較検討を行った。

まず、それぞれの実験標本において、カレントクランプ記録を行うことにより、呼吸性ニューロンのタイプ分類と空間的分布を、さらに、RT-PCR あるいは免疫染色法で Neurotransmitter タイプを明らかにした。つぎに、各呼吸性ニューロンが、どのようなタイプのシナプス性入力をどのようなタイミングで受け取っているかを、カレントクランプ記録から Synaptic conductance を継続的に抽出する手法 [1] により解析した。その結果、灌流脳幹標本では、呼吸には吸気相 (I) と2つの呼気相 (Post-I, Late-E) の3相がみられ、Pre-BötC には、主に、興奮性 Pre-I ニューロン (吸気の開始より数百ミリ秒早く発火を開始) と抑制性 Early-I ニューロン (吸気相のみに発火)、BötC には、抑制性 Post-I ニューロン (Post-I 相に発火) と抑制性 Late-E ニューロン (Late-E 相に発火) が存在した。つぎに、シナプス性入力ダイナミクスの結果をまとめると、Pre-I ニューロンは、呼気相

の後半よりすでに、発火を開始しており、このタイミングには興奮性入力のみで抑制性入力はみられなかった。一方、吸気相の終わりには、Post-Iニューロンからとみられる強い抑制性入力を受けていた。Early-Iニューロンは、呼気性ニューロンであるPost-IとLate-Eニューロンを吸気相において抑制していると考えられた。また、Post-IとLate-Eニューロンは、Early-Iニューロンとともに、相互抑制により、2つの呼気相を形成しているものと考えられた。つぎに、スライス標本では、Pre-BötCには主に、興奮性と抑制性のIニューロン(吸気相に発火)がみられ、Eニューロン(呼気相に発火)は少なかった。興奮性Iニューロンは吸気相において興奮性と抑制性の両方の入力を受けていたが、吸気相の終わりに抑制性入力を受けておらず、発火停止にはシナプス機構よりはむしろ、イオンチャンネル機構が働いているものと考えられた。一方、Eニューロンは吸気相において強い抑制性入力を受けていた。

以上のことから、Pre-BötC circuitには、さまざまな状況に応じて異なる呼吸リズム形成モードが存在していることが明らかとなった。つまり、灌流脳幹標本でみられた3相性の呼吸リズムにおいては、Pre-BötCは、BötC内のニューロンとのシナプス性相互作用(シナプス機構)により、呼吸リズム・パターンを制御しており、一方、スライス標本でみられたような単純な呼吸リズムでは、Pre-BötC内のペースメーカーニューロンの細胞内メカニズム(ペースメーカー機構)が優位となり、呼吸リズム・パターンを制御しているわけである。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Berg et al: Science **315**: 390-393, 2007

呼吸リズム修飾の新機構：TRP channel 関連物質の作用

TRP channel 関連物質による新しい呼吸リズム修飾のメカニズム

鬼丸 洋(昭和大学医学部生体調節機能学(旧第二生理))

Transient receptor potential (TRP) チャンネルのアゴニストまたはアンタゴニストとして知られている化学物質が、延髄呼吸中枢にどのような影響を与えるかは良くわかっていない。最近我々は、いくつかのTRPチャンネル関連物質が延髄呼吸中枢のニューロン活動にどのような作用を及ぼすかについて、新生ラット摘出脳幹-脊髓標本を用いて調べてきた。この標本における呼吸リズムは、傍

顔面神経呼吸ニューロングループ(parafacial respiratory group, pFRG)及びpre-Bötzing complexに存在するリズムジェネレーターニューロンの相互作用により形成される。前者は主に前吸気性(Pre-I)ニューロンにより構成され、後者は吸気性ニューロンにより構成される。C4吸気性活動をモニターしながら、これら延髄吻側腹外側部の呼吸性ニューロンからホールセル記録により膜電位を記録し、TRPチャンネル関連物質の作用を調べた。

これらの化学物質は、基本的に興奮性の作用を持つもの(抑制→興奮の2相性も含めて)と抑制性の作用を持つもの大きく2つのグループに分けられた。前者にはcapsaicin (TRPV1アゴニスト)とcinnamaldehyde (TRPA1アゴニスト)があり、呼吸リズムの一時的抑制(投与後5分以内)とそれに続く興奮の2相性の反応を引き起こした。Menthol (TRPM8アゴニスト)およびcarvacrolとeugenol (TRPV3アゴニスト)は強い抑制を引き起こした。それぞれのアゴニストはその作用に関して、以下のような特徴があった。Capsaicinの作用の特徴の1つとして、強い脱感作が観察された。つまり、2度目の投与に対して、反応が見られなくなった。この脱感作は、カルモジュリン阻害剤のW-7あるいは低カルシウム溶液によって影響を受けなかったことから、少なくとも細胞外のカルシウムイオンには依存しないと考えられた。cinnamaldehyde(およびallyl isothiocyanate)はwashout後、2時間以上続く呼吸リズムの長期促進を引き起こした。この反応はPre-Iニューロンの脱分極とバースト頻度の上昇を伴っており、その誘導には、pFRGの存在が不可欠であった。MentholはPre-Iニューロンのバースト持続時間の減少を引き起こし、Pre-Iニューロンにおけるtonic GABAチャンネルの活性化が関与する可能性が示唆された[1]。一方、carvacrolとeugenolは呼吸リズムの強い抑制と、Pre-Iニューロンおよび吸気性ニューロンのバーストの持続時間の顕著な短縮を引き起こした。この吸気バーストの短縮は、washout後、呼吸リズムが回復した後も、1時間以上続いた。呼吸性ニューロンにおけるバースト形成は呼吸相を形成するために不可欠であり、carvacrolとeugenolはこのバースト形成(つまりバーストの一定時間の持続)に必要な細胞機構を抑制すると考えられた。

TRPV1およびTRPA1の延髄内の発現については、抗体染色により確認されたが、延髄内で働く実際のリガンドについては不明である。これらの化学物質の効果は、従来の神経修飾物質などで

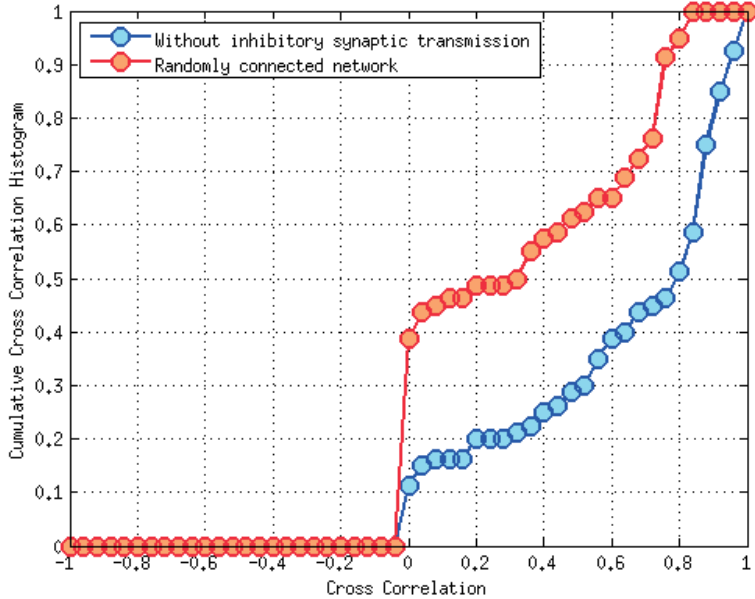


図1. 累積相互相関ヒストグラム. オレンジが興奮性と抑制性のニューロンがランダムに結合したネットワーク構成, 青がそのうち抑制性の結合を除いたネットワーク構成を示す. ヒストグラムが右にシフトするほどニューロン間の同期性が高いことを示し, ランダム結合ネットワークが実験結果と一致しないことを示している.

は見られないものを含んでおり, 呼吸リズム形成の細胞機構に関して, 新しい側面からのアプローチを提示するかもしれない.

本シンポジウム発表について, 開示すべき利益相反関係にある企業等はない.

1. Tani et al: NeuroReport **21**: 1095-1099, 2010

呼吸ニューロンネットワークの *in silico* 再構築

越久仁敬 (兵庫医科大学生理学講座生体機能部門)

延髄腹外側に存在する preBötzinger complex (preBötC) は, 呼吸リズム形成の中核をなし, preBötC を含む脳スライス標本はリズム的な神経活動を生成する (リズム脳スライス標本). preBötC は興奮性および抑制性ニューロンから構成されており, それらの一部は興奮性入力によりバースト発火を繰り返す, ペースメーカー特性を持っている [1]. GABA_A やグリシンの受容体拮抗薬を灌流液に加えることで抑制性の神経伝達を遮断してもリズム脳スライス標本のリズムは存続するので, リズム生成そのものには抑制性ニューロンは必要ない [2]. 我々は, preBötC 抑制性ニューロンの機能的役割を解明するために,

preBötC 領域の多数 (~100 個) のニューロンの Ca 動態を二光子顕微鏡で同時観測し, グリシン受容体拮抗薬ストリキニンの灌流液への添加がネットワーク動態に及ぼす影響を調べた. その結果, ストリキニン投与により, リズム活動の頻度増加と共にてんかん様の活動が見られ, てんかん様活動の期間を除くと, ニューロン間の同期性はむしろ低下した. すなわち, 抑制性ニューロンはリズムの安定化に寄与していると考えられる.

従来の神経回路モデルの研究では, 神経回路を構成するニューロン群内やニューロン群間の結合は, 全てのニューロンがランダムに結合しているか, 全てのニューロン結合のうちの一定割合のランダムな結合であると仮定されていた. しかし, 興奮性と抑制性のニューロンをランダムに神経結合させたニューロンネットワークモデルでは, 上記の実験結果を再現できない (図1). このことは, 特異的なネットワーク構成が抑制性ニューロンのリズム安定化に必要なことを示している. シミュレーションの結果, 抑制性ペースメーカーニューロンが興奮性ペースメーカーニューロンを抑制するネットワーク構成が, 実験結果に近い挙動を示した.

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Morgado-Valle C et al: Glycinergic pacemaker neurons in preBotzinger complex of neonatal mouse. *J Neurosci* **30**: 3634–3639, 2010
 2. Shao XM et al: Respiratory rhythm generation and synaptic inhibition of expiratory neurons in pre-Botzinger complex: differential roles of glycinergic and GABAergic neural transmission. *J Neurophysiol* **77**: 1853–1860, 1997
-

鍼灸の有用性と安全性：臨床的エビデンスと双方向性トランスレーショナル・リサーチ

山下 仁（森ノ宮医療大学大学院保健医療学研究科/全日本鍼灸学会）

鍼灸の臨床的評価は、基本的に Evidence-Based Medicine (EBM) の概念に則って行われており、医療界一般と同様にランダム化比較試験 (RCT) や RCT のシステマティック・レビュー (SR) によって示されたエビデンスを重視する傾向がある。鍼治療の RCT 論文は、PubMed に収載されているだけでも（質の問題は別として）すでに 1,000 件を超えている。

近年、比較的厳格に行われた RCT や RCT の SR によって、慢性腰痛や化学療法誘発嘔気など幾つかの症状に対して鍼治療が有効であることが示唆されるようになった。しかし、症状や疾患によっては偽鍼 (sham acupuncture) 対照群と本物の鍼刺激群との間に有意差を認めなかった RCT も多い。この理由のひとつは、鍼の RCT においてしばしば対照群とされる偽鍼が、薬剤の RCT におけるプラセボと違って不活性でないことによるものと思われる。すなわち、浅い刺鍼（「切皮」, 「散鍼」, 「管散術」など）や正穴（教科書に示されている正規の経穴）以外の刺鍼点（「阿是穴」など、日本で本物の鍼治療としてしばしば臨床で用いられている鍼刺激法がプラセボとして扱われており、これでは鍼の特異的効果を検出することは困難である。すでに川喜田らは皮膚の無髄線維支配の機械・熱受容性ユニットおよび皮膚の有髄線維支配の各種機械受容性ユニットのいずれも各種の

偽鍼刺激に対して興奮性反応を示したことを確認している [1]。また、津嘉山らも臨床的に鍼の「ひびき」を構成する感覚要素のほとんどが本物の鍼刺激においてより強く自覚されていることを確認している [2]。さらに、伸縮型の偽鍼を使用すると日本人は欧米よりもはるかに sham であることを見抜いてしまうこともわかっている [3]。このように、鍼の有効性に関する臨床的エビデンスを検証する方法として用いられる RCT の対照群設定には幾つかの未解決の問題が存在するのが現状である。このことは将来のトランスレーショナル・リサーチ (TR) の実現においても障壁となるため、今後の鍼灸臨床研究方法論の発展は必須である。

安全性に関しては、ドイツで実施された幾つかの大規模な prospective survey によって、標準的な鍼治療によって重篤な有害事象が発生することは非常にまれであることがわかっている [4-6]。また、頻繁に遭遇する副作用が、全身では疲労・倦怠感（患者の約 8%）、眠気（約 3%）、主訴の悪化（約 3%）などであること、また局所では微量出血（刺鍼数の 2.6%）、刺鍼時痛（0.7%）、皮下出血（0.3%）であることも、我々の実施した prospective survey によって示されている [7]。しかし、基礎研究レベルで証明されている安全性情報は少ない。たとえば、ステンレス鍼を用いた鍼通電療法の際にどのような生理学的・化学的・免疫学的反応が生じるのか、量鍼の際にどのような末梢血管反応が起こっているのか、鍼の直径や刺鍼深度に応じた具体的な凝固阻止剤の許容用量はど

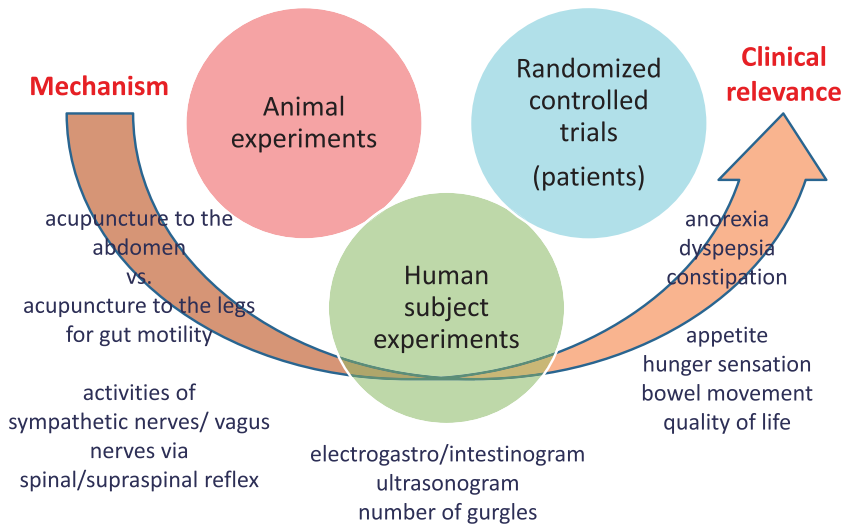


Figure An example of acupuncture TR (treatment of gastrointestinal conditions)

れくらいか、等々である。

鍼灸の領域において本当の意味での TR は未だ実施されていない。もし本当の意味での TR を行うのであれば、最適刺激方法開発、最適鍼素材開発、難病治療法開発などを演繹的に厳密に進めていくために、各領域の研究者だけでなく治験コーディネーター、生物統計学者、企業の開発担当者など多くのエキスパートを結集して個々のテーマごとに鍼灸 TR チームを組む必要がある。現状としては、すでに行われている鍼灸治療のメカニズム説明のための基礎研究といった bidirectional translational acupuncture research [8] のほうが圧倒的に多い。もちろんこれも鍼灸にとっては重要な作業であり、本当の意味での TR とともに今後も推進していくべき領域である (Figure)。

(COI disclosure : Hitoshi Yamashita has no financial relationship with any private company.)

1. 川喜田健司ら : Pain Res **27**: 91, 2012
2. Tsukayama H et al: Focus Alternat Complement Ther **11** (Suppl.1): 49, 2006
3. Tsukayama H et al: Clin J Pain **22**: 346-349, 2006
4. Witt CM et al: Forsch Komplementmed **16**: 91-97, 2009
5. Melchart D et al: Arch Intern Med **164**: 104-105, 2004
6. Endres HG et al: Eur J Med Res **9**: 545-551, 2004
7. Yamashita H et al: J Altern Complement Med **6**: 345-350, 2000
8. Langevin HM et al: Evid Based Complement Alternat Med doi: 10.1155/2011/180805, 2011

機械的な皮膚刺激による膀胱の排尿収縮抑制の神経性メカニズム

堀田晴美 (東京都健康長寿医療センター研究所自律神経機能)

頻尿や失禁は、高齢者の生活の質を低下させる大きな要因の一つである。60歳以上の日本人の約20%すなわち400万人もの人が排尿の問題を抱えているといわれている。排尿の調節には、自律神経系が必須の役割を果たす。膀胱の排尿収縮は、骨盤神経の群波放電によっておこるが、会陰部への鍼様刺激はこの骨盤神経活動を抑制することで排尿収縮を抑制する [1]。また、皮膚のみの刺激でも筋のみの刺激でも効果があることも明らかにされている [1]。しかしその効果の中枢機構につ

いては、不明のまま残されている。最近我々は、ごく軽い触刺激でも刺激の与え方次第で排尿収縮を抑制し得る事を見出した。例えば指先でかすかに触れ、ゆっくり皮膚表面をなでると、排尿収縮が顕著に抑制された。そこで、皮膚表面に一定の刺激を与えやすいローラーを作った。いくつか異なる素材を試したが、効果が高かったのは、表面がなめらかな柔らかいエラストマー製のローラーであった。会陰部の皮膚表面上をゆっくりと転がし1分間刺激すると、刺激終了後も抑制が数分以上持続した。会陰部以外にも、大腿部や腹部、前肢の刺激でも抑制が起こる場合があったが、会陰部の刺激は最も再現性の良い強力な抑制をもたらした [2]。このローラーは、頻尿などの問題を抱える高齢者のセルフケアの方法として期待できる。我々はこれを用いて、体性感覚刺激による排尿収縮抑制の中枢機序の研究を行った。

排尿反射に関与する中枢として脊髄および橋の排尿中枢が必須である。膀胱に尿がたまると、膀胱支配の骨盤神経求心性神経活動が高まり、橋排尿中枢 (Barrington 核) のニューロンを興奮させる [3]。Barrington 核からの下行性興奮性入力によって膀胱支配の骨盤神経遠心性神経活動が高まり、膀胱の収縮が開始すると、膀胱からの求心性情報がさらに高まる。このような、膀胱と Barrington 核との間の正の feedback によって膀胱が強く収縮する。この排尿反射経路のどこで抑制がおこるのだろうか。この疑問に答えるため我々は、中枢無傷、あるいは脊髄を切断して脳と脊髄との連絡を遮断したモデルにおいて、Barrington 核と脊髄の神経の刺激と記録を行った。

第一に、Barrington 核を電気刺激して誘発した膀胱の収縮に対するローリング刺激の効果を調べた。Barrington 核刺激は、基礎圧約 10 cmH₂O 時に収縮ピーク圧 60 cmH₂O 前後の排尿収縮と類似した大きな収縮を誘発するが、この収縮もローリング刺激により抑制された。第二に、脊髄切断ラットにおいて Barrington 核からの下行性線維の伝導路を電気刺激した。このモデルでは Barrington 核からの下行性線維が興奮しても脊髄と脳との間の連絡がないため、正の feedback が生じない。直接の刺激効果として、20 cmH₂O 以下の振幅の持続の短い膀胱収縮を誘発する。この収縮の振幅も、ローリング刺激により減弱した。この結果は、下行性伝達が脊髄レベルで抑制されることを意味する。

一方、上行性伝達への影響を調べるため、第三に橋排尿中枢の Barrington 核の神経活動を記録し、排尿収縮と同程度に膀胱を伸展させた際の

Barrington 核の神経興奮がローリング刺激により抑制されることを見出した。また第四に、脊髄を切断し自律神経節遮断薬を投与したモデルにおいて、膀胱からの情報により脊髄で誘発される二つの反応に対する効果を調べた。一つは、膀胱の伸展刺激でおこる脊髄血流の増加反応である。これは膀胱求心性神経応答と一致した圧依存性の反応であり、求心性情報伝達による脊髄ニューロン活動を反映すると考えられる。もう一つは、膀胱支配神経の求心性電気刺激で誘発される脊髄局所電位である。これらはいずれも、ローリング刺激で抑制された。従って脊髄における膀胱からの求心性情報伝達も抑制されることが明らかとなった。

以上より、脊髄において何らかの抑制性伝達物質が放出され、排尿反射に関わる上行性および下行性伝達を抑制することが予想される。我々は最後に、オピオイドの関与を調べるため、少量のナロキソンを脊髄くも膜下腔に投与した。ナロキソンは、排尿収縮自体には影響を与えずローリング刺激による抑制効果をほぼ完全に遮断した。

以上の実験結果を総合すると、軽微な皮膚刺激はおそらく脊髄でオピオイドを放出し、膀胱からの求心性情報伝達と Barrington 核からの下行性伝達の両方を抑制し、膀胱—脳間の正の feedback を遮断するため、膀胱の排尿収縮を抑制すると考えられる。

(本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。)

1. Sato et al: *Neurosci Res* **15**: 189-198, 1992
2. Hotta H et al: *Auton Neurosci* **167**: 12-20, 2012
3. Sasaki M: *J Comp Neurol* **449**: 355-363, 2002

鍼灸治療の科学化の変遷と消化器機能へ及ぼす影響

野口栄太郎（筑波技術大学大学院技術科学研究科）

1 鍼灸の科学的研究の小史

我が国では、江戸末期から鍼灸治療を西洋医学的に解釈する考え方が石坂宗哲等により始められた。1885年には、後に東京盲学校教員となる奥村三策が医事新聞に「鍼術論」を投稿し鍼による機械的刺激が末梢神経を介して興奮性に伝達されると論じた [1]。1892年になると、群馬医学校長の大久保適齋が「鍼治新書」を著し、鍼刺激が交感神経を介して内臓機能を調節する考えを示した [2]。しかしこれらの考察は実証に基づくものではなく当時の西洋医学の書物より得た知識で構築した理論であった。

1906年に東京大学の三浦謹之助は第2回日本医学会総会の講演で「鍼に就いて」の発表を行い [3]、教室で行われた樫田十次郎らの灸刺激による家兎腸運動抑制反応を紹介している [4]。さらに1914年に京都大学の石川日出鶴丸門下の後藤道雄らにより「ヘッド氏帯と日本古来の鍼灸術」と題して灸刺激による家兎腸管運動亢進反応が京都医学会誌に報告され、鍼灸刺激が脊髄分節性に反応すると提唱した [5]。この様に明治後期から鍼灸に関する実験的研究が行われるようになったが、多くの研究は鍼灸刺激に対する生体反応の有無を観察したのみで、鍼灸治療の効果が起こる神経性機序に関する研究は近年まで行われていなかった。

1960年代後半から佐藤昭夫と R.F. Schmidt の研究により、体性感覚神経と自律神経系の連絡が実験的に証明された [6]。この一連の研究が、その後の鍼灸治療の基礎研究の発展に極めて重要な影響を与え、鍼灸刺激による体性-自律神経反射を介する各種内臓機能の変化とその神経性機序が多数報告されるようになった。

2 鍼灸刺激による胃腸機能の変化

鍼灸治療の消化機能に対する医学的研究は1900年初頭から行われてきたが、1975年になり Sato らが侵害刺激を腹部に与えると脊髄反射性に交感神経を介して胃運動が抑制されることを [7]、さらに Kametani らが四肢刺激で上脊髄反射を介した迷走神経の興奮による胃運動亢進反応の機序を解明した [8]。

1) 胃運動

1993年に Sato らは、腹部と四肢に徒手の鍼灸刺激を行い麻酔ラット胃内圧の変化が侵害刺激と同様に脊髄性と上脊髄性の反射性反応で起きることを証明した [9]。

1996年に山口らは鍼通電刺激により種々の強度刺激を加えた結果、腹部刺激では肋間神経の C 線維が興奮する閾値から、後肢刺激では脛骨神経の A δ と C 線維が興奮する閾値から反応が起こることを観察した [11]。

最近の研究では、2006年に Li らは Sato らの方法で追試を行ない、ラットの経穴刺激で同様の反応が起きることを報告し [12]、さらに経絡に関係なく体幹部と四肢の経穴では反応が異なることを報告している [13]。

2) 胃酸分泌

1979年に Sodipo らは、鍼治療を行った十二指腸潰瘍患者の痛みの消失とともに最大刺激酸分泌量が減少していることから、鍼治療の効果は胃酸分泌の抑制に起因すると結論した [15]。

基礎研究では、1984年にZhouらが、意識下のパブロフ犬を用いて、足三里・内関・脾俞穴に鍼通電刺激を加えた際の胃酸分泌抑制を観察し、この反応が迷走神経遮断薬の投与や鍼刺激部位の局所麻酔で消失したことから、体性-自律神経反射による胃酸分泌抑制反応と結論している [16].

1996年にJinらは、意識下のイヌでアミノ酸食摂取による胃酸分泌亢進が鍼通電刺激により抑制され、ナロキソン投与で抑制反応が消失することから、内因性オピオイドが関与した機序で発現すると報告した [17].

1996年にNoguchiらは、麻酔ラット胃内環流法で足三里穴の鍼通電刺激による胃酸分泌亢進反応を観察し、坐骨神経と迷走神経の切断で消失すること、内臓神経切断で反応が消失しないことから、坐骨神経と迷走神経を介した反射性の胃酸分泌亢進反応を報告している [18].

しかし、鍼刺激による胃酸分泌反応の報告には実験条件の違いから相反する報告が有り、鍼の作用機序が解明されるには数多くの課題が残されている。

3) 腸運動

皮膚の侵害刺激による十二指腸運動の反応は、1976年にSatoらによって測定され腹部の刺激によって脊髄反射的に抑制反応が起きることが報告されている [19].

さらに、2003年Noguchiらは鍼通電刺激で胃運動反応と同様の抑制と亢進反応が十二指腸部で起きることを確認し、刺激強度と運動変化を比較した。その結果、抑制には肋間神経IV群線維閾値以上が、亢進には脛骨神経高閾値III群線維閾値以上の刺激強度が必要なことを明らかにした [20].

5 まとめ

我が国では早くから、自律神経を介して鍼灸刺激により内臓機能が調節されると考えられていて、世界に先駆けて鍼灸治療の科学的研究が始められた。特に消化管機能に関する研究の多くは生理学領域の研究者により行われ体性-自律神経反射を介した反応の一部が解明されている。

これらのことから、我が国の鍼灸臨床では伝統的な東洋医学の理論だけでなく現代医学的に鍼灸治療を解釈し臨床に応用する考え方がある。今後は臨床的研究と連動した基礎的研究が行われる事が期待される。

(本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない.)

1. 奥村三策：医事新聞 第157号：27-28, 1885
2. 大久保適齋：鍼治新書 復刻版。医道の日本社、横須賀、1-8, 1892

3. 三浦謹之介：中外医事新報 第627号：599-602, 1906
4. 檜田十次郎ら：東京医学会誌 26: 735-762, 1912
5. 後藤道雄：京都医学雑誌 11: 303-330, 1914
6. Sato A et al: Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology 130: 75-113, 1997
7. Sato A et al: Brain Res 87: 151-159, 1975
8. Kametani H et al: J Physiol 294: 407-418, 1979
9. Sato A et al: Neurosci Res 18: 53-62, 1993
10. 山口真二郎ら：自律神経 33: 39-45, 1996
12. Li YQ et al: World J Gastroenterol 12: 7642-7648, 2006
13. Li YQ et al: World J Gastroenterol 13: 709-716, 2007
14. Sodipo J et al: Am J Chin Med 7: 356-361, 1979
15. Zhou L et al: Life Science 34: 2233-2238, 1984
16. Jin H et al: Am J Physiol G524-530, 1996;
18. Noguchi E et al: Jap J of Physiol 46: 53-58, 1996
19. Sato Y et al: Neurosci Lett 2:189-193, 1976.
20. Noguchi E et al: Jpn J physiol 53: 1-7, 2003

鍼灸の免疫系および血液流動性に与える効果

久光 正 (昭和大学医学部生理学講座)

(1) 鍼灸刺激が免疫系に与える影響について、リウマチ性関節炎の動物モデルである、II型コラーゲン誘発関節炎 (CIA) マウスを対象として検討した結果を紹介する。リウマチ性関節炎の治療に有効とされている命門穴 (GV4) 相当部位に対し、電気鍼刺激 (Electroacupuncture, EA) あるいは灸刺激 (moxibustion, Mox) を加えた。EAは2-4V, 1Hz, 15分, 週3回, 3週間, Moxは1荘1mg, 1回5荘, 週3回, 3週間行った。CIAマウスではコラーゲン追加免疫5週後をピークに四肢の発赤、腫脹がみられた。これをスコア化して評価した結果、EA群、MOX群ともにスコアの有意な減少が認められた [1]。また、血中、関節組織あるいは脾臓などで抗コラーゲンII抗体、IL1- β 、COX2、PGE2が増加したが、EA群、MOX群はいずれも有意に低下した [2]。さらに近年、自己免疫性関節炎に対し、関節炎の増悪に働くTh17細胞と抑制的に作用する制御性T細胞 (Treg) の存在が注目されている。ナイーブT細胞にIL-6とTGF- β が作用すると、Th17への分化が促進し、IL-6の非存在下でTGF- β が単独で作用

すると、誘導性制御性 T 細胞の分化が促進される。そこで、MOX に対する血中 TGF- β と IL-6 レベルを測定した結果、TGF- β は有意に増加し、IL-6 は有意に減少した [3]。また、フローサイトメトリーの結果から Treg が増加することが明らかになった [4]。これらの結果から、鍼灸刺激はマウスコラーゲン II 誘発関節炎に対し、抗体産生、IL-1 β 、COX2、PGE2 などの抑制や TGF- β 増加、IL-6 抑制などを介する Treg 増加を介して炎症や骨破壊の進展を抑制する可能性が明らかになった。CIA マウスでの Treg のレベル、鍼灸刺激による変化などについては今後の課題である。

(2) CIA 動物やストレス負荷動物の血液流動性が低下することが知られている。血液流動性を指標として EA の効果およびその作用機序について検討した。血液流動性は Micro Channel Array Flow Analyzer (MC-FAN) を、また血小板凝集能は血小板凝集能測定装置 (PA-20) を用いて測定した。実験には Wistar 系ラットを用いた。ラットの足三里 (ST36)、三陰交 (SP6)、合谷 (LI4) 相当部位への EA では有意に血液流動性が増加した。一方、内関 (P6)、腎兪 (BL23) 相当部位への EA では有意な変化は認めなかった。以後は足三里 (ST36) 相当部位への EA の影響についての結果である。血液流動性に対する ST36 EA の効果は刺激頻度 1Hz と 100Hz では有意差を認めなかった。また、刺激時間についても 15 分刺激と 60 分刺激に効果の差はなかった [5]。血液流動性に対する交感神経系の作用を検討するため、 α ア

ゴニスト (フェニレフリン)、 α アンタゴニスト (フェントラミン)、 β アゴニスト (イソプロテレノール)、 β アンタゴニスト (プロプラノロール) をそれぞれ腹腔内投与した。その結果、 α アゴニストおよび β アンタゴニスト投与で血液流動性の低下および血小板凝集能の増加が見られ、 α アンタゴニストおよび β アゴニスト投与で血液流動性が増加および血小板凝集能の低下が認められた [6]。ラットに拘束ストレスを与えると血液流動性は有意に低下した。これに対し、ST36 EA は有意にこの変化を抑制した。ストレス負荷、炎症、交感神経緊張などで血小板凝集能が増大することなどを介して血液流動性が低下し、また、足三里相当部位への EA 刺激はこの変化を抑制することが認められた。EA 刺激部位により、その効果に差があることが明らかになった。メカニズムについては今後の検討課題である。

(本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。)

1. Fang et al: In Vivo **12**: 421-426, 1998
2. Fang et al: In Vivo **13**: 311-318, 1999
3. Kogure M et al: J Acupunct Meridian Stud **5**: 29-33, 2012
4. Mimura N: Japan Acupuncture and Moxibustion Online Journal **1**: 23-31, 2011
5. Ishikawa S et al: J Acupunct Meridian Stud **4**: 44-53, 2011
6. Ishikawa S et al: J Acupunct Meridian Stud **5**: 21-28, 2012

活動筋反射：運動骨格筋による交感神経刺激のメカニズム

木場智史 (鳥取大学・医・統合生理学)

活動筋反射は、運動時の骨格筋収縮に伴った機械的な刺激と代謝産物の産生による化学的な刺激とが筋求心性神経 (III・IV 群) を発火させることで惹起し、循環中枢を刺激することで反射性に交感神経活動を増加させる機構である。活動筋反射の機能に関する知見は、1937年にヒト運動後の運動肢阻血が昇圧を起こすことを示した研究 [1] によって初めて報告された。その後、1970年初頭に英国の Coote ら [2]、米国の Mitchell ら [3] がそれぞれ、麻酔/除脳ネコの脊髄前根神経を電気刺激して後肢骨格筋を収縮させた際に反射性昇圧応答を観察できる実験系を報告した。以来、この動物プレパレーション (主にネコ、ラット) を用いた活動筋反射研究が進み、ヒトでの活動筋反射研究も運動肢の阻血などの手段で筋求心性神経を刺激する実験系を用いて進んできた。

最近 10 年間で活動筋反射研究のトピックは、循環器疾患における活動筋反射の生理的役割とその機構の解明であった。心不全患者や高血圧者では運動時の交感神経応答が過剰である。この過剰応答は不整脈や脳卒中などの心血管イベントの発生リスクを高めるものであり、心不全での運動耐性低下の一要因でもある。循環器疾患での運動時の過剰な交感神経応答を説明する機構として、活動筋反射が注目された。Smith らは、ラット後肢骨格筋収縮に対する反射性昇圧応答が健常体と比較して心不全 [4]・高血圧 [5] で過剰であることを報告した。ただし、活動筋反射による交感神経刺激作用を心不全・高血圧で増強する機構は不明であった。

著者らは心筋梗塞由来の心不全ラットモデルを用い、心不全で活動筋反射による交感神経刺激作用を増強する機構を調査した [6]。心不全で亢進する酸化ストレスには末梢からの感覚情報の伝達に参与することが最近の研究から解明されつつある。骨格筋中の酸化ストレスは心不全での活動筋反射による交感神経刺激作用を増強する役割を持つとの仮説が考えられた。そこで筆者らは、 $O_2^{\cdot-}$ ディスムターゼの模擬化合物であるテンポールを除脳ラットの後肢循環中に動脈内投与する前と後とで後肢骨格筋収縮に対する反射性腎交感神経応答を比較した。そして腎交感神経応答に対するテンポール投与の影響を健常群 [左心径短縮率 (FS) >45%] と心不全群 (FS <35%) とで比較した。心不全群での過剰な活動筋反射による交感神経刺激作用は、テンポールによって抑制された。

一方で健常群での活動筋反射による交感神経刺激作用にはテンポールの影響は認められなかった。これらの結果は上記の仮説を支持するものである。

筆者らはさらに高血圧で活動筋反射による交感神経刺激作用を増強する機構を調査した [7]。高血圧で亢進するレニン・アンジオテンシン系 (RAS) の活動は、NADPH 酸化酵素を刺激することで $O_2^{\cdot-}$ の産生を促進する。筆者らは RAS の活動亢進は骨格筋中の酸化ストレスを亢進させて、高血圧での活動筋反射による交感神経刺激作用を増強するとの仮説を考えた。14日間アンジオテンシン 2 (AngII) を皮下投与 (450 ng/kg/min) して AngII 依存性に高血圧を発症するラットモデルを作成した (AngII 高血圧)。後肢骨格筋収縮に対する反射性腎交感神経応答は健常血圧群よりも AngII 高血圧群で大きかった。また AngII 高血圧群での過剰な活動筋反射による交感神経刺激作用は、テンポールを後肢循環中に動脈内投与することで抑制された。一方で、健常血圧群ではテンポールの影響は認められなかった。そして、AngII 高血圧ラットの下腿三頭筋では酸化ストレスの亢進が確認された。これらの結果は上記の仮説を支持するものである。

RAS の活動亢進は高血圧だけでなく心不全などの循環器疾患でも認められる。循環器疾患では「① RAS の活動亢進」「②骨格筋中の酸化ストレス亢進」「③活動筋反射機能の異常」「④運動時交感神経反応の異常」という自律神経機能を異常にする機序があると考えられる。

開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Alam et al: J Physiol **89**: 372-383, 1937
2. Coote et al: J Physiol **215**: 789-804, 1971
3. McCloskey et al: J Physiol **224**: 173-186, 1972
4. Smith et al: Circulation **108**: 1126-1132, 2003
5. Smith et al: J Physiol **577**: 1009-1020, 2006
6. Koba et al: J Physiol **587**: 5227-5237, 2009
7. Koba et al: Am J Physiol Heart Circ Physiol **304**: H142-H153, 2013

運動時の中枢性血圧調節機構：延髄孤束核の統合機能を中心に

和気秀文 (和歌山医大・医・第2生理)

通常運動時には心拍数、一回拍出量および末梢血管抵抗 (骨格筋以外) が増加し、その結果として血圧の適度な上昇が起こる。これらの反応は活動筋への血流供給に重要であり、すなわち運動パフォーマンスの善し悪しに参与する。運動時の循環・血圧調節は主として交感神経出力を制御する心臓血管中枢によって行われているが、その機序

の詳細は未だ不明である。本シンポジウムでは、運動時の中枢性血圧調節機序について、先ず現在の考え方について概説し、次いで我々の研究成果に基づく新たな機序について提案した。

現在のところ、運動時血圧調節の中枢性機序として、運動機能を司る高位中枢からの情報（セントラルコマンド）と、活動筋の機械受容器や代謝受容器からの情報が心臓血管中枢に入力され、交感神経活動の持続的な賦活化が起こるとされている [1, 2]。通常生体には血圧変動を出来るだけ少なくするための自律神経反射、すなわち動脈圧受容器反射が存在し、血圧の恒常性が維持されている。例えば血圧上昇が起こるとそれを正常レベルに戻すために、直ちに心拍数と血管抵抗は減弱する。つまり、運動時のように持続的な昇圧・頻脈反応を引き起こすためには、延髄に存在する圧反射中枢を調節する（圧反射のリセットを引き起こす）必要があり、その仕組みを理解することが、運動時血圧調節機序を解明することであると言える。

交感神経のプレモーターニューロン群は吻側延髄腹外側野 (RVLM) にあり、その興奮は交感神経の賦活化を引き起こす。安静時の状態でも圧受容器からの情報は常に孤束核へ入力されており、尾側延髄腹外側野を介して RVLM ニューロン群の興奮が抑制されている。血圧が上昇すると、この抑制作用が増強することにより交感神経活動が減弱する。これが昇圧による反射性徐脈と血管抵抗調節の一機序である。言うまでもなく副交感神経出力の調節も圧受容器心臓反射においては重要であるが、運動時の循環調節は主として交感神経系によるものであり、ここでは副交感神経系に関する記述は割愛する。

セントラルコマンド説においては、興奮発生起始部は不明であるが、視床下部背内側核、室傍核、中脳中心灰白質、および視床下核などを介して RVLM ニューロン群が賦活化し、交感神経活動が亢進するとされている [2]。また、心臓交感神経活動の亢進には尾側縫線核ニューロン群も関与する。そして交感神経活動を高い水準に持続的に維持するために、高位中枢からの情報は RVLM だけではなく孤束核にも同時に入力されている。孤束核にある圧受容器感受性ニューロン群の一部は GABA 作動性介在ニューロンによりその興奮が抑制され、その結果、RVLM への抑制性シグナルが減弱する。つまり、血圧のベースライン（圧反射のセットポイント）上昇に対応した圧受容器からの入力情報が孤束核内で遮断されるので、圧反射のリセットが起こることになる [2]。尚、

圧反射感度（血圧の急激な変化に対する交感神経や心拍数の応答性）は減弱しないと言われている。また、骨格筋受容器からの情報も脊髄後角ニューロン群を介して孤束核および RVLM に入力され、交感神経活動が調節されている [1, 2]。

セントラルコマンド説においては、視床下部調節乳頭核-孤束核系（ヒスタミン系）も重要である可能性が最近の我々の研究により示された [3]。視床下部調節乳頭核の電気刺激は昇圧・頻脈を惹起し、孤束核へのヒスタミンおよびヒスタミン H1 受容器アゴニストの微量注入も同様の循環反応を引き起こした [4]。また、運動習慣（トレーニング）により、H1 受容器刺激による昇圧反応は増大すること（ヒスタミン神経系の可塑性）も明らかにした [3]。

以上のように、運動時の中枢性血圧調節機序は極めて複雑ではあるが、そのブラックボックスの構造が現在徐々に明らかにされてきている。特に孤束核における統合機能が重要であることに疑いの余地はない。我々は今後もその機序の詳細を解明していきたい。

尚、本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

1. Potts JT: *Exp Physiol* **91**: 59-72, 2006
2. Waki H: *JPFMS* **1**: 253-261, 2012
3. Waki H et al: *Physiol Genomics* **45**: 58-67, 2013
4. Bhuiyan ME et al: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **301**: H523-H529, 2011

血圧調節機構とディフェンスエリア

堀内城司（東洋大学理工学部生体医工学科）

【はじめに】血圧の調節は、二つの基本的な中枢制御メカニズムによって行われる。一方は圧受容器反射を中心とした血圧の「維持」機構である。他方は外的・内的環境変化や行動に伴って起こる「適応」機構である。いずれの場合においても、心臓や血管などの循環器を制御する交感神経活動とその中枢が重要な働きをしている。本章では、動物の重要な「生き残り戦略」である防衛反応（ディフェンス・リアクション）に焦点を当て、その血圧調節機構における交感神経出力制御の中枢内メカニズムを解説する。

【防衛反応時の循環反応】動物が環境の変化や外敵に遭遇した際には、交感神経活動の亢進にもとづく心拍数と交感神経活動の増加と、それによってもたらされる血圧上昇に加え、呼吸数の増加、体温の上昇などの防衛反応に特有な自律反応が見られる。ヒトを含めた哺乳類では、この防衛反応

は、ストレス性自律反応と深い関係があることが指摘されている。特に心理的ストレスは、高血圧発症や不整脈などの循環器系疾患のリスクファクターになるだけでなく、うつなどの気分障害の原因となることが指摘されている。

【ディフェンスエリア：防衛反応の中核】我々ヒトを含めた哺乳類の脳は、元々持っている機能に新しい機能を付加する形で進化してきたため、両生類や爬虫類の防衛反応を司る中脳と哺乳類のそれを司る視床下部の二つを有していることが知られている。従来は視床下部のディフェンスエリアとして、視床下部室傍核や外側視床下部を中心とした広いエリアの関与が示されてきたが、最近の研究から、防衛反応時の循環反応やストレス性自律反応を引き起こす視床下部の部位として、背内側核 (DMH) や傍脳弓領域 (PeF) の役割が注目されている。さらに、視覚などの感覚情報入力を受ける中脳、特に中心灰白質 (PAG) のニューロンの刺激が、防衛反応時に見られる自律神経反応を引き起こしたり、この部位の抑制がストレス性の循環反応を減弱させたりすることが報告され、中脳が進化の過程で置き去りにされた痕跡器官ではなく、哺乳類においても、血圧の適応反応に関与している可能性が示された。解剖学的には中脳PAGから視床下部DMHへの投射が報告されているが、この二つのディフェンスエリアの機能的な役割や関係は明らかではない。それぞれのディフェンスエリアは、刺激によって防衛反応特有の自律神経反応を引き起こすが、環境の変化や外乱に対抗した防衛反応における中脳PAGの役割と視床下部DMHならびにPeFとの関係は依然として不明である。

【防衛反応の脳内下行路】温熱ストレスや心理的ストレスの脳内ネットワークの研究を通して、防衛反応にもとづく血圧上昇と心拍数と交感神経活動の増加などの自律神経反応の脳内下行路が明らかになってきた。視床下部の防衛反応の座であるDMHを介して起こる交感神経性の循環反応は、心機能と血管作動機能ではそれぞれ別々の脳幹内下行路を持つ。前者は延髄縫線核を交感神経の中継核として、後者は吻側延髄腹側野を中継核として、心臓や血管を制御している。また、視床下部のPeFも、解剖学的にユニークな特徴を持ち、防衛反応に際してはDMHとは異なる関与をしている可能性が明らかになりつつある。さらに、精神的ストレス時の昇圧反応が、中脳PAGの抑制で減弱するという結果から、中脳PAGが防衛反応の自律神経反応の下行路であるとの考えが示された。しかしながら、麻酔下で視床下部DMHを刺

激した際に起こる防衛反応様の交感神経性循環反応は、中脳PAGをその下行路とせず、逆にこの中脳PAGニューロン群を刺激したときに起こる呼吸・循環反応が、視床下部DMHのニューロンを介して発現することが報告されており、防衛反応時の血圧調節反応における視床下部と中脳の間は更なる研究が待たれる。

【まとめ】動物が生存の為に獲得してきた防衛反応に伴う自律神経性循環反応は、ヒトにおいては文明の発達をもたらした天敵や自然の脅威から隔離された環境によって、「生き残り」の為のはずの防御反応が、ときに過剰な反応となり、健康を損なう「ストレス反応」として高血圧や不整脈などの循環障害を引き起こしている。この中枢内メカニズムの解明は、新しいストレスマネジメント法の開発や高血圧発症の原因解明に繋がることを期待される。

本シンポジウム発表に開示すべき利益相反はない。

高血圧の治療ターゲット候補としての吻側延髄腹外側野におけるアンジオテンシン1型受容体と酸化ストレス

廣岡良隆 (九州大学大学院医学研究院先端循環制御学)

最近の研究により交感神経の活性化がこれまで考えられていた以上に高血圧の病態において重要な役割を果たしていることがわかってきた。高血圧は脳卒中や腎臓病のみならず心肥大から心不全となる経緯をとる。動脈硬化性疾患の危険因子としても大きい。治療抵抗性高血圧患者に対する新規デバイス治療の開発・臨床応用は交感神経活性化の重要性をあらためて教えてくれるものであり生理学的実験・研究の方向性を示し病態の機序解明は益々大切である。

我々は自然発症高血圧ラット (spontaneously hypertensive rats; SHR), 脳卒中自然発症高血圧ラット (stroke-prone SHR; SHRSP) のようなわが国で開発されたヒト高血圧モデルラットを用いて実験を行い、脳内酸化ストレスが増加していることを見出した [1, 2]。SHRやSHRSPの脳幹部に存在する血管運動中枢である吻側延髄腹外側野 (rostral ventrolateral medulla; RVLM) にアデノウイルスをベクターとしてMn-superoxide dismutase (Mn-SOD) を過剰発現させると交感神経抑制を介して降圧反応が認められることを見出した。血圧・心拍数はテレメトリー法を用い無麻酔覚醒化で計測した。交感神経活性化の指標としては尿中ノルエピネフリン排泄量を測定した。酸化

ストレスの評価は thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) 法で測定した。また, tempol の微量注入による効果でも確認できた。一方, 視床下部室傍核 (paraventricular nucleus of the hypothalamus; PVN) に Mn-SOD を過剰発現させても心拍数低下反応は明らかであったが, 降圧反応は有意には認められなかった [3, 4]。尿中ノルエピネフリン排泄量測定による交感神経活性抑制は認められたがその程度は RVLM に対する Mn-SOD 遺伝子導入より小さかった。

さらに, RVLM のアンジオテンシン 1 型受容体 (AT1R) 刺激により NAD(P)H oxidase/Rac1 経路が活性化され SHR あるいは SHRSP の RVLM におけるスーパーオキシド酸性源となっていることを見出した。これはドミナントネガティブ変異体 Rac1 遺伝子導入法によって確認した。また, RVLM における caspase-3 活性が SHRSP において対照正常血圧ラットである Wistar-Kyoto (WKY) rats より増強しており昇圧に関わっていることも観察した。このことは caspase-3 の発現と caspase-3 阻害薬による効果から認められた。

最近, 高血圧で慢性の炎症性変化が病態関与しているとの報告がある。我々は自然免疫系の Toll-like receptor 4 の活性が脳内で生じ交感神経活性化につながっていること, また, この上流に AT1R 活性化が関与している可能性を示した [5]。さらに, 脳内酸化ストレス増大・炎症生変化は神経細胞に直接というよりグリアであるアストロサイトに影響を与えていることを示唆する所見を得た。

最後に, 経口投与した ARBs が RVLM に対する抗酸化作用を呈し交感神経抑制作用を有するか否かについて SHRSP を用いて検討した。その結果, 程度の差があるが経口投与した ARBs は脳内抗酸化作用を有すること, これが他の血管拡張薬と異なり反射性交感神経活性化を生じない機序の一つであることが考えられた。以上の成績は, もっと特異的に脳内特に RVLM の AT1R をターゲットとした治療が見つければ脳内酸化ストレスを介した過剰な交感神経活性化を抑制することができ, 有効な治療法となることを示唆する。

本シンポジウム発表について, 開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

Source of Funding: This series of study was supported by Grants-in Aid for Scientific Research from the Japan Society for Promotion of Science.

1. Hirooka Y et al: Oxidative stress and central cardiovascular regulation-pathogenesis of hypertension and therapeutic aspects. *Circ J*

74: 827-835, 2010

2. Hirooka Y et al: Imbalance of central nitric oxide and reactive oxygen species in the regulation of sympathetic activity and neural mechanisms of hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **300**: R818-R826, 2011

3. Nishihara M et al: Oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla modulates excitatory and inhibitory inputs in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* **30**: 97-106, 2012

4. Nishihara M et al: Different role of oxidative stress in paraventricular nucleus and rostral ventrolateral medulla in cardiovascular regulation in awake spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* **30**: 1758-1765, 2012

5. Ogawa K et al: Brain AT1 receptor activates the sympathetic nervous system through Toll-like receptor 4 in mice with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* **58**: 543-549, 2011

睡眠, 運動, メンタルストレス負荷時の交感神経活動とその地域依存性調節

三木健寿 (奈良女子大学研究院生活環境学系統御生理)

【はじめに】

交感神経は生体内のほとんどの臓器に分布し, 臓器血流量および動脈圧調節に主要な役割を果たす。交感神経活動は, 生体状況に応じて臓器特異的に変化し, 血管抵抗を変え, 生体全体として臓器血流調節を行うと考えられている。また同時に心拍出量を調節することにより, 適切な動脈圧レベルを決定に寄与している。交感神経は, 生体状態に依存してその活動を強度および地域依存的に変化することが報告されているが, 交感神経活動を実測し, 定量的な変化を評価した研究は少ない。本シンポジウムでは, 我々のラットを使った腎および腰部交感神経活動を実測した実験結果を基に, 睡眠, 運動, メンタルストレス時の交感神経活動調節について概説した。

【睡眠ノンレム期および運動時】

ラットの日常行動での腎交感神経活動と腰部交感神経活動を計測した結果, 睡眠ノンレム期, 覚醒時, 運動時, およびグルーミング時において, 腎および腰部交感神経活動は活動強度に比例して直線的に増加する [1]。すなわち, 睡眠ノンレム期から運動時において, 交感神経活動は, 運動強度に依存して生体全体で一様に増加している。こ

れは、筋肉の収縮強度に依存した定量的な求心性情報が、交感神経活動の増加として出力されていることを示唆する。交感神経活動の調節と言う視点から考えると、睡眠ノンレム期は筋肉活動が低く、その調節は覚醒から運動に至る同一調節ライン上にあり、その最低レベルであると言える。すなわち、睡眠ノンレム期は、交感神経活動は全身一様に低下し、心拍数も低くかつ体の動きによる動脈圧調節系の外乱が少ない。従って、動脈圧は日常の行動状態の中では最も低くかつ安定した状態である。一方、運動時は交感神経活動が全身一様に増加し、腹部内臓系の血管収縮により血流量および保留血液量を減少させ、心拍出量を増加させ、そして筋肉収縮している部位の血液量をその需要に応じて供給する役割を果たしていると考えられる。また、動脈圧を持続的に上昇させ、急激な血管拡張が生じた場合でも血圧が低下することを防ぐ役割を果たしている。

【睡眠レム期】

睡眠レム期は地域差のある交感神経活動調節が行われている。腎交感神経活動はノンレム期よりさらに低下するが腰部交感神経活動はノンレム期より増加する。Somersら [2] は、ヒトのレム睡眠期において筋交感神経活動と動脈圧がノンレム期に比べて増加することを報告している。睡眠レム期の腎と腰部交感神経活動の逆転反応について、次の仮説が提唱されている [1]。睡眠レム期は、脳の活動は覚醒時のそれと同程度に活発化し、脳の血液需要は増加するが、同時に心拍出量が低下する。そのため、総末梢血管抵抗の増加が必用になる。筋肉は体に占める割合が多く、また睡眠レム期には完全に弛緩する。従って、睡眠レム期の筋肉の血管収縮は筋肉機能を阻害すること無く効果的に総末梢血管抵抗を増加させることができる。そのため、筋交感神経活動（ラットの場合腰部交感神経活動）の増加により、総末梢血管抵抗を増加させ、脳還流圧の維持に寄与していると考えられる。

【メンタルストレス時】

動物のFreezingモデルは、恐怖や不安などメンタルストレスに対する生体反応を研究する手段として使われている [1]。Freezing時に腎交感神経活動は持続的に増加するが腰部交感神経活動は変化しない。また、動脈圧は変化しないが、心拍数は低下する。これは、恐怖や不安負荷時には腎臓（およびおそらく腹部内臓系）の交感神経活動の増加により、前もって腹部内臓系の血流抑制し、瞬時の筋肉血流量増加に対応できるような緊張状態をつくっていると考えられる。つまり、逃走あるいは戦いを瞬時にできるように、前もって腹部内臓系の交感神経活動を増加させ、運動時の準備状態にしておくのである。準備状態が続くことは、メンタルストレスが循環負荷となる一因と考えられる。

【まとめ】

交感神経活動は基本的に地域差をもって調節されている。睡眠ノンレム期から運動時にかけては交感神経活動が生体の状況に応じて生体全体一様に变化する。一方、睡眠レム期およびメンタルストレス時には腹部内臓系と筋肉系が独立した変化をする。現在、腎臓と腰部交感神経活動のデータしか得られていないが、もし心臓交感神経活動など他の部位を計測できたなら、さらに地域差が生じていることが明らかになると予想される。以上、交感神経活動は生体状況に応じて地域依存的な特定のパターンに依って変化し、臓器血流量および動脈圧調節に重要な役割を果たしている。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない

1. Miki K et al: Sympathetic nerve activity during sleep, exercise, and mental stress. *Auton Neurosci* **174**: 15-20, 2013
2. Somers VK et al: Sympathetic-nerve activity during sleep in normal subjects. *N Engl J Med* **328**: 303-307, 1993

睡眠時無呼吸症候群に対する多面的アプローチ

子島 潤¹, 山中博之¹, 石川千恵子², 大久保力廣², 平井真也³, 小川 匠³, 高松朋矢⁴, 濱田良樹⁴ (鶴見大・歯・内科,²有床義歯補綴,³クラウンブリッジ補綴,⁴口腔顎顔面外科)

閉塞性睡眠時無呼吸症候群 OSAS は日本人の 1.7%, 200 万人が有する頻度の高い疾患である。睡眠中に繰り返し起こる低酸素血症と胸腔内陰圧化によって交感神経緊張, 血中サイトカインの上昇, 静脈環流の増加がおり, 高血圧症, 不整脈, 大動脈瘤, 心不全, 虚血性心疾患, インスリン抵抗性, などのさまざまな疾患を招来し増悪させる。その治療として, 減量, 節酒, 禁煙, 横臥位睡眠などの生活習慣改善や筋弛緩作用を有する薬剤の変更に加え, 気道内に陽圧を加え気道の虚脱を防ぐ経鼻持続陽圧呼吸療法 NCPAP, 下顎を前方に固定する口腔内装置 OA (図) が適用され, 扁桃腫大等に対しては耳鼻咽喉科手術, 小顎症, 下顎後退症などに対しては口腔顎顔面外科手術などが実施される。その選択には, 個々の症例における, 無呼吸低呼吸指数 AHI と Epworth 眠気尺度 ESS による昼間の眠気の重症度を参考に, 睡眠時無呼吸の原因となる病態生理によって選択されるが, 実際には AHI が 20 を超えているか否かで OA か NCPAP の選択が行われ, 個々の症例の病態生理について詳細な検討が行われているとは言い難い。これは OSAS の病態生理が十分解明されていないことや外来で主たる原因を簡便に検査する方法がないことが一因と推察される。鶴見大学歯学部付属病院のいびき外来では 2006 年から 2008 年の間に 201 例 (男性 77%, 16-86 歳, 平均 51.0 ± 14.6 歳) のいびき患者が受診し, 141 例が OA 作成のため補綴科を受診した。このうち 34.3% で高血圧症, 10.0% で心疾患, 4.5% で糖尿病を合併していた。また体格指数が 25 を超える肥満の症例は 32.4% にとどまり, 日本人では肥満でなくても OSAS が多いという従前の知見に合致した。補綴科を受診した患者の AHI は 0 から 116.8 (平均 27.5 ± 24.7) であった。OA 装着により 75.5% の症例で AHI は 5 未満ないし OA 装着前の 50% 以下となった。例えば 58 歳男性症例では OA 装着により AHI は 56.4 ~ 28.2 から 4.7 となり著効を示した。一方, OA が無効の症例も 24.5% あり, 74 歳の男性症例では OA を装着しても AHI は 42.8 から 31.4 に低下するにとどまった [1]。耳鼻咽喉科的な外科治療では, 両側扁桃腫大の 26 歳男性症例では耳鼻咽喉科紹介, 扁桃摘出術により ESS は 13 から 5 に低下, AHI は 89.3 から 16.6 に低下した。また 21 歳男性は耳鼻咽喉科で口蓋垂軟口蓋咽頭形成術



図 口腔内装置

UPPP を受け AHI は 59.6 から 27.5 に改善したが自覚症に対する効果不十分のため NCPAP を継続している。さらに顎顔面口腔外科手術では, 40 歳下顎後方位の女性に対し顎顔面口腔外科において上下顎前方移動術を実施し AHI は 34 から 5.6 に改善した。しかるに選択される頻度が最も高い NCPAP や OA による治療を受ける患者の多くは, この治療を生継続しなければならないことに精神的あるいは経済的負担を感じている。この点に関し, オーストラリア原住民であるアボリジニーの民族楽器, デイジュリドゥの練習により ESS や AHI が改善するとの報告 [2] がある。その演奏のために必要な循環呼吸法を体得する過程で上気道の変化が生じることが機序として推察されている。以上のごとく OSAS の病態は多様であり, その治療に当たっては個々の患者の状態を分析し適切な治療法を選択する必要がある。また将来, 患者の負担を軽減する治療法の開発が期待される。このためには内科, 耳鼻咽喉科, 歯科補綴科, 口腔顎顔面外科を含む多面的なアプローチが不可欠である。

利益相反なし

1. Ishikawa C et al: J Indian Prosthodont Soc 10: 57-63, 2010
2. Puhan MA et al: BMJ 332: 266-270, 2006

咀嚼刺激はストレスを緩和し不整脈の発症を防ぐ

小野弓絵(明治大学理工学部電気電子生命学科)

過度なストレスは自律神経の不均衡を招いて致死性の不整脈を誘発するリスクとなることから, 循環器疾患を抱える患者にとってストレスの軽減は重要な課題である。近年の動物やヒトを用いた脳神経科学研究から, 咀嚼刺激がストレス知覚の軽減に有効であることが示されてきており [1,

2], 忙しい現代人にとって, 「咀嚼」が安価で手軽なストレス軽減法として活用できる可能性がある. 本研究では, ストレス負荷中の咀嚼刺激が, ストレス性に生じる不整脈の発生を抑制できるかどうかを動物モデルにより検討した [3]. テレメトリ心電計を皮下に装着した10週齢の雄性SDラットに対して1時間の拘束ストレスを与え, そのうち半数にはストレス負荷中に木製棒を自由に咀嚼させた. 木製棒を咀嚼した群のラットは, 拘束ストレス後10時間にわたる心室期外収縮の発生数が咀嚼を行わなかった群のものに比べて有意に減少した. また, 咀嚼を行わなかった群のラットで観察された2連発, 3連発, 心室頻拍が咀嚼群では一例も生じず, 全て散発性の心室期外収縮であった. 心室期外収縮波形の差異として, 咀嚼を行わなかった群のラットは咀嚼群のラットに比べてQT時間が有意に長くなっていた. さらに, 心室期外収縮が生じる直前の3拍分の洞調律波形を解析すると, 咀嚼を行わなかった群のラットは咀嚼群のラットに対して, ストレス負荷中のQRS時間の延長ならびにストレス負荷後のQT時間の延長がみられた. ストレスを与えずに同様の実験を行った対照群を加えて, 心拍変動のスペクトル解析により自律神経指標の変化を比較すると, 咀嚼を行った群のラットは咀嚼を行わなかった群のラットに比べ, ストレス負荷時の交感神経指標(LF/HF)の上昇が抑制され, 血漿ノルアドレナリン濃度も有意に低下していた. 以上の結果はストレス負荷中の咀嚼刺激がストレスによる交感神経指標の過活動を抑制することにより, ストレス負荷後の不整脈を防いだことを示唆している. ガム咀嚼など気軽にできる口腔運動でストレス知覚を軽減することが, 致死性不整脈の高リスク患者における自律神経バランスの維持ならびに不整脈の予防に役立つことが期待される.

利益相反なし.

1. Ono Y et al: J Oral Rehab **37**: 624-640, 2010
2. Ono Y et al: Stress **15**: 207-217, 2012
3. Koizumi S et al: Am J Physiol Heart Circ Physiol **301**: H1551-H1558, 2011

歯周病と動脈硬化—モデル動物を用いての検討

落合智子 (日本大学松戸歯学部感染免疫)

近年, 慢性炎症生疾患・歯周病とCRP及び低比重リポ蛋白(LDL)値の上昇やアテローム性動脈硬化症の指標である頸動脈内中膜肥厚(IMT)との関連性から, 歯周病が循環器疾患に影響を及ぼすという仮定の裏付けが明らかにされつつある. 更に, 従来クリーンなものとしてきた動脈硬化

病変にも微生物が複数存在することが明らかとなってきた. 一方, 歯周病と動脈硬化には有意な関連性が認められないという報告が昨年アメリカ心臓病協会から提出された [1]. 我々は, これまでに正常マウスや自然発症 Apolipoprotein E 欠損高脂血症 (Apoe^{shl}) マウスを用い, 歯周病主要病原細菌である *P. gingivalis* (*P. g.*) や *Aggratibacter actinomycetemcomitans* (*A. a.*) 感染と動脈硬化の関連性について検討してきた. その結果, 高脂血症マウスにおける動脈硬化進展度は, いずれの感染群においても非感染群に比較して高値を示し, 血中には菌特異的 IgG 抗体や炎症性サイトカイン, ケモカイン, および高感度 CRP が誘導された [2-5]. 更に生菌のみならず, 死菌や LPS 投与においても動脈硬化の早期発症, 促進が認められた [6]. これらの結果から, 生菌が直接病巣に到達しなくても, その病原因子であるリポ多糖 (LPS) 単独でも動脈硬化促進が起りうる可能性が示唆された. しかしながら, 死菌や LPS に比較して生菌処理においてより著しい動脈硬化病巣が認められたことから, LPS 以外の protease や外膜タンパク等も病巣進展に関与している可能性が示唆された. 一方, 大動脈起始部の切片から抽出した各種 RNA の定量 PCR や免疫染色結果から酸化 LDL の受容体である LOX-1, 酸化ストレス, NADPH oxidase, Caveolin-1 の増強, 酸化 LDL や Myeloperoxidase の血中での増強が認められた [6]. これらの結果は, 歯周病原菌感染により脂質酸化が起こり動脈硬化の進展に影響を与えている可能性を示唆している.

粘膜ワクチンの動脈硬化に対する予防効果を検討する目的で, Pg.40-kDa 外膜タンパク (OMP) を抗原, コレラトキシンをアジュバントとして経鼻免疫を行ったところ, 免疫群は Pg. 感染によるプラーク形成, 血中からの Pg. DNA の検出, 炎症性サイトカイン及び接着因子発現を著しく抑制した [2, 4]. 以上の結果から歯周病原菌感染による動脈硬化の進展には高脂血症状態が必要であり, 生菌の動脈硬化巣への直接効果のみならず, LPS 等の菌体成分の影響も関与し, 接着因子, 炎症性サイトカイン, ケモカイン, 酸化ストレス発現や脂質酸化に影響を与えている可能性が示唆された. 更に, 抗酸化物質やワクチン投与がこれらの炎症による動脈硬化発症機序を抑制し, 予防・治療に有効である可能性が示唆された. 最近, 古代ミイラに見られる動脈硬化の程度は現代人集団とほぼ同じであることが報告され, 感染症などによる慢性炎症との関連性が注目されている. 従って今後, 歯周病原菌感染による炎症病態の持続が

冠動脈疾患の発症・進展・重症化に関与するメカニズムを解明することは意義あるものと考え、

利益相反なし。

1. Lockhart PB et al: *Circulation* **125**: 2520-2544, 2012
2. Koizumi Y et al: *Infect Immun* **76**: 2777-2784, 2008.
3. Zhang T et al: *FEMS Immunol Med Microbiol* **59**: 143-151, 2010
4. Fukasawa A et al: *Immunopharmacol Immunotoxicol* **34**: 481-487, 2012
5. Cai Y et al: *Pathogen and Disease* **67**: 76-83, 2013
6. Jia R et al: *J Dent Res* **92**: 247-252, 2013

TCTP/Fortilinによる癌細胞と心筋細胞の細胞死制御

藤田孝之(横浜市立大学医学部循環制御医学)

アポトーシスは悪性腫瘍、心疾患など多くの重要な疾患の発症に関わっている。我々はアポトーシス抑制タンパクの一つである TCTP (translationally controlled tumor protein) に着目し、TCTPの機能制御を介した新たな治療戦略の確立について検討している。

TCTPはFortilinとも呼ばれ、全身の組織に広く発現している。癌細胞では正常細胞と比較して強く発現していることが知られており、悪性度の高い癌には特に高発現しているとの報告もある。TCTPは口腔扁平上皮癌にも過大発現している。またTCTPの発現量コントロールに関与しているとされるmicro-RNAの血中濃度は、口腔がんの腫瘍マーカーとしての有用性も示唆されている[1]。アポトーシス以外にも細胞増殖や、血管機能への関与の報告もあり、生体内で重要な役割を果たしていると考えられている。更に近年TCTPは、癌抑制遺伝子としてよく知られるp53タンパクと直接結合しその機能を抑制していることが報告された[2]。これによりTCTPのもつアポトーシス抑制作用のメカニズムの一つが明らかになると共に、TCTPがp53の機能制御を介して生体の様々な重要な機能に関与している可能性が示唆された。

p53は“ゲノムの守護神”と呼ばれる癌予防に極めて重要なタンパクとして多くの研究者の注目を集めてきた。ヒトの癌の50%でp53の遺伝子変異が見られ、p53の機能異常が発癌に強く関わっていると考えられている。近年ではp53が動脈硬化の進展、心不全、細胞老化など、腫瘍以外の疾患の病態にも関与しているとの報告も多く、その

機能の生態における重要性が更に明らかにされてきている。p53は転写因子として機能しており、アポトーシス、細胞増殖、血管新生、DNA修復等にかかわる多くのタンパクの発現を制御している。TCTPはp53のDNA結合部位が存在するドメインに結合することが確認された。TCTPの存在下ではp53はDNAへ結合しにくくなり、Bax(アポトーシス誘導タンパク)の発現誘導が抑制されることも示された。p53によって誘導されるアポトーシスを、TCTPの過大発現によって抑制できることや、TCTP発現の低下した細胞ではアポトーシスが促進されることも観察され、TCTPがp53の転写因子としての機能を阻害することで、アポトーシスを抑制していると考えられた。更にTCTPは、マウスの皮下における腫瘍形成を、p53との結合に依存するメカニズムによって促進することも明らかになった。

癌形成の抑制には癌細胞のアポトーシス促進が望ましいが、心筋細胞のアポトーシスは心筋細胞数の減少、心機能の低下につながり、心不全の発症の重要なメカニズムの一つであると考えられている。我々は心不全の発症におけるTCTPの役割を検討した。心筋細胞特異的にTCTPを過大発現したマウスを作成し、心不全モデルにおける心不全の進行を野生型のマウスと比較したところ、TCTP過大発現マウスでは、心機能がより保たれていた。また培養心筋細胞における検討で、siRNAによりTCTPの発現を抑制すると、心筋細胞障害刺激後の細胞生存率が低下しており、TCTPが心筋細胞死を抑制していることが示唆された。

これらの検討から悪性腫瘍、心不全の発症におけるTCTPの重要性が明らかとなった。病態をよく把握した上で、部位、時期を考慮してTCTP機能をコントロールすることが、これらの疾患への有用な対応方法となりうると考えられた。

利益相反なし。

1. Lo WY et al: Mir-27b-regulated tctp as a novel plasma biomarker for oral cancer: From quantitative proteomics to post-transcriptional study. *Journal of proteomics* **77**: 154-166, 2012
2. Chen Y et al: Physical and functional antagonism between tumor suppressor protein p53 and fortilin, an anti-apoptotic protein. *The Journal of biological chemistry* **286**: 32575-32585, 2011

歯と健康：高齢者と成人の健康調査から

花田信弘(鶴見大学歯学部探索歯学講座)

1. はじめに

歯の喪失は栄養不良（低栄養）に関連する。また、齲蝕と歯周病は微生物が血管へ侵入する菌血症発症の主要な経路になっている。更に、歯の喪失が高齢者の運動能力の低下にも関連している。ここでは、厚生労働科学研究で長期にわたって行なわれた高齢者の歯と全身の健康調査の成果を紹介する。

2. 低栄養

厚生労働科学研究「口腔と全身の健康」（主任研究者小林修平）の分担研究者宮崎秀夫教授（新潟大学大学院）の研究班（新潟スタディー）は毎年新潟市在住の70歳の方600人を対象に1998年～2008年の間、調査を継続した結果、歯の喪失が低栄養（栄養失調）に関連すると結論付けた。

新潟スタディーでは、歯がない（少ない）高齢者は血液中のタンパク質の他にビタミン類やカルシウムなど無機塩類の濃度が低くなっていた。新潟スタディー研究班は10年間の研究成果を図1のようにまとめている。

厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室が発表している平成16年国民健康・栄養調査結果の概要によると、「何でもかんで食べることができる」と回答した者の割合は歯を多く失った人では低くなっている（図2）。歯を失う事により、咀嚼機能が低下してバランス良く食事をするできなくなり栄養不良に陥ると考えられる。

3. 菌原性菌血症（Odontogenic Bacteremia）

これまでの疫学調査は齲蝕と歯周病が高血圧と関連していることを示している [1, 2]。なぜ高血圧と関連するのだろうか。歯科治療、産科、泌尿器科や耳鼻科治療をすると菌血症が生じることはよく知られている。同時に齲蝕や歯周病を放置すると歯を磨くだけでも菌血症が起きる。菌血症の累積頻度を考慮すると菌血症の原因は一時的な歯科治療などの医原病（iatrogenic disease）ではなく歯磨きなどの生活習慣の不良による生活習慣病である。長期にわたる菌原性菌血症やエンドトキシン血症は全身の血管の健康を障害するので高血圧と関連するのであろう。アテネ大学医学部の論文 [3] では「菌性高血圧症」という新しい概念を提唱している（図3）。

4. 歯と運動

新潟高齢者研究では、更に運動・身体能力との関係が明らかになっている。寝たきりにいたるまでの身体能力、栄養、口腔疾患、全身疾患の関連性を図4に示す。厚生労働省国民生活基礎調査によると、65歳以上の寝たきりの原因は脳血管疾患（図中a）が30.3%、骨折・転倒（b）は11.7%である。

新潟スタディーで、咬合の崩壊が転倒につながる身体機能低下に及ぼす影響（①）、口腔疾患と骨折が生じやすい骨粗鬆症・骨密度低下（②）との関連、歯の喪失と栄養との関係（③）、う蝕と心疾

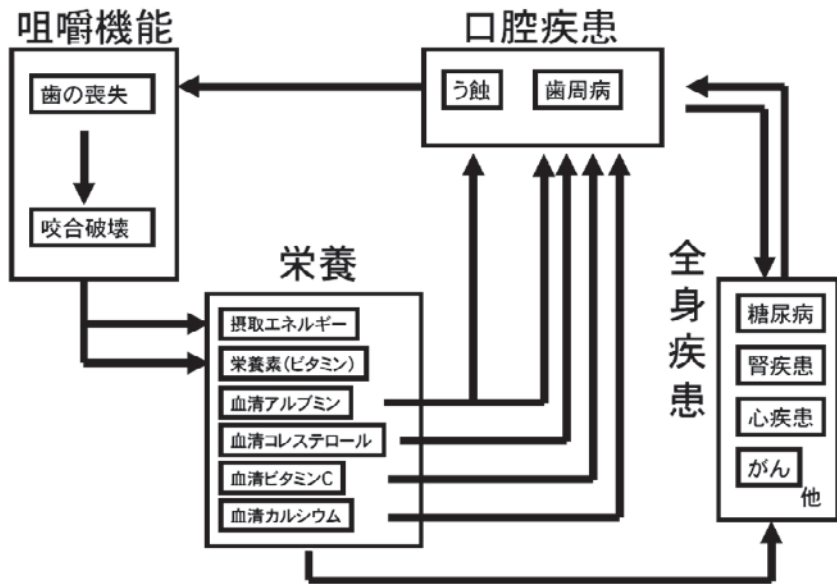


図1. 口腔疾患、咬合破壊と栄養との関係（厚生労働科学研究「口腔と全身の健康」宮崎秀夫 新潟大学大学院教授の研究班報告書から抜粋）

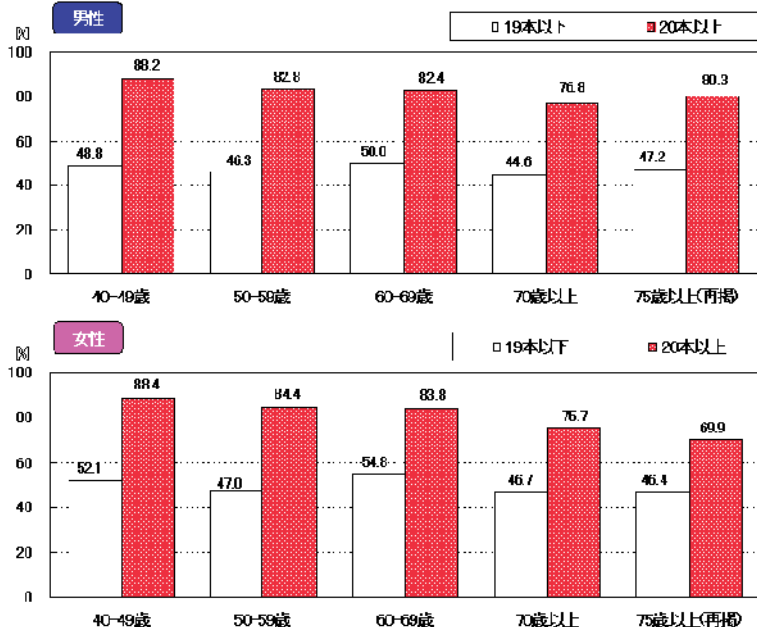


図2. 歯の本数区分別、「何でもかんで食べることができる」と回答した者の割合. 歯が20本以上あると何でもかんで食べることができる人の割合が多い (出典:平成16年国民健康・栄養調査結果の概要 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室).

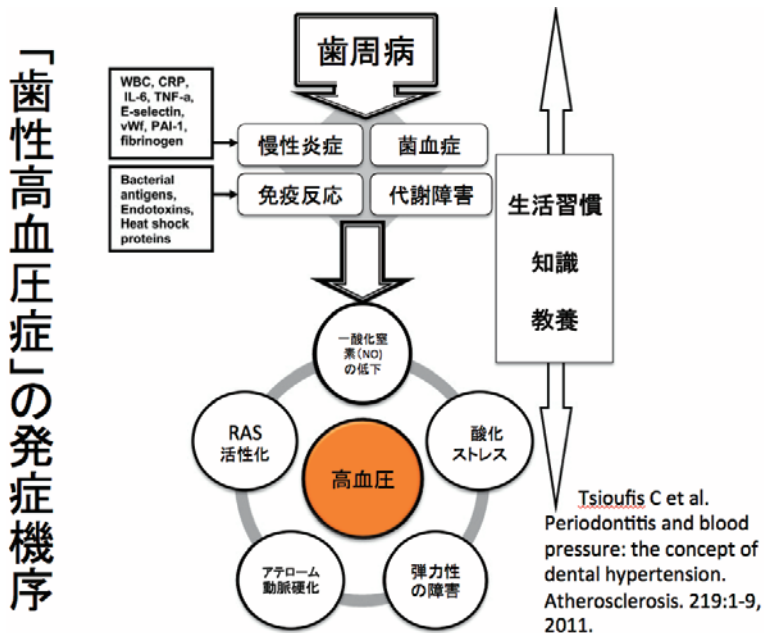


図3. アテネ大学医学部が提唱する「歯性高血圧症」の概念図

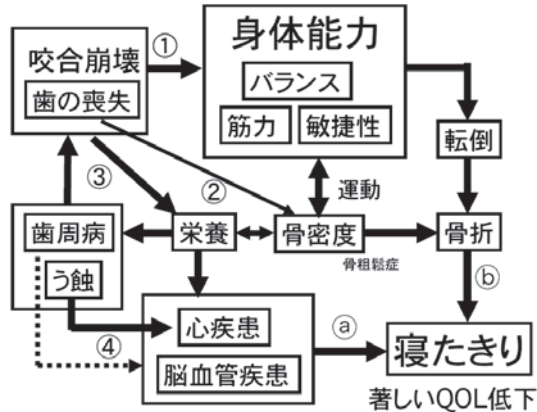


図4. 高齢者が寝たきりにいたるまでの身体能力, 栄養, 口腔疾患, 全身疾患の関連 (出典: 新潟大学宮崎, 葭原教授らを中心とする新潟スタディー研究班, 財団法人 8020 推進財団ホームページ原稿より抜粋)

患との関係 (④) が示されている。

歯が悪いと骨折が生じやすく, 栄養と運動機能全体も低下するので, 外出や運動が出来なくなると考えられる

5. おわりに

栄養・運動機能の他に歯原性菌血症が口腔保健と関係している。口腔保健を維持する体制をどのように整備するかが今後の課題である。

利益相反なし

1. Rivas-Tumanyan S et al: Periodontal Disease,

Hypertension and Blood Pressure Among Older Adults in Puerto Rico. J Periodontol **84**: 203-211, 2013

2. Segura-Egea JJ et al: Hypertension and dental periapical condition J Endod **36**: 1800-1804, 2010

3. Tsioufis C et al: Periodontitis and blood pressure: the concept of dental hypertension. Atherosclerosis **219**: 1-9, 2011