

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K01612

研究課題名(和文) 中枢化学受容器を中心とした呼吸と運動の自律並列的な制御

研究課題名(英文) Autonomous parallel control of breathing and limb movements centered on central chemoreceptors

研究代表者

柚木 孝敬 (Takahiro, Yunoki)

北海道大学・教育学研究院・教授

研究者番号：00352500

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)：呼吸制御系と運動制御系の間には“連関”が存在することは知られているが、そのメカニズムについては不明な点が多い。本研究では、呼吸制御系への入力(吸気中のCO₂濃度やO₂濃度の操作、あるいは換気量の操作)が四肢の神経筋活動に及ぼす影響を検討した。その結果、動脈血CO₂分圧の上昇が、下腿筋を支配する脊髄運動ニューロンの自己持続的活動を増強する可能性と、そこに中枢化学受容器が一定の役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

呼吸は四肢の神経筋活動にも影響し、それが呼吸と四肢運動の調節や協調に関係していることが示唆されているが、この呼吸-運動連関のメカニズムは明らかではない。本研究では、動脈血CO₂分圧の上昇が、下腿筋を支配する脊髄運動ニューロンの自己持続的活動を増強させている可能性を示した。この増強に関するメカニズムの解明と方法論の確立が進展することで、加齢等による筋力低下や力調整能力の低下への対処、あるいは運動指導やリハビリテーションの実践への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：Although it is known that a coupling exists between the respiratory control system and the motor control system, the mechanism of this coupling is still unclear. In this study, we examined the effects of inputs to the respiratory control system (manipulation of CO₂ and O₂ concentrations during inspiration or ventilation volume) on neuromuscular activity in the limbs. The results suggest that an increase in arterial blood CO₂ partial pressure may enhance the self-sustained activity of spinal motoneurons innervating the lower leg muscles and that central chemoreceptors may play a certain role there.

研究分野：運動生理学

キーワード：呼吸 運動 動脈血二酸化炭素分圧 中枢化学受容器

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳幹の重要な機能の一つに呼吸制御がある。その主たる目的は、肺換気を通して、動脈血の O_2 分圧 (PaO_2) と CO_2 分圧 ($PaCO_2$) を正常レベルに保つことにある。その際に中心的な役割を果たすのが、末梢化学受容器 (頸動脈小体) と脳幹に存在する中枢化学受容器である。前者は主として PaO_2 の低下に反応し、後者は $PaCO_2$ の上昇に反応する。反応した両受容器のニューロンは、脳幹呼吸中枢を形成しているニューロンに接続し、それを興奮させる。呼吸中枢のニューロンは、脊髄に投射しており、横隔膜や肋間筋を支配する運動ニューロンに中枢性呼吸ドライブ電位 (central respiratory drive potentials, CRDPs) と称される脱分極電流をもたらす (Butler *Respir Physiol Neurobiol*, 2007)。

高 CO_2 の添加によりCRDPsが増強されると、後肢筋の運動ニューロンに自己持続性脱分極 (プラトー電位) が誘発されることが除脳ネコを用いた研究で報告されている (Kirkwood et al. *Biocybern Biomed Eng*, 2005)。概して、プラトー電位の形成には、脊髄運動ニューロンの樹状突起で生じる持続性内向き電流 (PIC) が関与しているとされる。そして、PICの活性化には脳幹 (延髄縫線核) のセロトニン作動性ニューロンからの入力に関わっているが (Heckman et al. *Neuroscientist*, 2008)、このニューロンは PCO_2 の上昇に感受性が高く、中枢化学受容器として機能することも知られている。したがって、これらを総合的に捉えたと、Kirkwood et al. (2005) によって報告されている現象は、 $PaCO_2$ の上昇が呼吸の増加だけでなく、四肢筋の運動ニューロンに促進的な変調を誘発する可能性を示唆していると考えられ、中枢化学受容器を中心とした呼吸と運動の自律並列的な制御 (仮説) が見えてくる。

研究代表者は、上記仮説に関する予備研究において、 CO_2 再呼吸に伴う $PaCO_2$ の上昇が自己持続性筋活動 (self-sustained muscle activity, SSMA) に及ぼす影響を検討した。SSMAとは、連続的な経皮的末梢神経電気刺激の後に持続する筋活動あるいは筋電図 (EMG) 活動であり、運動ニューロンの自己持続性脱分極を反映する現象である (Nozaki et al. *J Neurophysiol*, 2003)。上記予備研究において、SSMAが自然呼吸条件に比べて CO_2 再呼吸条件において有意に高い値を示すことが確認された。これは、中枢化学受容器への CO_2 刺激が、呼吸亢進をもたらすだけでなく、四肢筋の運動を脊髄レベルで促進している可能性があることを示唆していると考えられる。しかしながら、 CO_2 再呼吸時には $PaCO_2$ の増加だけでなく、 PaO_2 の低下や呼吸筋活動の増加が併発するため、SSMAの増加と $PaCO_2$ の増加の関係性については明確になっていない。

2. 研究の目的

上述したように中枢化学受容器が呼吸制御と同時に四肢筋の運動制御に関与する可能性が示唆されているが、その実証にはさらなる検討が必要と考えた。具体的には、主に下記の4つの課題について検討することとした。呼吸筋活動の増加および PaO_2 の低下がSSMAに及ぼす影響 (実験1)、中枢化学受容器の CO_2 感受性がSSMAに及ぼす影響 (実験1)、高 CO_2 暴露の強度と時間がSSMAに及ぼす影響 (実験2)、 $PaCO_2$ の上昇が足関節底屈およびその主観的感覚に及ぼす影響 (実験3)。

3. 研究の方法

本研究では、以下の4つの実験を行った。

実験 (1)

<目的> CO_2 再呼吸時には $PaCO_2$ の増加だけでなく、 PaO_2 の低下や呼吸筋活動の増加が併発される。つまり、 CO_2 再呼吸によるSSMAの増加には、末梢化学受容器が関与している可能性やCRDPs自体が四肢筋の運動ニューロンにプラトー電位を誘発させている可能性 (Kirkwood et al. *Biocybern Biomed Eng*, 2005) もある。したがって、実験1では、呼吸筋活動の増大および PaO_2 の低下がSSMAに及ぼす影響について検討することを目的とした。

<方法> 健康な成人男性11名を対象とした。実験中、被験者は伏臥位安静を保った。4種類の呼吸条件 [自然呼吸、 CO_2 再呼吸 (容量1500mlの外部死腔付加呼吸)、低 O_2 (15.8%) 吸入、随意過換気 (安静換気量の2倍 / 低炭酸血症を防ぐため容量600-800mlの外部死腔を付加)]: 各条件2分×3回のトライアル] が設定された。各トライアルの開始1分後から、右脚膝窩の脛骨神経に対する経皮的連続電気刺激 (1 ms pulse, 50 Hz, 2 s) を2秒間隔で3回繰り返すことにより右脚ヒラメ筋にSSMAを誘発した。誘発されたSSMAは表面EMG (RMS) によって定量化された。また、 $PaCO_2$ の代替値である呼気終末 CO_2 分圧 ($P_{ET}CO_2$) および分時換気量 (VE) を測定した。さらに、動脈血 O_2 飽和度 (SpO_2) を右手人差し指に装着したパルスオキシメータにより記録した。各呼吸条件のSSMA、 $P_{ET}CO_2$ 、VE、および SpO_2 は3回のトライアルの平均値を算出した。

実験 (2A)

<目的> 持続的な高 CO_2 暴露による $PaCO_2$ の上昇がH反射を減弱させたことが報告されているように (Beekley et al. *Eur J Appl Physiol*, 2004)、神経筋活動に対する $PaCO_2$ の上昇の影響に関する

報告は一貫していない。また、F波に対するPaCO₂の上昇の影響は不明である。実験2Aでは、脊髄運動ニューロンの興奮性に対するCO₂再呼吸の持続（高CO₂暴露の時間）の影響を調査することを目的とした。

<方法>健康な成人男性9名を対象とした。実験中、被験者は膝角度90度の座位安静を保った。各被験者は、3分のCO₂再呼吸（外部死腔付加呼吸（容量1500ml））を1分の自然呼吸を挟んで5回繰り返した。CO₂再呼吸の実施前、実施時（1~5回目）、および実施後に右脚膝窩の脛骨神経に経皮的電気刺激（1ms pulse）を行い、右脚ヒラメ筋のEMG反応〔最大M波（筋細胞膜電位興奮性の指標）、H反射（反射弓興奮性の指標）、F波（運動ニューロン興奮性の指標）〕を測定した。3分のCO₂再呼吸時（1~5回目）の電気刺激はCO₂再呼吸開始30秒後から行なった。電気刺激期間（約2分）中のP_{ET}CO₂（最大値）、VE（平均値）、SpO₂（平均値）を記録した。

実験（2B）

<目的>脊髄運動ニューロンへのセロトニン性入力にはPICおよびプラトー電位を促進するが、セロトニンの過剰放出は抑制的に作用することが報告されている（Perrier and Cotel *Current Opinion in Neurobiology*, 2015）。したがって、本研究の仮説が正しければ、高CO₂暴露の強度が高くなるとSSMAが抑制されると考えられる。実験2Bでは、吸入CO₂ガスの濃度の違いがSSMAに及ぼす影響を検討することを目的とした。

<方法>健康な成人男性9名を対象とした。被験者は伏臥位安静を保ち、3種類の呼吸条件〔自然呼吸、4%CO₂吸入（O₂=21%、CO₂=4%、balance N₂）、7%CO₂吸入（O₂=21%、CO₂=7%、balance N₂）〕：各条件2分×3回のトライアル〕を実施した。各トライアルの開始1分後から、右脚膝窩の脛骨神経に対する経皮的連続電気刺激（1ms pulse, 50 Hz, 2 s）を2秒間隔で3回繰り返すことにより右脚ヒラメ筋にSSMAを誘発した。それに引き続き、H反射およびF波も誘発した。誘発されたSSMAは表面EMG（RMS）によって定量化された。各呼吸条件のSSMA、H反射、F波、P_{ET}CO₂、VE、およびSpO₂は3回のトライアルの平均値を算出した。

実験（3）

<目的>PICによる運動ニューロンの自己持続性脱分極は、姿勢維持や歩行、さらには最大筋力の発揮といった基本的な行動の基調となると考えられている。また、PICを活性化させるセロトニン性入力は随意的な筋力発揮に影響を及ぼすことが報告されている。実験1と実験2においては、高CO₂によるSSMAへの影響を安静筋において検討した。実験3では、随意的筋収縮時の主観的な力調節が高CO₂の暴露によって変調するかどうかを検討することを目的とした。

<方法>健康な成人男性17名を対象とした。実験中、被験者は伏臥位安静を保った。呼吸条件は3種類〔自然呼吸、4%CO₂吸入（O₂=21%、CO₂=4%、balance N₂）、7%CO₂吸入（O₂=21%、CO₂=7%、balance N₂）〕であった。各条件において、5回のトライアルを実施した。最初（Pre）と最後（Post）のトライアルは全条件において自然呼吸であった。PreとPostの間の3回のトライアル（1~3回目）では、自然呼吸あるいは3分の高CO₂ガス吸入（4% or 7%）であった。各トライアルの間隔は1分であった。各トライアルの開始後30秒から、被験者は、視覚的フィードバックを受けながら一定の力（5%最大随意収縮力（MVC））での等尺性足関節底屈を行うように指示された。トライアル開始後50秒から視覚的フィードバックを無くし、被験者は主観的な努力感に基づいて5%MVCを維持した。トライアル開始60秒後から、膝窩への2秒間の連続電気刺激を、1秒間のインターバルを挟んで5回繰り返された。被験者は、電気刺激中と電気刺激後において、電気刺激を極力無視し、主観的な努力感（5%MVC）に基づいて随意的な足関節底屈力を発揮し続けるよう指示された。連続電気刺激の終了後30秒で被験者はリラックスするよう指示された。その後、リラックスした状態で下腿三頭筋のH反射と最大M波を測定し、トライアル開始後180秒でトライアル終了とした。トライアル終了後、自然呼吸での1分間の休息をとった。連続電気刺激の強度は、安静状態で20%MVCの力が誘発される強度とされた（Trajano et al. *J Appl Physiol*, 2014）。連続電気刺激による力の増大は、刺激前10秒間と刺激後（30秒間）の比として算出した。P_{ET}CO₂とVEは、各トライアルの開始後1分以降の平均値が算出された。

4. 研究成果

それぞれの実験について、以下の成果が得られた。

実験（1）

CO₂再呼吸条件のP_{ET}CO₂（53.9 ± 3.4 mmHg）は、自然呼吸条件（38.8 ± 4.8 mmHg）、随意過換気条件（41.8 ± 6.4 mmHg）、低O₂吸入条件（40.0 ± 3.7 mmHg）に比較して有意に高い値であった。VEに関しては、CO₂再呼吸条件（22.9 ± 4.8 l/min）と随意過換気条件（21.7 ± 4.4 l/min）の間に有意差はなく、これら2条件のVEは、自然呼吸条件のVE（10.0 ± 1.9 l/min）に比べて有意に高い値であった。SpO₂に関しては、CO₂再呼吸条件（91.7 ± 3.6%）と低O₂ガス吸入条件（91.0 ± 2.8%）の間に有意差はなく、これら2条件のSpO₂は、自然呼吸条件のSpO₂（97.5 ± 0.8%）に比べて有意に低い値であった。SSMAについては、CO₂再呼吸条件においてのみ、自然呼吸条件に比べて有意に高い値が認められた。これらの結果から、CO₂再呼吸によるSSMA

の増加は、PaO₂の低下や呼吸筋活動の増加ではなく、PaCO₂の上昇に起因することが示唆される。

また、CO₂再呼吸条件においては、SSMAの増大とP_{ET}CO₂の間に有意な正の相関関係が認められた。この結果から、中枢化学受容器へのCO₂刺激が高まることでSSMAが増大することが示唆される。PaCO₂の上昇によるSSMAの増大に中枢化学受容器が関与しているなら、その受容器の感受性の違い（高炭酸ガス換気応答の個人差）によって、SSMAの増加に差が生じると予想される。しかしながら、本研究ではその予想の確認には至らなかった。

実験（2A）

CO₂再呼吸前（Pre）と比較して、CO₂再呼吸時（1～5回目）において、VE（Pre: 6.8 ± 1.0 l/min 5回目: 13.4 ± 4.1 l/min）とP_{ET}CO₂（Pre: 40.6 ± 3.1 mmHg 5回目: 56.3 ± 5.1 mmHg）は有意に増大し、SpO₂は有意に低下した（Pre: 97.2 ± 0.9% 5回目: 95.2 ± 1.1%）。最大M波の振幅には、CO₂再呼吸による有意な変化が認められなかった。H反射の振幅は、CO₂再呼吸前（Pre）と比較して2回目以降において有意に低下した。F波の振幅は、CO₂再呼吸による有意な変化が認められなかった。これらの結果は、CO₂再呼吸の持続により、 α 求心性神経路の興奮が低下したのに対し、筋細胞膜電位の興奮性および脊髄前角細胞の興奮性には変化が生じなかったことを示す。すなわち、CO₂再呼吸の繰り返しによる高PaCO₂（P_{ET}CO₂ = 55 mmHg程度）の持続は、 α 求心性神経路を特異的に抑制し、脊髄運動ニューロンの興奮性および筋収縮能力に影響を及ぼさないことが示唆される。

実験（2B）

P_{ET}CO₂は、自然呼吸条件（41.4 ± 2.4 mmHg）に比べて4%CO₂条件（49.3 ± 2.4 mmHg）および7%CO₂条件（58.0 ± 4.7 mmHg）で有意に高い値となり、また、4%CO₂条件よりも7%CO₂条件において有意に高い値が示された。一方、SSMAは、自然呼吸条件に比べて4%および7%条件で有意に高い値を示したが、4%CO₂条件と7%CO₂条件の間に有意差は認められなかった。F波の振幅は、3条件間に有意差はなかった。H反射の振幅は、自然呼吸条件と4%CO₂条件の間に有意差は認められなかったが、これら2条件に比べて7%CO₂条件において有意に低い値が認められた。これらの結果から、2分の高CO₂曝露は、吸入CO₂の濃度が7%程度（P_{ET}CO₂ = 58 mmHg程度）までであれば、PICおよびプラトー電位を促進させるが、 α 求心性神経路を抑制することが示唆された。

実験（3）

4%CO₂条件の3回のトライアル（1～3回目）中のP_{ET}CO₂（約48 ± 2 mmHg）はPre（43.2 ± 2.2 mmHg）に比べて有意に高い値を示した。同様に、7%CO₂条件の3回のトライアル中のP_{ET}CO₂（約53 ± 2 mmHg）はPre（43.4 ± 2.7 mmHg）に比べて有意に高い値を示した。3回のトライアル中のP_{ET}CO₂は、4%CO₂条件に比べて7%CO₂条件で高い傾向を示したが有意差はなかった。4%CO₂条件の3回のトライアル中のVE（約12～13 l/min）はPre（9.12 ± 1.84 l/min）に比べて有意に高い値を示した。7%CO₂条件の3回のトライアル中のVE（約17～20 l/min）はPre（9.31 ± 1.52 l/min）に比べて有意に高い値を示した。3回のトライアル中のVEは、4%CO₂条件に比べて7%CO₂条件で高い傾向を示したが有意差はなかった。

等尺性足関節底屈（5%MVC）時の連続電気刺激により、その後、被験者の意図した以上の不随意的かつ持続的な力の増大が生じた。これは、随意収縮中の足関節底屈筋にSSMAが誘発されたことを示していると考えられるが、連続電気刺激による力の増大に呼吸条件間およびトライアル間の有意差は認められなかった。この原因は不明であるが、SSMAは拮抗筋の収縮や随意的な脱力によって消失する可能性が報告させている。本実験では、被験者には電気刺激を極力無視し、5%MVCの努力感での力発揮を継続するように指示したが、電気刺激により不随意的に増大した力を意識的に5%MVCに戻すような力調節が行われ、それが結果に影響した可能性が考えられる。最大M波に関しては、その振幅に呼吸条件間およびトライアル間の有意差は認められなかった。H反射の振幅に関しては、7%CO₂条件の3回目とPostにおいて、Preよりも有意に低い値が認められた。このように、実験3では、随意的筋収縮中に誘発した持続的な力の増大（SSMA）に対する高CO₂吸入の影響を確認することはできなかったが、高CO₂曝露によりP_{ET}CO₂が53 mmHg程度になると、 α 求心性神経路が選択的に抑制されることが示唆され、実験2の結論を支持する結果が得られた。

以上の結果から、PaCO₂の上昇は脊髄運動ニューロンのPICおよびプラトー電位を増強する可能性およびそこに中枢化学受容器が関与している可能性が示唆される。ただし、過度なPaCO₂の上昇（P_{ET}CO₂ = 約50～58 mmHg）は、PICおよびプラトー電位には影響しないが、 α 求心性神経路の興奮性を抑制することも示唆された。

PaCO₂の上昇によるSSMAの増大には中枢化学受容器を構成するセロトニン作動性ニューロンの活性化が関与していることを仮定しているが、その実証のためには、中枢化学受容器のCO₂感受性との関係についての検討、またセロトニンの直接的あるいは間接的な指標による評価が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kei Hatano, Kazuki Shirakawa, Noboru Usuda, Ryouta Matsuura, Yoshinori Ohtsuka, Takahiro Yunoki	4. 巻 250
2. 論文標題 Effect of hypercapnia on self-sustained muscle activity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Respiratory Physiology & Neurobiology	6. 最初と最後の頁 24-30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resp.2018.02.002	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kei Hatano, Ryouta Matsuura, Yoshinori Ohtsuka, Takahiro Yunoki	4. 巻 295
2. 論文標題 Enhancement of self-sustained muscle activity through external dead space ventilation appears to be associated with hypercapnia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Respiratory Physiology & Neurobiology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resp.2021.103777	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 波多野慶、大塚吉則、柚木孝敬
2. 発表標題 高炭酸ガス血症が自己持続的ヒラメ筋活動に及ぼす影響
3. 学会等名 第13回 motor control 研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 波多野慶、白川和希、白田昇、松浦亮太、大塚吉則、柚木孝敬
2. 発表標題 CO2再呼吸が自律持続性筋収縮に及ぼす影響
3. 学会等名 第19回日本体力医学会北海道地方会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 波多野慶、河合陽平、柚木孝敬
2. 発表標題 高二酸化炭素曝露が下腿筋運動ニューロンの興奮性に与える影響
3. 学会等名 北海道体育学会 第60 回記念学会大会
4. 発表年 2021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