

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2021

課題番号：16K09006

研究課題名（和文）疼痛性循環反応の可塑的变化に関する神経性機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of neural mechanisms on plastic change of cardiovascular responses to nociceptive stimulation

研究代表者

渡邊 信博（Watanabe, Nobuhiro）

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：00540311

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：肩こりや腰痛など筋骨格系の問題は多くの国民が抱える慢性症状のひとつである。慢性痛患者は、起立性低血圧などの循環機能障害も抱えうることが報告されていることから、本研究課題では痛みの慢性化に関わる炎症に着目し、骨格筋の炎症性疼痛により誘発される循環反応の可塑的变化とその神経性機序を解明することを目的とした。

実験は麻酔ラットを用いておこなった。骨格筋に炎症を誘発するために、カラギーナン溶液を実験前日に投与した。ラットの下腿に押圧刺激を加えると、心拍数および血圧が変化するが、炎症を起こした筋を刺激すると心拍数や血圧の上昇が増強されていた。このような循環反応には、心臓交感神経が関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肩こりや腰痛など筋骨格系の問題は多くの国民が抱える慢性症状のひとつである。加えて、慢性痛患者では、起立性低血圧などの自律神経症状を伴うことが知られている。一方、骨格筋の痛みが自律神経機能に影響を及ぼすメカニズムについてはよく分かっていない。炎症は慢性痛の誘因となる。したがって、骨格筋刺激により生じる循環反応（心拍数や血圧の変化）が筋肉の炎症により変化するという本研究の成果は、炎症が自律神経の機能調節を変化させることを示す科学的根拠を提供するものである。今後自律神経機能の変調を引き起こす原因を明らかにすることにより、慢性痛に伴う自律神経症状の病態解明が進むと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Musculoskeletal disorders such as neck-shoulder stiffness and low back pain are one of chronic symptoms that many people suffer from. It has been reported that patients with chronic pain may also have cardiovascular dysfunctions such as orthostatic hypotension. The present study aimed to elucidate plastic change of cardiovascular response to skeletal muscle pain and its neural mechanisms, particularly focusing on inflammation which is related to pain chronicity. Experiments were performed on anesthetized rats. To induce inflammation in skeletal muscles, carrageenan solution was intramuscularly injected a day before experiment. Pressure stimulation applied to rat's calf altered heart rate and blood pressure. When pressure stimulation was applied to an inflamed calf, increases in heart rate and blood pressure were exaggerated. Additionally, the contribution of cardiac sympathetic efferent nerves to such cardiovascular responses was suggested.

研究分野：自律神経生理学

キーワード：骨格筋 痛み 循環機能 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肩こりや腰痛などの筋骨格系に起因する症状を慢性的に抱える人は非常に多い。また、頸部に慢性痛を抱える人では、健常者よりも起立性低血圧などの自律神経症状を抱える人の割合が多いことが報告されている。しかしながら、慢性痛が自律神経機能障害を引き起こす神経性機序は明らかにされていない。

痛みの原因となる有害な刺激(侵害刺激)は、自律機能を変化させる。例えば、皮膚を強くつまんだり、高温の物体を皮膚に接触させるなどの刺激は、心拍数や血圧を反射的に変化させる。このような、侵害刺激により誘発される循環反射は、意識下のヒトに加えて[1]、意識や情動の影響を除外した麻酔動物[2]においても生じる。一方、皮膚への侵害刺激で生じる自律神経反射に関する知見と比較すると、骨格筋を含む深部組織への侵害刺激で生じる自律神経反射に関する報告は多くない。

我々は、骨格筋を刺激すると循環機能が変化することを麻酔ラットで見出した[3]。具体的には、ラットの下腿筋に強い押圧刺激を与えると、心拍数が増加または減少すること、その心拍数の増減は心拍数の安静時レベルと逆相関の関係にあることを見出した。さらに、同刺激による心拍数変化は、星状神経節および頸部交感神経を外科的に切除するとほぼ消失することに加え、心拍数の変化は心臓交感神経の遠心性活動と並行して生じることを明らかにした。したがって、骨格筋からの求心性情報が、心臓交感神経の活動に影響を及ぼすことにより心拍数が変化することが示された。

2. 研究の目的

本研究ではこれまでの研究成果を発展させ、慢性痛の誘因となりうる炎症に着目し、骨格筋の炎症性疼痛により誘発される循環反応の可塑的变化とその神経性機序を解明することを目的とした。具体的には、骨格筋を押圧刺激することで生じる心拍数および血圧の変化が、起炎物質を注射し炎症を起こした筋肉で変化するかどうかを検討した。

3. 研究の方法

本研究では、雄性ラット(4-7ヶ月齢)を用いてイソフルラン麻酔下で実験を行った。4%イソフルランをラットに吸入させて初期麻酔した後、適宜麻酔濃度を調節し、十分に麻酔が効いた状態で手術・実験を行った。深麻酔下であることは、角膜反射および逃避反応が消失していることで判断した。ラットの気管に挿管し、人工呼吸した。1回換気量および呼吸回数を調節し、終末呼気中のCO₂濃度を約3%に維持した。ラットの直腸にサーミスタを挿入し、赤外線ランプと保温パッドによるフィードバック式体温調節装置を用いることで、深部温を37.0-37.5に維持した。

ラットの総頸動脈にカテーテルを留置し、接続された圧トランスデューサーを介して動脈圧を連続測定した。得られた血圧波形より瞬時心拍数を算出した。頸静脈に留置したカテーテルより補液や薬物を投与した。骨格筋への刺激として、ラットの下腿内側に押圧刺激を与えた。刺激は、接触面が広い(直径6mm)の刺激棒を用い、10N/cm²の強度で30秒間与えた(図1)。

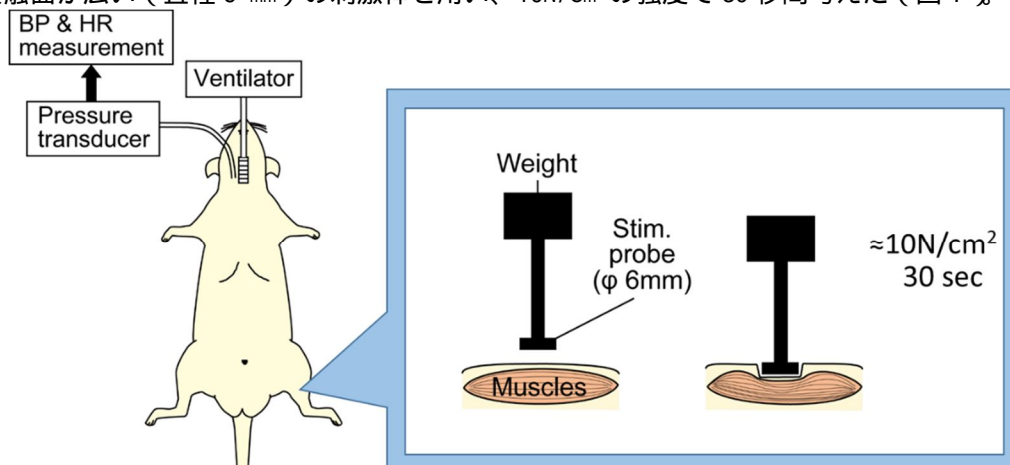


図1 実験のセットアップおよび下腿筋への押圧刺激の方法

(1) カラギーナン溶液投与による炎症性疼痛モデル

下腿への押圧刺激により生じる循環反応（心拍数および血圧の変化）が筋の炎症で変化するかどうかを検証するため、カラギーナンを用いてラットの下腿筋に炎症を誘発した[3]。実験前日にイソフルラン麻酔下で3%カラギーナン溶液（100 μL）を一側下腿に注入した。対照として、溶媒である生理食塩水を対側下腿に100 μL注入した。

(2) 自律神経遮断の影響

下腿押圧刺激による循環反応に対する自律神経系の寄与を検討するため、交感神経または副交感神経を遮断し、循環反応に対する影響を検討した。心臓支配の交感神経を遮断するために、星状神経節および頸部交感神経を外科的に切除し、1受容体遮断薬・アテノロール（1 mg/kg）を静脈内投与した。迷走神経の遮断は、迷走神経を頸部レベルで両側外科的に切断することにより実施した。

(3) 心臓交感神経遠心性線維の活動記録

心臓交感神経の多放電活動を双極フック電極で電気生理学的に記録した。剖出した右側の下心臓交感神経をできる限り心臓に近い箇所切断し、切断中枢端を双極フック電極に載せた。迷走神経活動の混入を防ぐため、迷走神経を頸部で外科的に切断した。さらに、筋収縮によるノイズの混入を防ぐため、gallamine（20 mg/kg）を静脈内投与し、ラットを非動化した。

(4) 脊髄血流計測

脊髄のニューロン活動に伴い、局所血流が増加することが報告されている[4]。そこで本研究では、脊髄求心路における神経活動の指標として脊髄血流を計測した。脊椎の椎弓板を切除し、下腿筋からの感覚情報が入力される脊髄レベル（L3-L4、後根で脊髄分節レベルを確認）を露出し、レーザースペックル血流画像化装置で脊髄背側面の血流画像を1Hzの頻度で経時的に取得した。上脊髄の構造の影響を除外するため、後頭下（C0-C1）で脊髄を切断した。取得した血流画像より血流情報に関心領域で抽出した。

4. 研究成果

(1) 下腿押圧刺激による心拍数および血圧変化に対するカラギーナン溶液投与の影響

カラギーナン溶液を投与した下腿への押圧刺激により、心拍数が増加または減少した。下腿刺激前の心拍数が低い時に下腿を刺激すると心拍数が増加し、刺激前心拍数が高い時では心拍数が減少した。刺激前心拍数と押圧刺激による心拍数の変化との間には、負の相関が認められた。この反応はこれまでにカラギーナン溶液を用いずに押圧刺激をおこなった我々の先行研究[4]と類似の変化であった。しかし、押圧刺激による心拍数変化を、炎症を起こした筋と起こしていない筋とで比較すると、心拍数の増加は炎症を起こした筋を刺激したときの方が大きいことが分かった。

下腿押圧刺激による血圧変化についても心拍数と同様に、刺激前の血圧レベルの高低により低下または上昇し、刺激前血圧と押圧刺激による血圧変化との間に負の相関を認めた。さらに、押圧刺激による血圧上昇反応は、炎症を起こしていない筋への刺激の反応と比べて、炎症を起こした筋を刺激したときの方が大きいことが分かった。

ちなみに、安静時心拍数および血圧は、カラギーナン溶液を投与した個体としない個体とで有意な違いはなかった。したがってこれらの結果より、下腿筋への押圧刺激で生じる心拍数及び血圧の上昇反応は、筋の炎症により増大することが示された。先行研究において、麻酔ネコの後肢筋を化学物質で刺激することで生じる心拍数の増加および減少（血圧の上昇および低下）反応が、セロトニンを前投与しておく心拍数および血圧の上昇反応が増大する[5]ことが報告されており、本研究の結果と一致するものである。

(2) 炎症筋刺激による心拍数および血圧変化に対する自律神経遮断の影響

続いて本研究では、カラギーナンを投与し炎症を誘発した下腿への押圧刺激で生じる心拍数および血圧変化に寄与する心臓自律神経を検討した。心臓交感神経を遮断した結果、下腿への押圧刺激で生じる心拍数の変化はほぼ消失した。押圧刺激による血圧変化については、心臓交感神経遮断後も認められたが神経無傷の個体の変化と比較すると有意に減弱していた。迷走神経遮

断の結果、押圧刺激による心拍数および血圧の変化は共に、迷走神経遮断の影響を受けなかった。したがって、骨格筋への押圧刺激で生じる心拍数増加および血圧上昇反応が炎症により増大した機序に、心臓交感神経活動の増加反応の増強が関与したと考えられる。

(3) 下腿筋押圧刺激による交感神経活動

本研究ではさらに、心臓交感神経遠心性活動を電気生理学的手法で記録し、押圧刺激による反応を調べた。カラギーナン溶液投与(炎症)側と生理食塩水投与(非炎症)側の下腿をそれぞれ刺激し、心臓交感神経活動および心拍数の変化を調べた。その結果、下腿への押圧刺激により心臓交感神経活動および心拍数は増加または減少した。これら心臓交感神経活動変化と心拍数変化は並行して生じていた。炎症側、非炎症側の下腿いずれを刺激した場合でも、心臓交感神経活動および心拍数に変化が認められたが、その変化の程度は炎症側の下腿を刺激した時の方がより大きいことが分かった。したがって、骨格筋への押圧刺激で生じる心臓交感神経活動は筋の炎症により増大すると考えられる。

上述のように、本研究では心臓交感神経活動と心拍数変化の関係を電気生理学的に検証した。心臓交感神経遮断後も押圧刺激による血圧変化が著しく残存したように、血圧調節には心臓交感神経以外の交感神経系の関与がある。例えば、血圧に関連する血管床の機能は、腰部交感神経などの調節を受ける。そこで、下腿筋への押圧刺激が腰部交感神経活動に影響するかどうかを、カラギーナン非投与のラットで検討した。その結果、下腿筋押圧刺激により血圧が上昇するのに伴い、腰部交感神経活動の亢進が認められた。よって、下腿筋押圧刺激で生じる血圧変化には、腰部交感神経活動が一部寄与することが示唆された。心臓交感神経で認められたような炎症の影響が腰部交感神経等でも生じるかどうかについては、今後の検討課題である。

(4) 下腿押圧刺激による脊髄血流の変化

本研究では脊髄ニューロンの活動指標として脊髄血流を計測し、脊髄血流に対する押圧刺激の影響を検討した。その結果、下腿への押圧刺激により脊髄血流が増加し、その増加の程度は刺激と同側の方が対側よりも大きかった。炎症の影響を検討するために、押圧刺激による脊髄血流増加の程度を、炎症側、非炎症側とで比較したが、顕著な違いは認められなかった。よって、炎症により機能変化が生じたニューロンは、脊髄ではなく上脊髄に存在する可能性が示唆された。一方、下腿押圧刺激で生じた脊髄血流増加に、筋紡錘など循環反射に寄与しない感覚入力の影響も含まれる可能性も考えられ、そのため炎症の影響を検出できなかったことも否定できない。

(5) 研究成果のまとめ

本研究では、下腿押圧刺激で生じる循環反応(心拍数および血圧の増加)が、カラギーナン溶液を下腿筋に投与することで誘発した炎症により増強すること、その遠心性機序として心臓交感神経活動の亢進が関与することが示唆された。炎症により、このような循環反応が増強したメカニズムについては、脊髄ではなく上脊髄のニューロン機能が変化したことが推察されたが、神経活動が変化した上脊髄の領域を本研究で同定するには至らなかった。交感神経反射が炎症で可塑的变化する神経性機序について、今後の研究で明らかにする必要がある。

[引用文献]

- [1] Watanabe N, Miyazaki S, Mukaino Y, Hotta, H. (2012) Effect of gentle cutaneous stimulation on heat-induced autonomic response and subjective pain intensity in healthy humans. *J Physiol Sci*, 62, 343-350.
- [2] Watanabe N, Piché M, and Hotta H. (2015). Types of skin afferent fibers and spinal opioid receptors that contribute to touch-induced inhibition of heart rate changes evoked by noxious cutaneous heat stimulation. *Mol Pain*, 11, 4.
- [3] Radhakrishnan R, Moore SA, Sluka KA (2003) Unilateral carrageenan injection into muscle or joint induces chronic bilateral hyperalgesia in rats. *Pain* 104, 567-577.
- [4] Piché M, Paquette T, Leblond H (2017) Tight neurovascular coupling in the spinal cord during nociceptive stimulation in intact and spinal rats. *Neuroscience*, 355,

1-8.

- [5] Watanabe N, Hotta H. (2017) Heart rate changes in response to mechanical pressure stimulation of skeletal muscles are mediated by cardiac sympathetic nerve activity. *Front Neurosci*, 10, 614.
- [6] Sato A, Sato Y, Schmidt RF. (1982) Changes in heart rate and blood pressure upon injection of algesic agents into skeletal muscle. *Pflügers Arch*, 393, 31-36.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 渡辺信博, 堀田晴美
2. 発表標題 カラギーナン投与による下腿筋の急性炎症は機械的押圧刺激で生じる心臓交感神経活動の変化を増強させる
3. 学会等名 第71回日本自律神経学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watanabe N, Hotta H
2. 発表標題 Cardiac sympathetic nerve activity changes induced by mechanical pressure stimulation of a calf are augmented by acute muscle inflammation in isoflurane-anesthetized rats
3. 学会等名 Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watanabe N, Hotta H
2. 発表標題 Influence of inflammation on cardiac response to skeletal muscle stimulation
3. 学会等名 9th Federation of the Asian Oceanian Physiological Societies (FAOPS) congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺信博, 堀田晴美
2. 発表標題 Heart rate responses to mechanical pressure stimulation of non-inflamed and inflamed skeletal muscles
3. 学会等名 第40回日本基礎老化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺信博, 堀田晴美
2. 発表標題 Carrageenan-induced myositis enhances tachycardiac responses to mechanical pressure stimulation of hindlimb muscles in isoflurane-anesthetized rats
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nobuhiro Watanabe, Harumi Hotta
2. 発表標題 Cardiac sympathetic nerve activity increase mediated by mechanical pressure stimulation is exaggerated in acutely inflamed muscles
3. 学会等名 The 10th Congress of International Society for Autonomic Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺信博, 堀田晴美
2. 発表標題 下腿筋に誘発した急性炎症は機械的押圧刺激による心拍上昇反応を増強する
3. 学会等名 第12回環境生理学プレコンgres
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------