

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K01465

研究課題名(和文) 情動に関連する脳神経核の体性-自律神経反射におよぼす影響

研究課題名(英文) Contribution of the emotion-related brain nuclei to somato-autonomic reflexes

## 研究代表者

黒澤 美枝子 (Kurosawa, Mieko)

国際医療福祉大学・薬学部・教授

研究者番号：30178131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚や骨格筋への刺激(体性感覚刺激)により、各種内臓機能は反射的に調節される(体性-自律神経反射)。自律神経機能は情動の影響を受けやすいことが知られており、体性-自律神経反射も体性感覚刺激によって起こる情動の影響を大きく受けるが、そのメカニズムは明らかにされていない。本研究は、体性-自律神経反射におよぼす陰性情動並びに陽性情動の影響の神経機構を検討するものである。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚や骨格筋などに加える体性感覚刺激は各種リハビリテーション療法の基本であり、それらは運動機能のみならず内臓機能にも影響をもたらすが、そのメカニズムは不明な点が多い。そのメカニズムの一つとして、体性-自律神経反射が考えられるが、自律神経機能は情動の影響を受けやすいので、その効果に個人差が出現する可能性がある。すなわち本研究は、リハビリテーションによって起こる自律機能反応の個人差のメカニズムに迫るものである。また、リハビリテーションの効果には情動の影響が大きいことも知られており、本研究はリハビリテーションでの各種の療法の情動におよぼす影響とその脳内メカニズムを提供するものになると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Visceral functions are reflexively regulated by sensory stimulation applied to the skin and skeletal muscle (somatosensory stimulation), which is called somato-autonomic reflexes. Autonomic functions are susceptible to emotions; however, the mechanism has not been fully understood. The present study aimed to elucidate the neural mechanism how negative and positive emotions affect somato-autonomic reflexes.

研究分野：体性感覚刺激が各種内臓機能並びに情動におよぼす影響とその自律神経機序の研究

キーワード：扁桃体中心核 刺激 動脈圧 セロトニン コルチコトロピン放出因子 側坐核 ドーパミン 侵害性刺激 非侵害性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、体性感覚刺激により自律神経を介して誘発される種々の内臓機能の反射性反応(体性-自律神経反射)とそのメカニズムを研究してきた。反射性反応というのは、入力に対してステレオタイプに遠心性神経活動(時にはホルモン分泌)を変化させて生じる反応のことである。近年、体性-自律神経反射は、各種リハビリテーション(理学療法、作業療法など)あるいは鍼灸などによる内臓機能への効果を説明する機序の一つとして注目されている。

自律神経機能は情動の影響を非常に受けやすい。例えば、精神的な緊張により動脈圧や心拍数が上昇することや、器質的な疾患が見られないにも関わらず、胃や十二指腸機能に異常が生じる「機能性ディスペプシア」などがその例である。我々はそのため、刺激に対して情動が生じにくい「麻酔下」の条件で、体性感覚刺激による自律機能の反射性変化の研究をこれまで行ってきた。そして各種内臓機能が刺激のモダリティーや刺激を加える皮膚分節に依存して反射的に調節されることを明らかにしてきた。

しかし、体性感覚刺激が意識下で加えられた場合、各種の情動(快感、不安など)が起こり、それによって反射性反応が変化すると考えられる(図1)。すなわち、個人によって体性感覚刺激に対する情動反応が異なると、体性感覚刺激が自律機能におよぼす反射性効果に違いが出てくる可能性がある。したがって情動がどのように各種自律反射に影響をおよぼすのかについて、その脳内神経機序を明らかにすることは、各種リハビリテーションの療法の内臓機能に影響をおよぼす機序を知るために重要である。

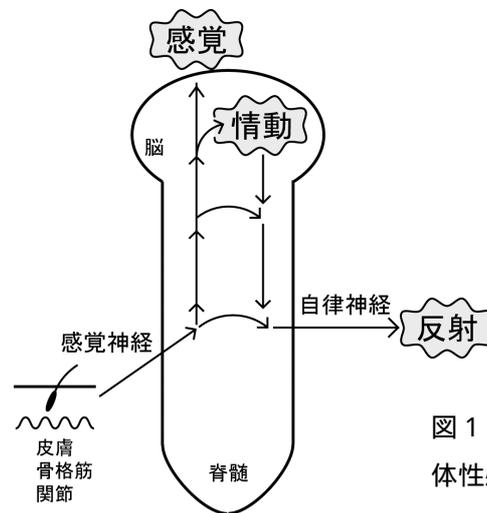


図1

体性感覚刺激による自律機能の調節

そこで我々はこれまで「情動の発生に関わる脳神経核」での神経伝達物質の放出におよぼす体性感覚刺激の影響を検討してきた。その結果、快感、高揚感など陽性情動の発生に関わることが知られている「側坐核のドーパミン放出」は皮膚への触刺激によって増加するが(Maruyama ら、2012)、不安や恐怖など陰性情動の発生に関わることが知られている「扁桃体中心核のセロトニン放出」は同じ触刺激で逆に減少すること(Tokunaga ら、2016)を見出した。また、侵害性のピンチ刺激は「側坐核のドーパミン放出」を変化させないが、「扁桃体中心核のセロトニン放出」を増加させることも併せて明らかにしてきた。さらに、我々は皮膚への触刺激によりラットの快情動の指標である50 kHzの超音波発声が起こり、その発声は側坐核へのドーパミン受容体遮断薬投与により減弱することも示した(Hori ら、2013)。

これらの事実より、側坐核のドーパミンや扁桃体のセロトニンの放出変化が各種自律機能に影響を与える可能性のあることがわかった。しかしながら、これまで系統的な研究はなされていない。

## 2. 研究の目的

本研究は、体性-自律神経反射におよぼす情動の影響を検討することを目的とする。その目的のために、これまで明らかにしてきた「側坐核ドーパミン放出」と「扁桃体中心核セロトニン放出」の体性感覚刺激時の反応に着目し、そのメカニズムを検討する。メカニズムの検討には、「側坐核ドーパミン放出」の場合、快感の発現との関わりが知られているオピオイドに着目する。「扁桃体中心核セロトニン放出」の場合は、不安・恐怖の発現との関わりがよく知られているコルチコトロピン放出因子(corticotropin releasing factor:以下、CRF)に着目する。さらに扁桃体中心核への入力の中継核として知られる「外側腕傍核」の関与を検討する。そしてこれらのメカニズムに関わる因子のいくつかを選び、体性-循環反射におよぼす影響を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 倫理

本実験は国際医療福祉大学動物実験倫理委員会で承認のもとに行った。

## (2) 動物

実験には意識下或いは麻酔下のラットを用いた。動物は 12 時間明暗周期並びに自由摂餌下で飼育した。

## (3) 側坐核ドーパミン並びに扁桃体中心核セロトニン(以下、CeA)の測定

実験の 2 - 3 日前にラットをイソフルランで麻酔し、脳定位的に側坐核あるいは CeA にマイクロダイアリシスプローブを挿入するためのガイドカニューレを埋め込んだ。2 日後に麻酔下(ウレタン)或いは意識下で、ガイドカニューレ内にマイクロダイアリシスプローブを刺入した。麻酔下の実験では、直腸温をサーミスタで計測し  $37.5 \pm 0.1$  に維持した。側坐核ドーパミンのサンプル採取には膜長 2mm、扁桃体セロトニンのサンプル採取には膜長 1mm のプローブ(エイコム、京都)を用いた。マイクロダイアリシスプローブには modified リンガー液を  $1 \mu\text{l}/\text{分}$ (扁桃体の透析)あるいは  $2 \mu\text{l}/\text{分}$ (側坐核の透析)の速度で流した。側坐核ドーパミンの放出量と扁桃体セロトニンの放出量は、電気化学検出器を用いた高速液体クロマトグラフィーにより測定した(HTEC500、エイコム)。

## (4) 動脈圧測定

イソフルランあるいはウレタンで麻酔した。直腸温をサーミスタで計測し、 $37.5 \pm 0.1$  に維持した。気管にカテーテルを挿入し、人工呼吸とした。4% Ficol170 溶液と乳酸リンゲル液、5%グルコース液等を適宜追加して、ラットの状態および動脈圧の安定・維持を図った。右頸動脈に挿入したカテーテルを圧トランスデューサー(TP-400T、日本光電、東京)に接続し、観血的に動脈圧を連続測定した。心拍数は動脈圧の脈波を連続計数して記録した。

## (5) 皮膚刺激

**非侵害性機械的刺激**：腹部、背部、前肢、後肢の皮膚領域に、徒手にて触刺激を加えた(圧  $1-1.3 \text{ N}/\text{cm}^2$ ; 頻度 65 - 75 回/分)。

**侵害性機械的刺激**：同皮膚領域に、手術用鉗子を用いてピンチ刺激( $3-5 \text{ kg}/\text{cm}^2$ )を加えた。

## (6) 統計

データは平均値と標準偏差で表現した。有意差の検定には、一元配置分散分析ならびに Dunnett の多重比較検定を用いた。有意水準 5%以下を有意とした。

## 4. 研究成果

### (1) 触刺激による側坐核ドーパミン放出増加におよぼすオピオイドの関与

オピオイド受容体遮断薬のナロキソンを腹腔内或いは側坐核内に投与し、その影響を意識下ラットで検討した。その結果、腹腔内或いは側坐核内いずれの投与の場合も触刺激時のドーパミン放出増加を完全に遮断した。オピオイド受容体はドーパミンニューロンの起始核の腹側被蓋野にも存在することが知られているため、腹腔内投与の場合は、腹側被蓋野のオピオイド受容体を遮断した影響も考えられるが、側坐核内投与により直接的な影響を認めた本研究結果より、少なくともドーパミン放出に側坐核のオピオイドが関与することが明らかとなった。

### (2) CeA セロトニン放出におよぼす CRF の関与

麻酔下のラットで、触刺激並びにピンチ刺激時の CeA セロトニン放出反応における CRF の関与を検討した。触刺激時のセロトニン減少反応並びにピンチ刺激時のセロトニン増加反応はいずれも CRF の非選択的遮断薬である -helical CRF(9-31)(以下、helical CRF)の脳室内投与並びに背側縫線核(DRN、CeA へのセロトニン神経の起始核)内投与により、完全に消失した。選択的 CRF<sub>1</sub> 受容体遮断薬である antalarmin の DRN 内投与では、触刺激時のセロトニン放出減少反応のみが消失した。さらに触刺激時の CeA セロトニン放出減少は、DRN 内への GABA<sub>A</sub> 受容体遮断薬の bicuculline 投与によっても消失した。一方、選択的 CRF<sub>2</sub> 受容体遮断薬である antisauvagine-30 の DRN 内投与ではピンチ刺激時のセロトニン放出増加反応のみが消失した。以上、DRN 内の CRF は体性感覚刺激時の CeA セロトニン放出に関与すること、関与する CRF の受容体は体性感覚のモダリティーに依存することが本研究により初めて明らかとなった(図 2)。CRF はストレス反応に関わるホルモン・神経伝達物質としてよく知られており、ストレス時(侵害性刺激時など)の不安発現に CeA のセロトニンが関わる可能性が示された。

### 侵害性刺激時の昇圧反応におよぼす CRF の関与

麻酔下のラットで、ピンチ刺激時の昇圧反応におよぼす CRF の影響を検討した。15 秒間のピンチ刺激により、動脈圧・心拍数はともに 3 分間以上増加した。これらの増加反応は、CRF 受容体遮断薬の helical CRF の脳室内投与により減弱した。投与後 45 分の時点で、3 分間の昇圧・頻脈反応は投与前の 50%以下となった。これらの結果より、侵害性刺激時の昇圧反応に脳内の CRF が関与することが示された。脳内の CRF には不安や恐怖感を惹起する作用があることが知られているので、侵害性刺激時の昇圧反応には不安・恐怖などの情動要素が加わることで、反応が増強される可能性が示唆された。

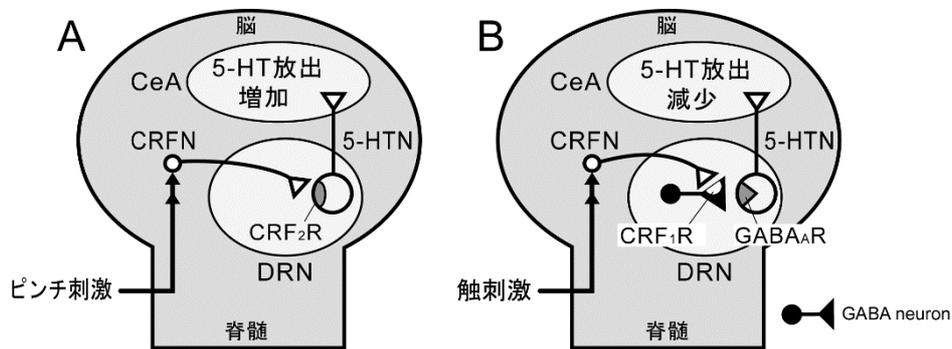


図2 体性感覚刺激時の中心核(CeA)セロトニン放出反応におけるCRFの関与 (結果(2)のまとめ)

A: ピンチ刺激は背側縫線核(DRN)内のCRF<sub>2</sub>受容体(CRF<sub>2</sub>R)に作用してセロトニンニューロン(5HT-N)を興奮させ、結果としてCeAでのセロトニン(5-HT)放出を促す。  
 B: 触刺激はDRN内のCRF<sub>1</sub>受容体(CRF<sub>1</sub>R)とGABA<sub>A</sub>受容体を介して5HT-Nを抑制する。その結果、CeAでのセロトニン放出は減少する。CRFN:CRFニューロン。Tokunagaら、2017より一部改変。

### (3) CeAセロトニン放出におよぼす外側腕傍核の関与

侵害性刺激時のCeAセロトニン放出増加反応における外側腕傍核(LPBN)の関与を麻酔下のラットで検討した。ラットの側LPBNには、それと反対側の脊髄後角の侵害受容ニューロンの90%以上が入力し、さらにLPBNからは直接CeAに投射することが知られている。LPBNをGABA<sub>A</sub>受容体作動薬のムシモールの微量投与により抑制すると、ピンチ刺激時のCeAセロトニン放出反応は減弱した。本研究より、不安・恐怖の発現に重要なCeAセロトニン放出には脊髄後角LPBN-CeA経路が重要であることが示された。我々はすでに侵害性刺激時のCeAセロトニン放出はセロトニンを測定したCeAと反対側の皮膚に加えた時にのみ増加することを明らかにしており(Tokunagaら、2016)、本事実はその結果を支持するものである。

### 侵害性刺激時の昇圧反応におよぼす外側腕傍核の関与

麻酔下のラットで、ピンチ刺激時の昇圧反応におよぼすLPBNの影響を検討した。LPBN内にムシモールを投与すると、反対側(ムシモール投与したLPBNに対して反対側)の後肢ピンチ刺激時の昇圧反応は有意に減弱した。一方、同側の後肢ピンチ刺激時の昇圧反応には有意な影響が認められなかった。前述したとおり、我々はすでにCeAセロトニン放出が反対側皮膚への侵害性刺激によってのみ増加することを明らかにしており(Tokunagaら、2016)、本結果は、反対側刺激時のセロトニン放出、動脈圧いずれの反応においても、外側腕傍核の関与が重要であることを初めて明らかにしたものである。今後、体性-循環反射におよぼすCeAの関与を直接的に明らかにしていく必要がある。

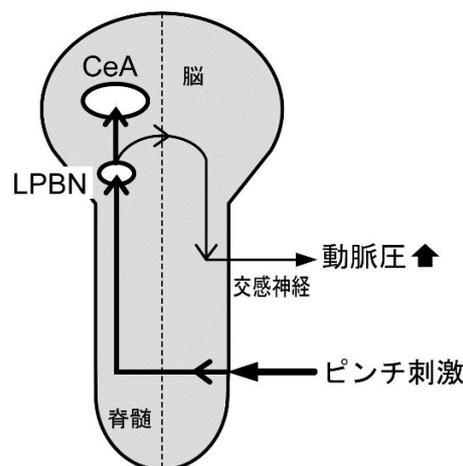


図3 侵害性機械的刺激時の昇圧反応における外側腕傍核(LPBN)の関与

ピンチ刺激の入力は反対側の脊髄を上行し、橋のLPBNを介して昇圧を起こす((3)の結果)。LPBNからはCeAに直接入力があることが知られており、その入力が扁桃体中心核(CeA)でセロトニン放出を促すと考えられる((3)の結果)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>半田直子, 下重里江, 目黒和子, 黒澤美枝子   | 4. 巻<br>56            |
| 2. 論文標題<br>若年健常女性における背部への軽擦並びに温熱刺激が心拍数におよぼす影響とその自律神経機序  | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>自律神経  | 6. 最初と最後の頁<br>175-184 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.32272/ans.56.3_175">https://doi.org/10.32272/ans.56.3_175</a> | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>黒澤美枝子, 徳永亮太, 下重里江   | 4. 巻<br>56            |
| 2. 論文標題<br>痛みと情動・自律反応 扁桃体中心核セロトニン放出におよぼす皮膚への侵害性機械的刺激の影響   | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>自律神経  | 6. 最初と最後の頁<br>128-131 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.32272/ans.56.3_128">https://doi.org/10.32272/ans.56.3_128</a> | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>野澤羽奈, 下重里江, 谷口敬道, 柴田秀史, 黒澤美枝子   | 4. 巻<br>56            |
| 2. 論文標題<br>後肢足趾侵害性機械的刺激時のラット昇圧反応における外側腕傍核の関与  | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>自律神経  | 6. 最初と最後の頁<br>80-87   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br><a href="https://doi.org/10.32272/ans.56.2_080">https://doi.org/10.32272/ans.56.2_080</a> | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>黒澤美枝子, 徳永亮太, 下重里江   | 4. 巻<br>24            |
| 2. 論文標題<br>皮膚刺激時の扁桃体セロトニン放出反応における求心性機構の解明   | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>国際医療福祉大学学会誌   | 6. 最初と最後の頁<br>155-155 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし  | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>黒澤美枝子, 下重里江, 徳永亮太  | 4. 巻<br>55            |
| 2. 論文標題<br>鍼・マッサージ、温熱刺激の効果とその科学的根拠 ラット側坐核並びに扁桃体中心核での神経伝達物質放出におよぼす体性感覚刺激の影響 | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>自律神経   | 6. 最初と最後の頁<br>242-245 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難                                     | 国際共著<br>-             |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤田和花子, 下重里江, 江幡芳枝, 黒澤美枝子                                 | 4. 巻<br>55          |
| 2. 論文標題<br>温熱棒を用いたマッサージ様皮膚刺激によるラットの動脈圧・心拍数反応とその機序 イトオテルミー療法効果の基礎検討 | 5. 発行年<br>2018年     |
| 3. 雑誌名<br>自律神経   | 6. 最初と最後の頁<br>38-45 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                                     | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難                             | 国際共著<br>-           |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Tokunaga R, Shimoju R, Shibata H, Kurosawa M   | 4. 巻<br>67            |
| 2. 論文標題<br>Somatosensory regulation of serotonin release in the central nucleus of the amygdala is mediated via corticotropin releasing factor and gamma-aminobutyric acid in the dorsal raphe nucleus | 5. 発行年<br>2017年       |
| 3. 雑誌名<br>The Journal of Physiological Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>689-698 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s12576-016-0498-4  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Tokunaga R, Shimoju R, Takagi N, Shibata H, Kurosawa M   | 4. 巻<br>66            |
| 2. 論文標題<br>Serotonin release in the central nucleus of the amygdala in response to noxious and innocuous cutaneous stimulation in anesthetized rats. | 5. 発行年<br>2016年       |
| 3. 雑誌名<br>The Journal of Physiological Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>307-314 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s12576-015-0426-z  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>今井 樹, 下重里江, 徳永亮太, 黒澤美枝子              | 4. 巻<br>53            |
| 2. 論文標題<br>ラットの腹部皮膚触刺激時の動脈圧・心拍数低下反応における自律神経性機序 | 5. 発行年<br>2016年       |
| 3. 雑誌名<br>自律神経                                 | 6. 最初と最後の頁<br>253-259 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                 | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難         | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>下重里江, 徳永亮太, 黒澤美枝子                                | 4. 巻<br>53            |
| 2. 論文標題<br>コルチコロピン放出因子受容体遮断薬の脳室内投与がピンチ刺激時の動脈圧・心拍数反応におよぼす影響 | 5. 発行年<br>2016年       |
| 3. 雑誌名<br>自律神経   | 6. 最初と最後の頁<br>305-311 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                             | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難                     | 国際共著<br>-             |

〔学会発表〕 計28件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 8件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kurosawa M  |
| 2. 発表標題<br>Regulation of the autonomic functions   |
| 3. 学会等名<br>9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Kurosawa M, Shimoju R, Tokunaga R  |
| 2. 発表標題<br>Influence of somatic afferent stimulation on neurotransmitter release in the nucleus accumbens and the central nucleus of amygdala in rats |
| 3. 学会等名<br>ISAN 2017/JSNR2017 (招待講演) (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>黒澤美枝子                         |
| 2. 発表標題<br>触刺激と生体反応                      |
| 3. 学会等名<br>つくばブレインサイエンスセミナー（第238回）（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2017年                          |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>黒澤美枝子                              |
| 2. 発表標題<br>心地よさと触刺激 マイクロダイアリス法を用いた脳内伝達物質放出の研究 |
| 3. 学会等名<br>世界鍼灸学会連合会学術大会（招待講演）（国際学会）          |
| 4. 発表年<br>2016年                               |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>黒澤美枝子  |
| 2. 発表標題<br>Responses of dopamine release in the nucleus accumbens to somatosensory stimulation in rats. |
| 3. 学会等名<br>International Symposium on Addiction（招待講演）（国際学会）   |
| 4. 発表年<br>2016年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

|         |                           |                       |    |
|---------|---------------------------|-----------------------|----|
| 6. 研究組織 | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|---------|---------------------------|-----------------------|----|