

筋・筋膜性疼痛の末梢神経機構

田口 徹 (名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II)

痛みの克服は理学療法士を含む医療従事者に共通した重要課題である。近年、痛みの基礎研究は飛躍的に進歩し、その知識の蓄積は目覚ましい。しかし、その知識は主として“皮膚の痛み”に関するものであり、筋・筋膜炎の痛みは等閑視され、理解が遅れている。筋・筋膜炎の痛みは皮膚の痛みに比べて、日常生活動作制限に直結し、QOLを著しく低下する。また、治療すべきポイントが明確でない場合が多く、しばしば慢性難治性である。さらに、罹患者は加齢とともに増加するため [1]、高齢化が進行する先進諸国に共通した医療経済問題となっている。にもかかわらず、筋・筋膜性疼痛の基礎研究が遅れてきた理由は、1) その痛みの研究法 (測定法) が確立されていなかったこと、また、2) 臨床に即した信頼できる動物モデルがなかったことが挙げられる。

本シンポジウムではまず、1) 筋・筋膜炎の痛み (侵害受容) の研究法について述べた。これには、痛み刺激に対する逃避閾値を指標とした行動実験、侵害受容器や脊髄後角ニューロンの応答を記録する電気生理学実験、痛覚過敏部位の発痛物質を定量化する生化学実験、痛覚伝導路に発現する疼痛関連タンパクや遺伝子を標識・定量する免疫組織化学/分子生物学実験などがあり、動物個体から器官・組織、細胞・分子レベルまでを対象とした様々な研究法が試行錯誤されている。特に、単一神経記録による骨格筋侵害受容器の電気生理学的記録・解析手法を中心に、その *in vitro* 標本の作製法や活動電位の記録法、また、種々の痛み刺激による興奮・感作作用や病態時における反応性の変化について概説した [2, 3]。また、“筋膜”の侵害受容に関する最近の研究成果 [4-6] では、(1) 筋膜にカルシトニン遺伝子関連ペプチド、サブスタンス P、Peripherin などの痛み受容を担うと考えられる侵害受容線維が密に分布すること、(2) 筋膜に限局した痛み刺激に応答する末梢侵害受容器 (Aδ/C 線維) や脊髄後角ニューロンが存在すること、(3) 筋膜からの痛み入力に侵害受容経路である脊髄後角表層に投射していること、(4) 慢性炎症による病態 (痛覚過敏) 時に、筋膜から入力を受ける脊髄後角ニューロンの割合が有意に増加することを見出した。これらは、筋膜が正常時の痛み (侵害) 受容を担い、病態時の痛覚過敏にも寄与することの実証である。これまで筋膜は筋線維や筋束を被覆し、身体動作を円滑に遂行するための単なる支持組織としてしか考えられてい

なかった。上述の所見は、いわば“忘れ去られた組織”である筋膜に、痛み (侵害) 受容を担う感覚センサー組織としての新しい生理学的役割を付与する研究成果である。

また、2) 臨床に即した動物モデルとして遅発性筋痛 (いわゆる運動後の筋肉痛) モデルを紹介した [7]。遅発性筋痛は不慣れな運動の 1~2 日後に生じる痛みであり、圧迫や収縮時の痛み (機械痛覚過敏) を特徴とする。アスリートやリハビリ訓練中の患者で問題となる。伸張性収縮 (筋が収縮しながら引き伸ばされる) により生じやすいが、伸張性収縮のどの伸張パラメータが遅発性筋痛を生じる要因であるかこれまで不明であった。我々はラットの足関節に種々の異なる関節可動域/角速度の伸張性収縮を負荷し、遅発性筋痛出現の程度が伸張性収縮の伸張関節可動域、および伸張角速度に依存的であることを見出した。

以上のように、理学療法士に関心が高い筋・筋膜性疼痛の研究法、およびその動物モデルについて概説した。このような生理学的・病態生理学的アプローチは、痛みに対する理学療法の治療効果を研究するために有用であると考えられる。

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. Suka M et al: *Mod Rheumatol* **15**: 41-47, 2005
2. Taguchi T et al: *J Neurophysiol* **94**: 2822-2831, 2005
3. Taguchi T et al: *Eur J Pain* **15**: 351-358, 2011
4. Taguchi T et al: *Pain* **138**: 119-129, 2008
5. Hoheisel U et al: *Eur J Pain* **15**: 810-815, 2011
6. Taguchi T et al: *Pain* (in press)
7. Taguchi T et al: *J Physiol* **564**: 259-268, 2005

末梢組織の変化からみた不活動由来の痛みの発生メカニズム

沖田 実¹, 関野有紀¹, 濱上陽平¹, 中野治郎²
(¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科リハビリテーション科学講座運動障害リハビリテーション学分野, ²長崎大学大学院医歯薬学総合研究科理学・作業療法学講座理学療法学分野)

腰痛や関節痛といった運動器の痛みは、外傷に伴う組織損傷や加齢に伴う退行性変化などがその発端になることが多いが、これらに身体の不活動が加わると慢性痛に発展するリスクが高まると指摘されている。また、ギプスなどで四肢の一部を不活動に曝した実験モデルの検討でも痛みが発生する事実が明らかになっている。しかし、不活動由来の痛みの発生メカニズムは不明な点が多く、著者らは末梢組織、中でも皮膚の変化に着目し、

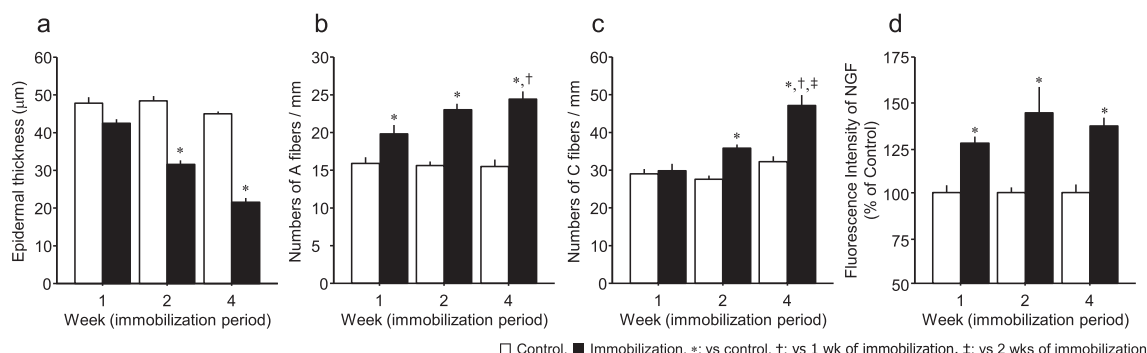


図1. 不活動に伴うラット足底皮膚の組織学的変化

その探索を進めている。

ラット足関節を底屈位で4, 8週間ギプス固定した不活動モデルを用いた自験例の結果では、痛覚閾値の低下がギプス固定2週後から認められ始め、その後はギプス固定の期間に準拠して顕著になった [1]。また、ギプス固定を解除した後の痛覚閾値の推移をみると、4週間のギプス固定の場合は4週間の通常飼育で回復を認め、一過性の痛みである可能性が示唆され、これは末梢組織に痛みの発生原因があると推測している。一方、8週間のギプス固定の場合はその回復に14週間もの期間を要し、慢性痛に発展している可能性が示唆され、この点に関しては神経系の可塑的変容が関与していると推察される [1]。

難治性の慢性痛を呈する複合性局所疼痛症候群においては、皮膚組織に多様な症状が生じることが知られており、炎症性疼痛や神経障害性疼痛といった病態においても末梢神経や表皮ケラチノサイトを含む皮膚組織と痛みとの関連性を示唆する報告がある [2, 3]。そこで、著者らは前述のラット足関節不活動モデルを用いて、足底部皮膚の組織学的変化を検索した。その結果、不活動モデルにおいては表皮の角質層の乱れやその菲薄化を認め、表皮厚を比較するとギプス固定2, 4週後は無処置の対照群より有意に減少していた (図1a) [4]。また、免疫組織化学染色によって末梢神経をA線維とC線維に区分し、その分布密度を比較すると、いずれの線維もギプス固定1週後あるいは2週後から対照群より有意な増加が認められ、これらの変化は不活動期間の延長に伴って顕著になっていた (図1b, c)。さらに、神経成長因子 (NGF) に対する蛍光免疫染色を行い、単位面積あたりの蛍光強度を測定することで表皮におけるNGF発現の半定量解析を行ったところ、NGFの発現はギプス固定1週後より対照群に比べ有意に

増強するものの、その発現レベルは不活動期間を通してほぼ一定であった (図1d) [5]。

以上のことから、不活動によって表皮が菲薄化することで末梢神経終末と外界との距離が縮まり、末梢神経終末自体も増加することから、刺激を鋭敏に感じ取るようになると推察される。そして、このような皮膚組織の変化と痛覚閾値の低下が生じ始める時期は一致していることから、不活動由来の痛みの発生メカニズムの末梢機構の一部ではないかと推測している。また、末梢神経終末の増加に関与するNGF自体も痛みの内因性メディエータであり、この発現増加も痛みの発生メカニズムに関与している可能性がある。しかし、不活動由来の痛みの発生メカニズムに関連した末梢組織の変化は、上記以外にも多数あると予想されるが、現時点では圧倒的にデータが少なく、今後の検討課題といえよう。

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. Hamaue Y et al: Immobilization-induced hypersensitivity associated with spinal cord sensitization during cast immobilization and after cast removal in rats. *J Physiol Sci* doi: 10.1007/s12576-013-0277-4, 2013
2. Almarestani L et al: Autonomic fiber sprouting in the skin in chronic inflammation. *Mol Pain* 4: 56, doi: 10.1186/1744-8069-4-56, 2008
3. Grelik C et al: Autonomic fibre sprouting and changes in nociceptive sensory innervation in the rat lower lip skin following chronic constriction injury. *Eur J Neurosci* 21: 2475-2487, 2005
4. Nakano J et al: Changes in hind paw epidermal thickness, peripheral nerve distribution and mechanical sensitivity after immobiliza-

tion in rats. *Physiol Res* **61**: 643-647, 2012

5. 関野有紀ら：ラット足関節不動モデルの痛みと皮膚における組織学的変化. *日本運動器疼痛学会誌* **4**: 20-27, 2012

侵害性刺激による骨格筋血流変化とその神経性調節

内田さえ（東京都健康長寿医療センター研究所自律神経機能研究室）

理学療法では、骨格筋の血流促進を図る運動や熱、電気刺激のような様々な（物理）療法がなされている。これらの刺激はいずれも骨格筋や皮膚からの侵害性求心性線維を興奮させる共通点がある。本シンポジウムでは骨格筋自体の刺激が骨格筋血流に及ぼす作用とその機序について検討した基礎研究を紹介する。

1. 運動時の筋血流増加反応：ネコの腓腹筋・ヒラメ筋に分布する求心性線維群の割合は、I 群線維が 216 本（12%）、II 群線維が 154 本（9%）、III 群線維が 110 本（6%）であるのに対して、無髄 IV 群線維が 1300 本（73%）も占める [1]。運動時には筋紡錘や腱器官からの I、II 群線維の興奮に加えて、III、IV 群線維も興奮する。しかし、運動時の骨格筋血流の著しい増加の機序には、筋求心性線維の興奮による反射性の影響よりも、骨格筋局所でおこる代謝性因子、機械的因子や神経性因子の関与が強いと考えられている [2]。運動開始時の筋血流増加には、セントラルコマンドにより働く交感神経血管拡張線維の関与が報告されている [3]。一方、運動時には交感神経血管収縮線維が過度な骨格筋血管拡張を抑制し血圧を維持する役割も報告されている [4]。

2. 静止時の全身性の筋血流増加反応：理学療法では筋の痛みなどの改善を図る目的で温熱刺激などの筋の収縮を伴わない刺激も用いられる。私どもは骨格筋の静止時に、侵害性体性求心性刺激で誘発される全身性の筋血流増加反応について調べてきた [5]。麻酔ラットの後肢足蹠に刺入した針を介して電気刺激を与えた際の大腿二頭筋の局所血流を観察した。刺激の電流量により興奮する脛骨神経求心性線維群が異なることを確かめたうえで、種々の電流量の刺激効果を検討した。筋血流と血圧は、I・II 群線維の興奮する刺激では影響を受けないが、III 群の興奮する刺激で軽度上昇し、IV 群線維も興奮する刺激で顕著に上昇した。筋血流と血圧反応の時間経過については両者で違いがあり、血圧上昇が刺激後もしばらく持続するのに対して、筋血流増加は刺激中のみで刺激終了後はむしろ軽度な血流減少に転じた。後肢電気刺激に

よる血圧上昇反応が起こりにくい実験条件（内臓神経の両側性切断）では、逆に筋血流減少反応のみが認められた。この筋血流減少は第 2～3 腰髄交感神経幹切断により後肢の筋血管支配交感神経を切断すると消失した。したがって、後肢足蹠の電気刺激による III 群と IV 群（とくに IV 群）求心性線維の興奮は、筋交感神経を介した反射性の筋血流減少反応と、反射性の血圧上昇反応による二次的な筋血流増加反応が筋血流減少反応を上回るため、結果的には筋血流の増加反応が起こると考えられる。これらの反射性反応は、刺激と同側・反対側のいずれの大腿二頭筋血流でも認められる全身性反応である。

3. 静止時の局所性の筋血流増加反応：侵害性刺激で起こる局所性の血流増加反応については、皮膚での軸索反射性の血管拡張反応が知られている。私どもは、骨格筋においても軸索反射様の筋血流増加反応が起こる可能性を考え、筋求心性線維の逆行性興奮による筋血流反応を調べた [6]。麻酔ラットの脊髄神経の後根を脊髄に入る手前で切断し、切断末梢端を電極に乗せて逆行性に電気刺激した。第 3～5 腰髄後根の刺激は、血圧変化を伴わずに刺激と同側の大腿二頭筋血流を増加させた。筋血流増加反応は、30 秒間の刺激に対して 4～12 分持続した。後根の逆行性刺激による大腿二頭筋血流増加反応は、後根に含まれる IV 群線維の興奮する刺激強度で認められ、5～20Hz の興奮度刺激で顕著となり、刺激と同側の筋でのみ認められる特徴があった。この筋血流増加反応は、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）受容体遮断薬（hCGRP (8-37)）の筋への局所投与で消失した。同様の後根の逆行性刺激は後肢の筋において CGRP を放出させることが報告されている [7]。したがって、筋求心性線維の逆行性興奮によって放出された CGRP が筋血管拡張を起こし、血流を増加させると考えられる。近年、ラット腓腹筋の温熱刺激が刺激部周辺で CGRP を介した筋血流増加反応を起こすことが見いだされた [8]。ヒトでは下肢の温熱刺激により刺激部の筋血流増加反応が観察されている [9, 10]。このようなヒトでの局所の筋血流増加反応にも、CGRP を介した軸索反射様の血流増加反応が関与する可能性が考えられる。

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 A et al: *Rev Physiol Biochem Pharmacol* **130**: 1-328, 1997
2. Joyner MJ et al: *J Physiol* **583**: 855-860, 2007

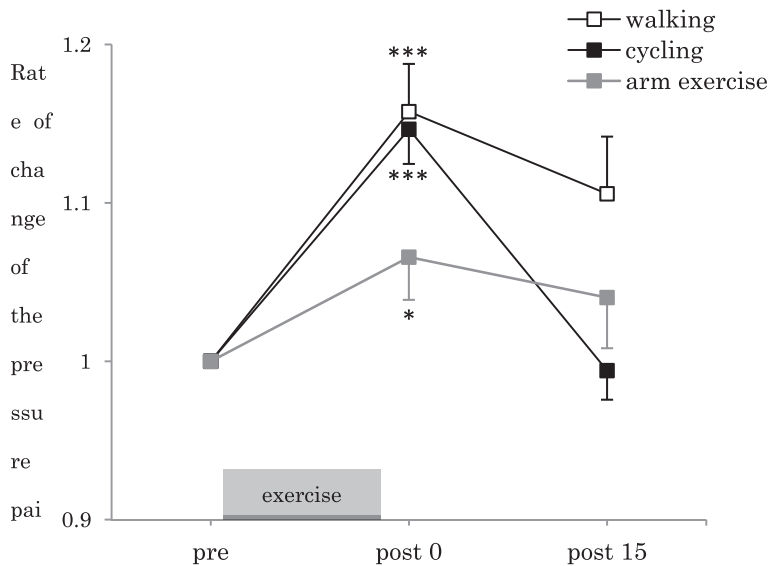


図1. 運動による圧痛閾値の変化

- Matsukawa K et al: Front Physiol **4**: 1-6, 2013
- Masuki S et al: J Physiol **553**: 191-201, 2003
- Noguchi E et al: J Auton Nerv Syst **75**: 78-86, 1999
- Sato A et al: Neurosci Lett **283**: 137-140, 2000
- Sakaguchi M et al: J Physiol **434**: 257-270, 1991
- Noguchi E et al: J Physiol Sci **59**: 421-427, 2009
- Keller DM et al: J Physiol **588**: 3799-3808, 2010
- Heinonen I et al: J Appl Physiol **111**: 818-824, 2011

理学療法の疼痛抑制効果を探る

松原貴子^{1,2}, 牛田享宏², 城由起子³, 下 和弘²
 (1日本福祉大学健康科学部リハビリテーション学科, 2愛知医科大学学際的痛みセンター, 3名古屋学院大学リハビリテーション学部理学療法学科)

運動療法や物理療法などの理学療法は主観的な疼痛感覚や疼痛関連症状の改善に奏功すると報告されている。Sluka ら [1] は、理学療法による疼痛抑制メカニズムの可能性として、末梢での機械的・化学的刺激入力の除去やオピオイドレセプターの活性化、中枢神経での下行性抑制系の活性増加や興奮系の抑制によって、侵害受容器や脊髄後根神経節の活性・感受性の軽減が起こり、上位中枢への刺激入力を減じて疼痛を抑制するとして

いる。しかし、理学療法による疼痛抑制メカニズムは不明な点が多く、我々は健常者または慢性痛有訴者を対象に運動や物理刺激が疼痛抑制メカニズムに及ぼす影響について調べている。

熱刺激による疼痛抑制効果について、侵害温度での広汎性侵害抑制調節 (DNIC) が知られている [2] が、理学療法で用いる非侵害温度による効果は明らかでない。健常者を対象に左前腕をホットパックで加温した結果、対側前腕の熱痛覚閾値は曝露直後・10 分後に有意な低下を示した。したがって、温熱療法は即時的な効果であるが広汎性の疼痛抑制効果を示し、コンディショニングとしての有効性が期待される。

運動による疼痛抑制効果について、健常者を対象に下肢ベダリングを 3METs 相当の負荷で 20 分間実施すると遠隔の僧帽筋圧痛閾値が運動直後に上昇し、広汎性の疼痛抑制効果が得られた [3]。また、歩行や上肢運動でも同様の効果を確認した (図1)。興味深いことに、下肢ベダリングの運動イメージ想起でも圧痛閾値が上昇し、心拍変動周波数解析による低周波数帯値/高周波数帯値 (LF/HF 比) が運動実施時と同様の変化を示した [3]。

一方、慢性頸肩痛有訴者を対象に反復肩挙上運動を実施した結果、健常者で増加する圧痛閾値は変化せず、運動前の LF/HF 比は健常者よりも高値かつ運動に即した変化を示さなかった [4]。また、等尺性の反復 grip 運動を実施した結果、健常者では運動側・対側ともに前腕の圧痛閾値が上昇

したが、慢性痛有訴者では変化せず、運動に伴う LF/HF 比の変化も示さなかった。さらに、慢性痛患者を対象とした認知行動療法による痛みと活動性に関する調査では、運動を習慣化し実施できたものでは痛みの改善を認め、しかもその運動は歩行や体操などの軽度なもので効果が得られた[5]。これらより、運動は即時的に広汎性の疼痛抑制効果を示し、習慣化することでその効果は運動終了後も持続する可能性がある。しかし、慢性痛有訴者では疼痛調節メカニズムに変調をきたしている可能性があり、疼痛調節メカニズムの異常と自律神経系の変調とには何らかの関係性が示唆される一方、運動習慣の継続がそれらを改善しうる可能性が推察される。

以上より、物理刺激や運動が広汎性の疼痛抑制効果を示すことから、これらが中枢を介する疼痛調節メカニズムに抑制性的の影響を付与すること、さらに慢性痛患者では疼痛抑制メカニズムに変調をきたしている可能性が示唆されるが、これらのことはメカニズムの一端にしかすぎず、理学療法による疼痛抑制の生理学的メカニズムの解明には今後さらなる検討が必要である。

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. Sluka KA: General principles of physical therapy practice in pain management. Slika KA (ed): Mechanisms and Management of pain for the physical therapist, IASP Press, Seattle, pp133-141, 2009
2. Lautenbacher S et al: Inhibitory effects do not depend on the subjective experience of pain during heterotopic noxious conditioning stimulation (HNCS): a contribution to the psychophysics of pain inhibition. *Eur J Pain* **6**: 365-374, 2002
3. 城由起子ら：運動イメージによる疼痛抑制効果の検討. *Pain Rehabilitation* **3**: 9-14, 2013
4. Shiro Y et al: Effect of muscle load tasks with maximal isometric contractions on oxygenation of the trapezius muscle and sympathetic nervous activity in females with chronic neck and shoulder pain. *BMC Musculoskelet Disord* **13**: 146, 2012 [Epub Ahead]
5. Matsubara T et al: Effects of cognitive-behavioral therapy on pain intensity and level of physical activity in Japanese patients with chronic pain-a preliminary experimental study. *J Phys ther* **1**: 49-57, 2010

パネキシンと心房リモデリング, 心房細動

古川哲史¹, 大石咲子¹, 笹野哲郎² (1東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理学, 2東京医科歯科大学保健衛生学科生命機能情報解析学)

1. はじめに

パネキシン pannexin は, コネキシン connexin とともにギャップ結合チャネルファミリーのメンバーである. コネキシンが主に細胞—細胞間に位置し, イオンや ATP などの小分子の細胞間の移動に関与するのに対して, パネキシンは細胞表面に位置し細胞外への小分子の放出に関与する. 最近, パネキシンを介する ATP の放出がマクロファージによるアポトーシス細胞の食食の eat me signal に関与すること [1], 神経細胞やアストロサイトで inflammasome 活性化を介して炎症に関与すること [2] などが報告された. また心臓では, 圧負荷に対する線維化に関与する [3].

不整脈の中で最も頻度の高い心房細動では, C-reactive protein (CRP) や interleukin (IL)-6 などが上昇していることなどから, 病態発現の基盤に慢性炎症があることが示唆される. そこで, 今回心房細動の病態発現へのパネキシンの関与を in vitro 実験, in vivo 実験から検討した [4].

2. 心房伸展によるマクロファージ動員

心房細動患者でもっとも普遍的に見られる臨床所見は心エコー検査による左房径の拡張であることから, 心房筋伸展と炎症の關係に着目した. Boyden chamber を用いた in vitro 実験で, 上層のフィルター膜上にマウス腹腔マクロファージあるいはマクロファージ細胞株 J774, 下層シリコンチャンバー上に心房筋由来細胞株 HL-1 を培養し, HL-1 にのみ 20% の周期的伸展を加えると, 上層のマクロファージがフィルター膜を通り下層に移動した. Boyden chamber では HL-1 細胞とマクロファージが非接触性に共培養されることから, 伸展刺激により HL-1 細胞から放出される何らかの液性因子がマクロファージの遊走を刺激したことが示唆される. 伸展刺激を加えた HL-1 細胞の conditioned medium を Boyden chamber の下層に加えることにより, フィルター膜を介してマクロファージの遊走が刺激されることから, 液性因子の関与の妥当性が確認された.

3. パネキシンの関与

伸展刺激によるマクロファージ遊走が, ATP 分解薬 apyrase, ATP 受容体の非特異的ブロッカー PPADS により抑制されることから, 液性因子として ATP の関与が示唆された. Luciferin-luciferase アッセイ法を用いて, 伸展刺激により心房筋から ATP が放出されること, スライドチャンバー

を用いた実験で ATP によりマクロファージの遊走が刺激されることから, 液性因子 = ATP であることが確認された.

Carbenoxolone はギャップ結合チャネルブロッカーで, 低濃度ではパネキシンを, 高濃度ではパネキシンとコネキシンをブロックする. Carbenoxolone 低濃度 (20 μ M) により, 心房筋伸展によるマクロファージ遊走, ATP 放出が抑制された. パネキシンには, パネキシン 1, 2, 3 の 3 種類があり, 心房筋ではパネキシン 2 だけが発現する. そこで, パネキシン 2 を siRNA によりノックダウンすると, 心房筋伸展によるマクロファージ遊走と ATP 放出が抑制された.

以上の in vitro 実験から, 心房筋の伸展によりパネキシン 2 を介して放出された ATP がマクロファージの動員を誘導することが示された.

4. In vivo 心房細動モデルにおける検討

In vivo 心房細動モデルとして, 横行動脈縮窄術 (TAC) を用いた. TAC により, 心房へのマクロファージ浸潤が増加し, 電気刺激による心房不整脈の誘発率が上昇した. Carbenoxolone 50 nmol/g では心電図の PR 間隔, QRS 時間に影響しなかったことから, この投与量ではコネキシンに対する有意な作用はないことが示唆される. Carbenoxolone 50 nmol/g により, TAC による心房へのマクロファージ浸潤, 電気刺激による心房不整脈の誘発率上昇が抑制された.

5. まとめ

心房細動の発症, 持続, 進展に炎症が関与することが知られている. 今回の検討で, 心房の伸展によりパネキシンを介して放出される ATP が, マクロファージの動員, 炎症の惹起を介して心房細動発現に関与することが示唆された. パネキシン 2 は心臓の中では心房特異的に発現することから, 心房細動の新たな創薬の標的とな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以下のとおり: 小野薬品工業株式会社—受託研究

1. Chekeni FB et al: Nature **467**: 863–867, 2010
2. Silverman WR et al: J Biol Chem **284**: 18143–18151, 2009
3. Nishida M et al: EMBO J **27**: 3104–3115, 2008
4. Oishi S et al: J Pharmacol Sci **120**: 296–304, 2012

cAMP 標的心血管治療薬

南沢 享¹, 横山詩子², 石川義弘² (1東京慈恵会医科大学細胞生理学講座, 2横浜市立大学医学部循

環制御医学講座)

心筋細胞・血管平滑筋細胞においては、カテコラミンをはじめとするGタンパク質結合受容体を介したcAMPシグナルは、細胞内カルシウム濃度の調節を介して、心筋・平滑筋収縮力を制御するばかりでなく、様々なシグナル経路を活性化させ、多様な反応を引き起こす。古典的な強心剤である β 受容体刺激薬は、アデニル酸シクラーゼの活性化を経て、心筋細胞内cAMP濃度を高める。cAMP依存的にPKAが活性化し、カルシウムチャネルや筋小胞体タンパク質のリン酸化を介して細胞内カルシウムの利用効率を高める。これによって心筋収縮拡張性が増強するために、 β 受容体刺激薬は急性心不全の治療に用いられている。しかし、持続的な β 受容体刺激は、アポトーシスや線維化などを誘導し、慢性心不全に対してはむしろ害をなすため、 β 受容体遮断薬が適応される。さらにcAMPはPKA経路とは別にEpacと呼ばれるGDP/GTP交換タンパク質(GEF)を活性化させ、Rapシグナル調節を介した制御機構が存在する。cAMP産生を制御するアデニル酸シクラーゼには9つのサブタイプが存在し、各々が独立して心機能制御を行う。特に心血管系においては5型、6型のサブタイプが重要である。このサブタイプの多様性は、同時に心機能制御の多様性を意味し、薬剤開発として、分子標的を提供する。さらに細胞膜表面上の受容体レベルでも、サブタイプの存在が、多様性をさらに複雑するとともに、生体では巧妙な調節がされている。本シンポジウムでは、その一例として、我々の研究から、胎生期特有の大血管である動脈管におけるプロスタグランジン E_2 (PGE_2)刺激の作用を取り上げて解説した。

PGE_2 は胎盤と動脈管で産生され、胎児期の動脈管開存を維持している。 PGE_2 刺激によって、 PGE 受容体(主にEP4)からGsタンパク質-アデニル酸シクラーゼ2型、5型、6型を介してcAMP産生が増加し、これがミオシン軽鎖キナーゼを抑制し、動脈管を弛緩させる[1]。生後は、主な PGE_2 供給源である胎盤の消失に加え、肺循環の開始に伴い、肺での PGE_2 分解が亢進することによって、新生児の血中 PGE_2 濃度は著しく低下する[1]。さらに動脈管での PGE 受容体発現減少が加わり、生後急速に PGE_2 による動脈管拡張作用が減弱する。一方、動脈管には生後すぐに閉鎖するため、大血管であるが構造上、生理的内膜肥厚や弾性線維の形成不全など、他の大血管には認められない血管リモデリングが生じている。内膜肥厚には、動脈管平滑筋細胞の増殖と内腔側への遊走、ヒア

ルロン酸をはじめとする細胞外基質の増加、断片化したエラスチン線維による内弾性板の分断など多くの現象が複合的に関与している。我々はEP4刺激によって、ヒアルロン酸合成酵素2型(HAS2)が増加し、細胞外基質であるヒアルロン酸産生が亢進すること、それに伴い動脈管平滑筋細胞の遊走能が促進し、内膜肥厚形成が促されることを見出した[2]。さらにEP4刺激は動脈管内弾性板の断裂や弾性線維の形成不全を引き起こすことが判明した(未発表)。以上の結果は、従来から分かっていた動脈管拡張作用(機能的閉鎖抑制効果)のみならず、内膜肥厚形成(解剖学的閉鎖促進効果)という、一見相反する役割を持つことを明らかにした点で重要である。

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. Smith GC: The pharmacology of the ductus arteriosus. *Pharmacol Rev* **50**: 35-58, 1998.
2. Yokoyama U et al: Chronic activation of the prostaglandin receptor EP4 promotes hyaluronan-mediated neointimal formation in the ductus arteriosus. *J Clin Invest* **116**: 3026-3034, 2006.

硫化水素イオンによる心臓レドックス恒常性制御

西田基宏(自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター(生理学研究所)心循環シグナル研究部門,九州大学大学院薬学研究院創薬育薬産学官連携分野, JST さきがけ)

硫化水素(H_2S)は火山から噴き出る卵の腐ったような臭い成分であり、生体にとって極めて有毒なガスとして知られている。その一方で、哺乳動物の脳内スルフィド量が報告され、 H_2S 投与が血管拡張や長期記憶増強など様々な生理機能を発揮することが示されたことから、 H_2S が一酸化窒素(NO)や一酸化炭素(CO)に続く第3のガス状シグナル分子として考えられるようになってきている。しかし、血中硫化物の濃度が約100 μM -300 μM 存在するにもかかわらず、実際の血中 H_2S 濃度が1 μM にも満たないことも明らかにされ、 H_2S ガスが本当に主要なシグナル分子として働くのかどうか疑問視する声も出ている。我々は、硫化水素イオン(HS^-)が内因性の親電子物質のスルヒドリル化(SH基付加)というユニークなメカニズムによってその代謝とシグナル活性を制御することを初めて明らかにした(図1)。高血圧や虚血などの負荷により生じる心臓の形態構造改変(リモデリング)に酸化/ニトロ化ストレスが関

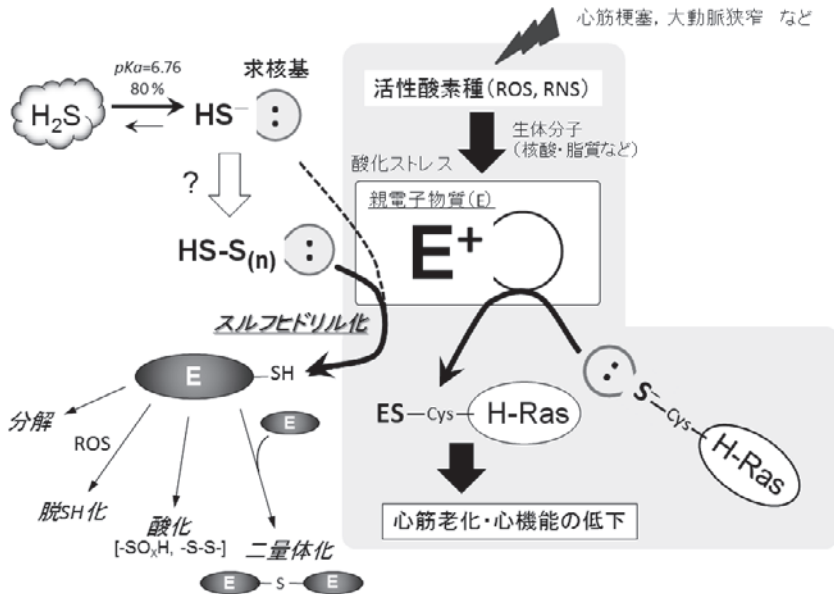


図1. 親電子/求核シグナルバランスによる心筋レドックス恒常性維持機構とその破綻により生じる心筋老化の分子機構。活性酸素種と生体分子との反応により形成される親電子物質 (Electrophil: E) は心臓組織中の活性イオウによって主に4つの経路に代謝される。

与すること、およびこの過程に誘導型 NO 合成酵素が関与することが知られている。我々は H_2S の求核性の高さに着目し、 H_2S による心筋保護のメカニズムに活性酸素シグナルの抑制が関与する可能性を検討した。心筋梗塞4週間後において、心臓は重度な心機能低下 (心不全) を呈しており、心不全の重症度に比例して親電子性の2次生成物 (8-nitro-cGMP) の産生量が顕著に増加していた。8-nitro-cGMP の蓄積は、NaHS 投与により完全に抑制された。ラット新生児心筋細胞に 8-nitro-cGMP を刺激すると、癌遺伝子産物 H-Ras の活性化に依存して細胞老化が誘導された。8-nitro-cGMP は H-Ras の Cys184 残基を特異的に修飾 (S-グアニル化) することが質量分析の結果から明らかとなり、H-Ras の Cys184 を Ser に置換することで 8-nitro-cGMP 刺激による細胞老化誘導がほぼ完全に抑制された。さらに、NaHS 処置により 8-nitro-cGMP を介した H-Ras の活性化および細胞老化が完全に抑制され、心筋梗塞後の心臓リモデリング (線維化とアミロイドの蓄積) および心機能低下も有意に改善された [1]。一方、8-nitro-cGMP と H_2S との反応に金属や GSH などの触媒が必要であることや、リコンビナント H-Ras タンパクの S-グアニル化修飾が一部可逆的であった

ことから、H-Ras の Cys184 の SH 基が polysulfide ($-S_nH$) を形成することで 8-nitro-cGMP を消去している可能性が示された。以上の結果は、蛋白質のシステイン polysulfide が心筋の酸化ストレスに対する適応・不適応を制御することを強く示唆している。

H_2S の生理機能については、ガス状シグナル分子としての役割を中心に研究が進められてきた。しかし、それらはあくまでも氷山の一角であり、我々は化学の原理を用いて HS^- の求核性を示すことによって、親電子物質のスルフヒドリル化というユニークなレドックス制御機構を見出すことに成功した。今後は、 H_2S/HS^- そのものが生体内のレドックス恒常性を制御する分子実体かどうか解明することで、レドックスシグナルの統合的理解がいつそう進展すると期待される。また、ROS シグナルの異常による慢性心不全の予防、治療という観点からも、親電子物質のスルフヒドリル化は興味深い。 H_2S/HS^- そのものは毒性や安定性に問題があることから、 H_2S と同様の求核性をもつポリ硫黄の心臓への蓄積を主眼とする薬の開発が、新たな心不全治療に結びつくものと期待される。

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. Nishida M et al: Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulfhydration. *Nature Chem Biol* 8: 714-724, 2012

循環器疾患治療における TRP チャネルを標的とした創薬可能性

井上隆司¹, 史 娟^{1,2} (福岡大学医学部生理学, ²第 4 軍医大学)

TRP チャネルは種々の物理化学刺激で活性化・制御されるユニークな Ca^{2+} 透過型陽イオンチャネルである。その活性化刺激は、ホスホリパーゼ C 共役型受容体のアゴニスト、温度変化や機械刺激、フェロモン、カプサイシン、ニンニク、ショウガの有効成分を始めとする種々の動植物由来有機化合物、排気ガス、タバコ煙等の環境有害物質等、極めて多彩である。1995 年に最初の哺乳類 TRP チャネルがクローニングされて以来、ヒトでは現在 6 ファミリー、28 種の TRP チャネルのアイソフォームが知られている。TRP 蛋白質は、体のほぼ全ての器官・組織に発現しており、種々の生理機能の制御や病態形成に密接に関わっていることが明らかとなってきた [1]。

心血管系（心筋細胞、心線維芽細胞、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、血管自律神経・感覚神経等で構成される）には 17 以上の TRP アイソフォームが発現しており、心不整脈・病的心肥大・心不全・心筋虚血障害、肺高血圧・本態性高血圧・血管異常攣縮・増殖性血管病変等、種々の心血管病態に密接に関わっていることが明らかとなってきた（図 2）。しかしその相互の関係は、非常に複雑である。例えば、血流の調節においては、内皮からの弛緩・過分極因子の放出過程、神経体液性因子や内因的機械刺激（血圧・血流）による血管平滑筋収縮の制御機構等が複雑に絡み合っており、少なくとも 10 以上の TRP チャネル（TRPC1/C3/C7, TRPV1/V2/V4, TRPM4/M5, TRPA1, TRPP2 等）が関わっている証拠がある [2]。TRP チャネルを介したシグナル伝達の多くは、その Ca^{2+} 透過性によると考えられている。例えば、心ストレス（圧負荷、神経体液性因子の過剰活性）時に生じる病的な心肥大では、TRPC1/C3/C4/C6 を介した Ca^{2+} 流入によってカルシニューリンの活性化→NFAT の脱リン酸化→NFAT の核内移行→心肥大応答遺伝子の活性化、といった一連の伝達過程が関与していることが知られている [3]。しかしここで誤解をしてはならないのは、あくまでも TRPC チャネルを介した Ca^{2+} シグナル伝達は、心肥大応答に関わる極めて複雑なシグナル伝達網の一部であり（しかし必

須の要素でもある）、十分条件ではないということである。いずれにせよ、これまで蓄積されてきた TRP チャネルの役割は、新しい循環器疾患治療薬創製の標的として魅力的であり、すでに幾つかの効力に優れた化合物が、大規模なスクリーニングによって見出されている（表 1）。例えば、ピラゾール化合物の Pyr-3 は TRPC3 を比較的特異的に且つマイクロモル以下の濃度で抑制するという報告がされ、実際、心肥大抑制と心機能改善効果 [4]、血管過剰収縮の抑制 [5, 6] が相次いで報告されている。しかし、後の研究から、ストア枯渴刺激活性化 Ca チャネル (SOC) も、ほぼ同程度の効力で抑制されることが報告された [7]。

TRP スーパーファミリーのうち、最も化学構造解析が進んでいるのは TRPV1 である。X 線構造解析による結晶構造は知られていないものの、nM の効力を得るために必要なファルマコフォアに基づいた選択的阻害薬が開発され、既に臨床試験で良好な結果を得つつある [1]。しかし同時に幾つかの問題点もクローズアップされている。一つは哺乳動物間で効力がかなり異なること (species-specific)、そしてもう一つは TRPV1 の活性化刺激の種類（カプサイシン、熱、pH 低下、機械刺激、炎症性物質等）によって、阻害薬の効力が大きく異なる点である (modality-specific)。後者では、鎮痛効果が得られると同時に体温上昇の副作用がみられることが大きな問題となっている [1]。

一般に、イオンチャネルの開閉機構は、ボア領域とそれ以外の刺激受容・変換領域の相互作用が重要であると考えられている。例えば、結晶構造に基づいた詳細な構造解析が行われている電位依存性 K チャネルでは、電位センサー領域 (S1-S4) が S4-S5 リンカーを介してボア領域 (S5-P-loop-S6) を物理的に引っ張り開口しやすくしていると考えられている。しかし、TRP チャネルの刺激受容・変換部位は、細胞内領域 (N 端, C 端) から膜貫通領域まで広く分布しており、これらすべての領域を介したボア領域への allosteric coupling がチャネルの開閉を引き起こすと考えられている [8]。また TRP チャネルの細胞内領域は disordered 配列を多く含み、それによって自由なコンフォメーション変化を起こし、転写因子に見られるような非常に多くのシグナル分子との相互作用をダイナミックに行っている [9] 可能性がある (井上, 未発表)。このことが、同一の TRP チャネル分子であっても、細胞の種類が異なると全く異なる活性化刺激に応答し、異なるシグナル伝達を行っている理由の一つであると推測される (cell

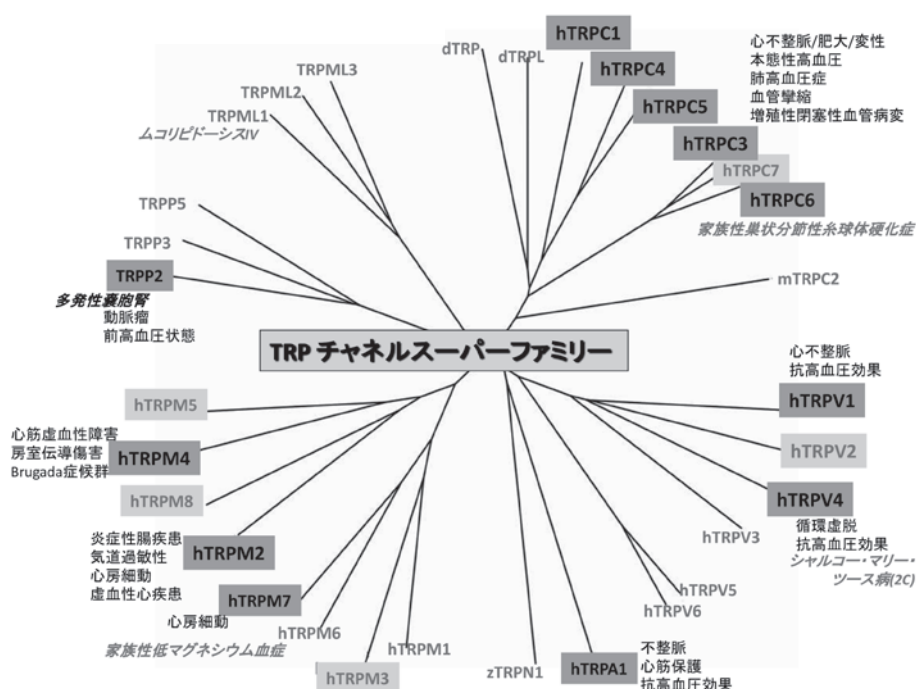


図2. 心血管系 TRP チャンルの機能と異常

表1. 比較的選択性の高い心血管作動性 TRP 阻害薬

	target	ED ₅₀ or IC ₅₀ (nM)	nonspecific targets
GSK1016790A	TRPV4 activator	18 (mouse) 2.1 (human)	not known
GSK2193874	TRPV4 blocker	20-50	not known
GSK2263095	TRPV4 antagonist	3	not known
ML204	TRPC4 blocker	960	TRPC6 (18000nM)
Pyr-3	TRPC3 blocker	700-800	Stim1/Orai1 (540nM)
Pyr-6	Sim1/Orai1 blocker	490	TRPC3 (18460nM)
Pyr-10	TRPC3 blocker	720	Stim1/Orai1 (13080nM)
Anilino-thiazol compounds	TRPC3/C6 blocker	4-80	not known

context-specific signaling)。

これまでのTRPチャンネル阻害薬のスクリーニングは従来のチャンネル創薬の手法に習い、lock-and-keyの考えに基づいた戦略によって行われてきた。その結果得られた殆どは膜貫通領域に何らかの形で作用する化合物であると思われる。しか

し上述したように、TRPの刺激受容・変換部位は細胞内領域にも広く分布しており、またポア領域に近い膜貫通領域はTRPスーパーファミリー間で高い相同性を示すことが知られている。従って、従来の戦略で選択的な薬物を得るのは困難であると思われる。結論として、(1) E3細胞外領域を標

的とした創薬 [10], (2) 細胞内 disordered 領域を標的とした小分子スクリーニング [9], (3) 各 TRP を制御するシグナル伝達網におけるハブ分子の探索等が, 今後新たに探るべき方向性であろう.

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. Moran MM et al: Nat Rev Drug Discov **10**: 601-620, 2011
 2. Inoue R et al: Pharmacol Ther **123**: 371-385, 2009
 3. Eder P et al: Circ Res **108** (2): 265-272, 2011
 4. Kiyonaka S et al: Proc Natl Acad Sci USA **106** (13): 5400-5405, 2009
 5. Adebisi A et al: Hypertension **60**: 1213-1219, 2012
 6. Koenig S et al: J Pharmacol Exp Ther **344**: 33-40, 2013
 7. Schleifer H et al: Br J Pharmacol **167**: 1712-1722, 2012
 8. Latorre R et al: Quarter Rev Biophys. **42** (3): 201-214, 2009
 9. Uversky VN et al: Biochim Biophys Acta **1804**: 1231-1264, 2011
 10. Xu SZ et al: Nat Chem Biol **23** (10): 1289-1293, 2005
-

体性—循環反射に対する軽微な皮膚刺激の効果と情動

渡辺信博 (東京都健康長寿医療センター研究所 自律神経機能研究室)

触刺激を含めた体性感覚刺激は、種々の生体反応を誘発しうる。例えば、体性感覚刺激は感覚を生じさせる。さらに、刺激の種類により異なる情動を惹起し得る。情動は、自律機能に影響を与えることは良く知られているが、体性感覚刺激自体が意識や情動とは無関係に自律応答を生じさせることが麻酔ラット [1] や睡眠中のヒト [2] を用いた研究により示されている。上記のような生体反応に加え、我々は、体性感覚刺激により誘発される自律神経応答が、軽微な皮膚刺激 (タッチ) によって調節されることを見出した [3]。すなわち、麻酔ラットの後肢の体性神経 (脛骨神経) への電気刺激により誘発される体性-心臓交感神経性 C 反射が、柔らかいエラストマー製のブラシ (microcone) を用いたタッチにより抑制された。体性-心臓交感神経性 C 反射に対する影響は、タッチする物体表面の形状により異なり、平坦な円盤 (flat disc) を用いたタッチでは影響がなかった。

この発見を基に、最近我々はヒトと動物で2つの実験を行った。すなわち、侵害性熱刺激により誘発される循環応答に対するタッチの効果について、意識下のヒト [4] および麻酔ラットを対象に検討した。ヒトを対象とした実験では、循環機能の指標として、心拍および指尖脈波を計測した。右足底に対して侵害性熱刺激を与え、循環応答 (心拍数および指尖脈波の波高幅の変化) を誘発し、右足内果に対してタッチした。熱刺激による循環応答は、microcone を用いたタッチで抑制されたが、flat disc でのタッチでは有意な変化はなかった。タッチに用いたツールの形状の違いは、ほとんどの被験者が認識できなかった。麻酔ラットを対象とした実験では、ラットの腰部に侵害性熱刺激を与えることにより心拍応答を誘発した。microcone を用い、一側大腿内側部に対してタッチしたところ、熱刺激による心拍応答は抑制された。これらヒトおよびラットの結果は、熱刺激による循環応答に対するタッチの抑制は、意識下のヒトおよび麻酔ラットにおいて、共通のメカニズムで生じることを示唆する。

さらに、ヒトおよびラットいずれにおいても、タッチは安静時心拍数に影響を及ぼさなかったことより、おそらく脊髄レベルにおいて、タッチが侵害入力を抑制した結果、熱刺激による心拍応答を抑制したことが考えられる。我々の先行研究 [3]

により、タッチの効果にはオピオイド系の関与が示唆されている。したがって、脊髄オピオイド系に着目して、麻酔ラットを対象にタッチの作用機序を検討した。

麻酔ラットの腰髄クモ膜下腔に留置したカテーテルを介してオピオイド受容体遮断薬 naloxone を投与したところ、侵害性熱刺激による心拍応答に対するタッチの抑制効果は見られなかった。すなわち、タッチの効果は、脊髄オピオイド受容体を介して生じていることが示された。続いて、タッチの効果に関連するオピオイド受容体の種類を検討した。 δ -オピオイド受容体遮断薬 naltrindole 投与時、熱刺激による心拍応答は、タッチにより抑制された。その抑制の程度は、溶媒 (生理食塩水) を投与した時と同程度であった。一方、 μ -オピオイド受容体遮断薬 CTOP を投与したところ、タッチの抑制効果は見られなかった。したがって、タッチの効果には脊髄 μ -オピオイド受容体が関連することが示された。

以上の結果より、軽微な機械的皮膚刺激 (タッチ) は、認識や情動とは無関係に、自律神経反射経路への侵害受容伝達を抑制することが示された。さらに、タッチによる侵害受容伝達の抑制は、脊髄内の μ -オピオイド系を介することが明らかになった。

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. Sato A et al: *Physiol Biochem Pharmacol* **130**: 1-328, 1997
2. Lavigne GJ et al: *Clin Neurophysiol* **112**: 532-535, 2001
3. Hotta H et al: *Eur J Pain* **14**: 806-813, 2010
4. Watanabe N et al: *J Physiol Sci* **62**: 343-350, 2012

皮膚への触刺激による側坐核ドーパミン放出

下重里江^{1,2}, 黒澤美枝子^{1,3} (¹国際医療福祉大・基礎医学研究センター, ²国際医療福祉大・保健医療・理学療法, ³国際医療福祉大・薬)

マッサージなどの触刺激には心拍数・血圧低下などの自律機能への影響以外に、リラクセーション効果や不安・うつへの軽減といった精神心理的な作用もある。この精神心理的な効果のメカニズムとして、尿中のドーパミンやセロトニン量の変化から、脳内でそれらの神経伝達物質が触刺激によって変化することが推測されてきた [1]。しかし、これらの神経伝達物質が触刺激時に、脳内で実際に変化していることの直接証明はなかった。本稿では、快情動中枢の一つであり、うつ病の病態生理とも

密接に関係のある側坐核でのドーパミン放出が、触刺激によって増加することを直接証明した我々の研究結果 [2] を紹介する。側坐核ドーパミン放出の測定にはマイクロダイアリシス法とHPLCを用いた。

意識下ラットを触刺激に対する habituated (実験前に2週間以上ハンドリングを行った) 群と naïve (ハンドリングを行っていない) 群に分けた。habituated 群の安静時ドーパミン放出は $12.3 \pm 7.0 \text{ fmol } 10 \mu\text{l}^{-1}$ であり、40分間にわたり安定していた。5分間の触刺激を約 $80\text{--}100 \text{ mmHg}$ の圧で habituated 群の背部 (両側) に徒手にて加えると、側坐核のドーパミン放出は刺激中5分間から刺激終了後の10分間まで、刺激前値に対して113%、106%、105%と連続して有意に増加した。naïve 群でも触刺激によって、habituated 群と同様に刺激中から刺激終了後10分間まで有意にドーパミン放出は増加し、habituated 群との反応に差はみられなかった。

麻酔下 (刺激によって情動や意識レベルが変化しにくい状態) のラットでは、安静時ドーパミン放出は $10.3 \pm 5.8 \text{ fmol } 10 \mu\text{l}^{-1}$ であり、意識下と比べて有意差はなかった。触刺激時の側坐核のドーパミン放出についても意識下に比べて反応の持続時間は短縮したものの、刺激中に114%、刺激後5分間には110%まで有意に増加した。麻酔下のラットにて、この増加反応のメカニズムをさらに検討した。まず、刺激部位をドーパミン測定側の脳と反対側ならびに同側とに分けて、それぞれ刺激して反応を比較した。側坐核ドーパミン放出は同側刺激では変化せず、反対側への刺激でのみ有意に増加した。この結果は、側坐核ドーパミン放出が感覚の求心路と同様に、反対側刺激のみ有効であることを示したものであり、側坐核ドーパミン放出が体性感覚入力によって直接変化したことを強く示唆している。続いて、前肢、後肢、腹部 (15 mmHg) とで、背部刺激時の反応と比較したところ、側坐核ドーパミン放出増加反応に刺激部位差はみられなかった。この増加反応が側坐核ドーパミンニューロンの起始核である中脳腹側被蓋野の破壊で完全に消失することも確認した。最後に、侵害性機械的刺激であるピンチ刺激を両側背部に加えて検討したところ、側坐核ドーパミン放出は有意な変化を示さなかった。

以上の結果から、皮膚への触刺激によって刺激反対側の中脳腹側被蓋野ドーパミンニューロンが興奮し、側坐核のドーパミン放出が増加すると考えられた。habituated 群と naïve 群とでドーパミン放出反応に差がみられなかったことと、麻酔下

でも意識下と同様にドーパミン放出増加が起こったことから、感覚や情動の変化が積極的に起きない状態でも側坐核のドーパミン放出が増加することが示された。侵害性機械的刺激の場合は、側坐核ドーパミン放出を起こす経路がないか、または放出増加を抑制する積極的な抑制機構が存在する可能性が考えられた。本論文の結果は、各種マッサージなどの触刺激によるうつや不安感軽減といった臨床効果の科学的根拠になりうると考えられる。今後は触刺激の脳神経機能におよぼす影響についてさらに詳細に検討していきたい。

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. Field T et al: Int J Neurosci **115**: 1397-1413, 2005
2. Maruyama K et al: J Physiol Sci **62**: 259-266, 2012

Tickling は幼若期のラットの情動応答に作用する

堀 美代 (公益財団法人国際科学振興財団バイオ研究所)

ラットにとっては、離乳後21日齢から56日齢までの時期 (adolescence 期) は成体期への移行期であり、脳内システムがその発達段階に応じて動的に形成される重要な時期である。この時期には、遊びなど他個体との相互作用も、脳内システムや社会性の発達、学習能力の獲得に深く関与している [1]。一方、刺激への感受性が高いこの時期の仔ラットは、ストレスの暴露によって、学習、記憶や情動障害が引き起こされ、社会性隔離飼育のような環境要因もストレス脆弱性の形成に関与することが報告されている [2]。我々は、仔ラットどうしの遊び (rough and tumble play) をモデルにした触覚刺激である tickling 刺激を用いて、社会隔離飼育によって引き起こされるストレス脆弱性 (変化) に対して、快刺激がどのような影響を及ぼすのか検証した。tickling 刺激が快刺激として作用することは、快情動の指標とされている50kHzの音声の検出と接近潜時の測定 [3] により確認した。

ラットは様々な社会的状況や刺激に対して特異的な高周波領域の音声を発し、情動を表出する。中でも50kHz音声は性行動や仔ラットどうしの遊びの最中に多く観察され、快情動の指標とされている [3]。tickling 刺激が脳内報酬系に作用することを確認するために、側坐核のドーパミン分泌量をマイクロダイアリシス法により測定し、tickling 刺激が50kHz音声の表出とともにドーパミンの分泌を促すのか、その分泌は、ドーパミン受容体遮断

薬の側坐核投与により阻害されるのかどうかを検証した。実験には、離乳直後より隔離飼育にて他個体との接触を絶った生後 30-35 日齢の Fischer 雄ラットを用いた。ドパミン分泌確認実験では、5 分間の tickling 刺激中と弁別刺激である light-touch 刺激中のドパミン分泌量と 50kHz 音声表出量を比較解析した。結果として、ドパミン分泌量は tickling 刺激時に $125.7 \pm 2.9\%$ まで増加した。ドパミン受容体阻害実験では、tickling 刺激 2 分前に D1 受容体遮断薬 R (+)-SCH-23390 hydrochloride ($1\mu\text{g}/\mu\text{l}$) と D2/3 受容体遮断薬の S (-)-Raclopride (+)-tartrate salt ($5\mu\text{g}/\mu\text{l}$) の混合液を側坐核に 30 秒間 ($0.6\mu\text{l}/\text{min}$) 投与し、投与 2, 8, 40 分後に tickling 刺激を施し、50kHz 音声表出の変化を解析した。その結果、tickling 刺激中の 50kHz 音声は vehicle 投与では変化が見られなかったが、ドパミン受容体遮断薬投与によって減少した。特に、快情動音声の主要成分とされる FM50kHz 音声成分が有意に減少し、flat50kHz 音声成分には変化が見られなかった。これらのことから、tickling 刺激は脳内報酬系に作用し、tickling 刺激中の 50kHz 音声はドパミン分泌によって調節されることが示した [4]。

次に、離乳後の社会隔離飼育によって生じるストレス脆弱性の増加に対して、継続的な快刺激が影響を与えるかどうか恐怖条件づけを用いて検証した。恐怖条件づけは嫌悪を引き起こさない条件づけ刺激 (CS) と恐怖を引き起こす無条件刺激 (US) を対提示することによって、恐怖を学習し、CS 提示のみで恐怖反応が引き起こされるようになるという古典的条件づけに基づく実験である。この獲得された恐怖反応は US 無しで CS のみを提示し続けることにより減少する (消去)。消去は健忘ではなく、CS 提示が恐怖でないということの新たな学習と考えられている。離乳直後から 2 週間にわたり隔離飼育した F344/N 雄ラットの隔離

飼育群と、継続的 (5 日/週) に tickling を施した群に対して、音刺激と足への電気刺激を対提示し、恐怖条件づけを行った。恐怖反応の評価として 48 時間後と 96 時間後の保持テストで音提示に対するフリージング反応を解析した。その結果、tickling 群は個別飼育群に比べて恐怖条件づけ 96 時間後のフリージング反応が減少した。また、T 群では 2 回目の保持テストの freezing 反応は 1 回目と比較して約 50% に減少したが、隔離飼育群は恐怖反応が維持されていた。更に、96 時間後の自律神経系・HPA 系の応答を解析したところ、血中のコルチコステロン濃度には差は見られなかったが、血中アドレナリン、ノルアドレナリン濃度は tickling 群が有意に低く、自律神経系の応答性の軽減が見られた。これらのことから、tickling 刺激は、恐怖条件づけに関わるストレス応答を軽減させること、また、個別飼育ストレスで阻害された恐怖学習の消去過程を促進することが示唆された [5]。

今回我々は、仔ラットにおける tickling 刺激が、脳内ネットワークや行動の変容に関わることを示したが、これらの結果は、社会隔離飼育によって引き起こされるストレス脆弱性 (変化) は、他個体との相互作用によって生じる快情動によって回避できる可能性を示唆するものであった。

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. Trezza V et al: Trends Pharmacol Sci **31**: 463-469, 2010
2. Jankord R et al: Endocrinology **152**: 629-638, 2011
3. Burgdorf J et al: Physiol Behav **72**: 167-173, 2001
4. Hori M et al: Neuroreport **27**: 241-245, 2013
5. Hori M et al: Neurosci Lett **1**: 85-89, 2013