

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590216

研究課題名(和文) 体性感覚刺激による脳神経伝達機能変化と情動・自律反応相関

研究課題名(英文) Responses of neurotransmitter release in the brain to somatosensory stimulation, and its relation with emotion and autonomic responses

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

研究成果の概要(和文)：

体表への触刺激は心地よさ、リラックス効果、不安・抑うつ感の軽減作用などを有することから、薬物療法を補助する療法として臨床的にも注目されている。その効果には脳内のドーパミンやセロトニンが関与する可能性が示唆されているが、これまでそれを直接証明した研究はなかった。我々は、皮膚に加えた触刺激によって、快感や動機付けの発生に密接に関わる「側坐核のドーパミンの放出」が増加すること、一方、嫌悪感や不安の発生に重要な「扁桃体のセロトニン放出」が逆に減少することを、ラットにおいて明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

Tactile stimulation produces psychological effects such as relaxation, the alleviation of anxiety and depression, and the reduction of lassitude. That the psychological effects evoked by touch therapy involve stimulation of dopamine or serotonin release is suggested by their increased levels in the urine following tactile skin stimulation; however, there is no direct evidence of their increased release in the brain. In the present study, we have shown that the tactile stimulation increases dopamine release in the nucleus accumbens, the nucleus known to play a key role for producing a pleasant feeling, whereas the same stimulation decreases serotonin release in the central nucleus of amygdala, the nucleus known to participate in the anxiety.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：自律神経生理学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：触刺激、神経伝達物質、ドーパミン、側坐核、セロトニン、扁桃体

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、体性感覚刺激によって誘発される種々の自律機能の反射性反応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(時

には内分泌系)活動を変化させて生じる反応のことである。自律機能は情動の影響を非常に受けやすいため、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(体性-自律神経反射)の研究を行ってきた。これまでに、体性感覚刺激に

よって、副腎髄質カテコールアミン分泌 (Kurosawaら, 1982, 1985; Araki ら, 1984)、膵臓からのグルカゴン分泌 (Kurosawaら, 1994)、褐色脂肪組織での産熱 (Kurosawa & Nijima, 1991; Kurosawa 1991)、肝臓からのグルコース放出 (Sugimotoら, 2002; Shimoju-Kobayashiら, 2004)、肝臓血流 (Kurosawaら, 2002)、卵巣血流 (Stener-Victorinら, 2003, 2004, 2006) などが反射的に自律神経を介して変化することを明らかにしてきている。

これらの反射性反応に関する研究結果は、物理療法、温熱療法、その他体表から刺激を加える種々の療法が自律機能におよぼす効果の科学的根拠を与えるものである。しかしながら、体表からの刺激は意識下で与えた場合、各種の情動 (快感、不安など) を起こすので、反射性反応が情動によって修飾される可能性がある。すなわち、体性感覚刺激に対する情動反応が異なり、体性感覚刺激が自律機能におよぼす反射性効果にも変化が生じてくる可能性が考えられる。

2. 研究の目的

上述のように、これまで我々は体性感覚刺激が各種自律神経機能に反射性的変化をおよぼすことを明らかにしてきたが、体性感覚刺激による情動の変化に関しては系統的な検討を行ってこなかった。

体性感覚刺激の中でも特に体表への触刺激によって、不安や抑うつ感などが軽減することに、近年注目が集まっている。たとえば、強迫性障害、パニック障害、心的外傷後ストレス障害などの患者に触刺激を加えると改善効果が認められる (Field, 2005)。これらの効果と脳内ドーパミン、セロトニン濃度の変化の呼応が推測されているが、その証明はなされていない。

情動発生と深くかかわる神経伝達機能として、側坐核のドーパミン放出と扁桃体中心核のセロトニン放出が特によく知られている。側坐核のドーパミンは快感の発生と動機づけにかかわることが知られており、一方、扁桃体中心核のセロトニンは不安・恐怖や嫌悪感の発生にかかわることが知られている。

本研究では、これら2つの脳神経核での神経伝達機能に着目し、皮膚への触刺激の影響を検討することを目的とした。この研究により、これらの伝達物質の放出が触刺激によって変化することが明らかになると、これらの伝達物質が触刺激時の自律機能の反応にどのように関わるかを調べる研究につなげることができる。

本研究では、神経伝達機能におよぼす触刺激の影響が触刺激に特異的な反応なのかどうかを他の体性感覚刺激 (本研究では侵害性の機械的刺激) の効果と比較した。また、上述の脳部位のドーパミン、セロトニン放出反応が、刺激によって生じた情動や覚醒状態の変化の結果

起きた二次的な反応であるのか、あるいは体性感覚刺激による直接的な反応であるのか否かを検討するために、麻酔してこれらの影響を最小限にした状態でも検討した。また、これまでの我々の研究により、体性感覚刺激の効果には刺激部位差のあることも明らかになっているため、刺激皮膚領域の差についても検討した。

3. 研究の方法

(1) 動物

実験には麻酔下並びに意識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。

(2) マイクロダイアリス法

実験の2-3日前にラットをペントバルビタール (50 mg/kg, i. p.) で麻酔し、脳定位的に側坐核あるいは扁桃体中心核にマイクロダイアリ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。

実験は麻酔下あるいは意識下で行った。麻酔薬にはウレタン (1.1 g/kg, i. p.) を用いた。麻酔下の実験では直腸にサーミスター温度計を挿入し、直腸温を $37.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ に維持した。意識下の実験は動物が自由に動ける状態で行った。

あらかじめ留置しておいたガイドカニューレ内にマイクロダイアリスプローブを刺入した。側坐核ドーパミンの採取には膜長2mm、扁桃体セロトニンの採取には膜長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 (図1参照)。

(3) ドーパミンとセロトニンの測定法

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) 皮膚刺激法

背部、前肢、後肢の各皮膚領域に、徒手にて触刺激を加えた (圧 $80-100 \text{ mmHg}$; 頻度 $65-75 \text{ 回/分}$)。比較のために、同皮膚領域に、手術用の鉗子を用いて侵害性機械的刺激 ($3-5 \text{ kg/cm}^2$) を加えた。

(5) 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。

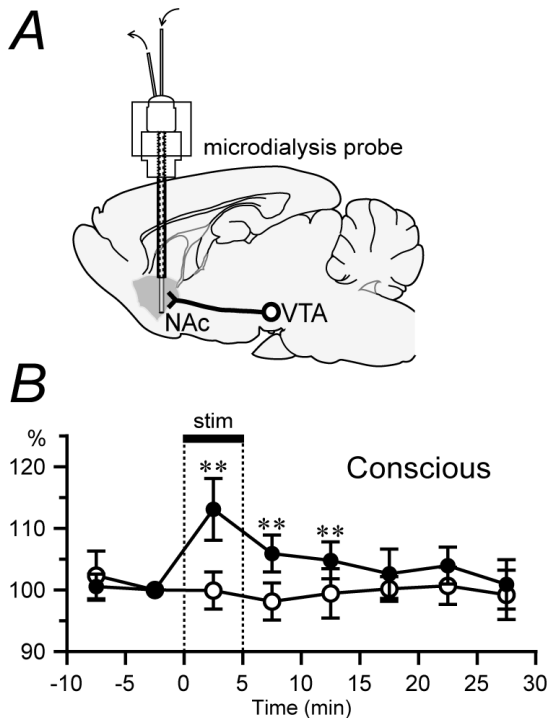


図1 側坐核ドーパミン放出量の測定のために用いたマイクロダイアリシス法の模式図 (A) と意識下動物に触刺激 (両側の背部) を加えた際の側坐核ドーパミン放出の変化 (B)。刺激前値を100%として表現。** $p < 0.01$ (刺激前値との比較)。

(6) 倫理

本実験は国際医療福祉大学動物実験倫理委員会承認のもとに行った。

4. 研究成果

(1) 側坐核ドーパミン放出におよぼす触刺激の影響

意識下ラットの背部 (両側) に触刺激を加えると、刺激中の5分間とその後の刺激終了後10分間に側坐核ドーパミン放出は有意な増加を認めた (図1B ●)。刺激を加えず40分間、5分ごとにサンプルを取り続けた状態ではドーパミン放出は安定していた (図1B ○)。一方、麻酔下のラットに同様の触刺激を加えると、刺激中の5分間と刺激後の5分間に有意な増加を認めた (図2A)。麻酔下ラットでのこの増加は、側坐核と同側の腹側被蓋野を破壊すると、完全に消失した。

意識下のラットでは触刺激によって覚醒系が刺激され、側坐核でのドーパミン放出が刺激された可能性もあるが、興味深いことに刺激によってドーパミンが増加するという点では意識下のラットも麻酔下のラットも本質的に同じ反応を示した。つまり麻酔の有無での違いは、刺激終了後10分から15分間に増加を認めるかどうかのみであった。

側坐核のドーパミンは sniffing (クンクンと臭いをかぐ行動) や rearing (立ち上がり行

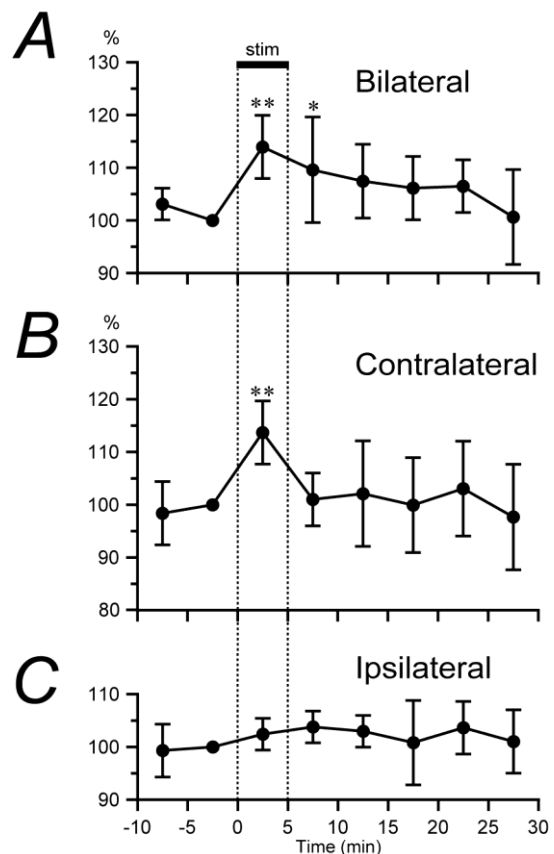


図2 触刺激の左右差と側坐核ドーパミン放出 (麻酔下)。A: 両側の背部皮膚を刺激、B: ドーパミン放出を測定した側坐核と同側の背部皮膚を刺激、C: 反対側の背部皮膚を刺激。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (刺激前値との比較)。

動)、grooming (毛づくろい行動) などを起こす作用があることも知られている。事実、本研究においても、刺激終了後10分から15分の間には、sniffing や rearing、grooming が観察された。つまり意識下ではこれらの行動を起こすためにドーパミン放出が促されていた可能性もある。

麻酔下の動物においてさらに側坐核ドーパミン放出のメカニズムを検討した。まず、ドーパミンの測定をした側坐核と同側ならびに反対側の背部皮膚を刺激し、比較したところ、同側皮膚の刺激ではドーパミン放出は有意な変化を示さず (図2C)、反対側皮膚刺激によってのみ有意な増加を示す (図2B) ことがわかった。これらの結果は、麻酔下の条件では、側坐核ドーパミン放出が感覚情報と同様、反対側刺激が重要であることを示したものである。これらの増加が覚醒系を賦活することによってもたらされるならば、刺激の側性 (左右差) はおそらく見られないと考えられる。すなわち、少なくとも麻酔下の状態で見られた側坐核ドーパミン放出の増加は体性感覚入力による直接的な変化であることが強く示唆された。

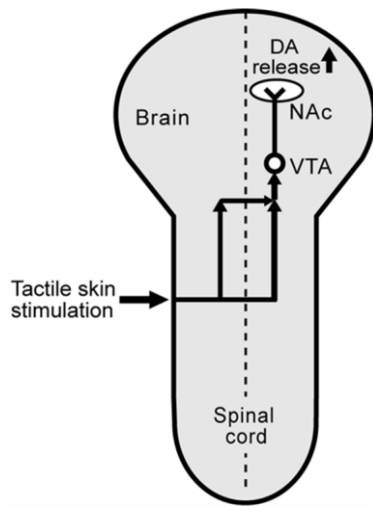


図3 触刺激による側坐核ドーパミン放出反応のまとめ。触刺激の感覚情報は脊髄の同側を上行する経路（後索路）と反対側を上行する経路（脊髄視床路）とが知られているが、本実験ではどちらを通るかは明らかにしていない。VTA:腹側被蓋野、NAc:側坐核、DA:ドーパミン。

また、側坐核ドーパミン放出は、前肢あるいは後肢皮膚への触刺激によっても背部刺激と同様の増加を認めたが、侵害性の機械的刺激によっても側坐核のドーパミン放出は有意な変化を示さなかった。侵害性の刺激は覚醒を促す強い刺激であることから、この事実もまた、麻酔下の条件では、側坐核ドーパミン放出は非侵害性の体性感覚刺激によって特異的に増加することを示すものと考えられる。

以上、本研究により、側坐核ドーパミン放出が反対側皮膚への触刺激によって増加することがはじめて明らかとなった（図3参照）。本研究で示したドーパミン放出の増加が触刺激時の快感の発生、リラックス感などと関わると考えられる。

(2) 扁桃体セロトニン放出におよぼす触刺激の影響

扁桃体中心核からのセロトニン放出におよぼす触刺激の影響を麻酔下のラットで検討した。両側の背部に触刺激を加えると、セロトニン放出は刺激中に減少した。この減少は、前肢、後肢に加えた際にも認められた。

一方、侵害性の機械的刺激をこれらの部位に加えると、触刺激の場合とは逆にセロトニン放出は増加した。

以上、扁桃体中心核からのセロトニン放出は側坐核ドーパミン放出とは逆に皮膚への触刺激によって減少することが明らかとなった。扁桃体中心核のセロトニン放出において、刺激皮膚領域の側性がどのように影響を

及ぼすかについては今後の検討課題である。

(3) 成果の国内外における位置づけ

側坐核のドーパミンは快感の発生や動機づけにかかわるほか、不安やうつ病態にも関与することが近年明らかにされている（Falowskiら, 2011; Coqueら, 2011）。一方、扁桃体中心核のセロトニンは、恐怖、不安やストレスによって増加することが知られている（Fosterら, 2006; de Alneudaら, 2006; Yokoyamaら, 2005）。

乳がん患者、妊娠うつ患者、腰痛患者、摂食障害患者の抑うつ感や不安が触刺激によって軽減することが報告されており（Fieldら, 1998; 2005; 2010; Hernandez-Reifら, 2001; 2005）、これらの報告では、尿中のドーパミンとセロトニン量が触刺激によって増加することも示されている。しかし、尿中のドーパミンやセロトニンは脳内の神経伝達変化を直接反映しているとは言えない。しかもドーパミンやセロトニンは様々な脳領域において伝達物質として機能しているので、快感や不安の発生に密接にかかわる脳領域での放出変化を検討することが必須であった。本研究により、これらの神経伝達物質が触刺激によって実際に変化することが初めて示された。

本研究によって、快感の発生とかかわる側坐核のドーパミン放出は触刺激によって増加するのに対し、不安の発生にかかわる扁桃体中心核のセロトニン放出は触刺激によって逆に減少することが明らかとなった。本事実、触刺激によって起こる快感発生や不安軽減が、側坐核のドーパミン放出増加や扁桃体中心核のセロトニン放出減少を介して起こることを強く示唆するものである。

本研究は、昔から言われる「手当て」、つまり皮膚に加える触刺激の有用性について、ひとつの科学的証拠を示したものと考えられる。

(4) 今後の展望

各種自律神経機能は恐怖、不安、歓喜など種々の情動によって影響を受ける。一方、我々は体表からの刺激によって自律機能が反射的に変化することも明らかにしている。本研究により、触刺激によって側坐核のドーパミン放出と扁桃体中心核のセロトニン放出が変化することが明らかになったので、今後はドーパミンやセロトニンの作動薬あるいは遮断薬をこれらの核に投与して、触刺激時の反射性自律反応におよぼす影響を調べる計画である。そのような研究により、情動と反射性自律反応の相互作用のメカニズムが明らかになると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計10件)

1. Maruyama K, Shimoju R, Ohkubo M, Maruyama H, Kurosawa M, Tactile skin stimulation increases dopamine release in the nucleus accumbens in rats, *Journal of Physiological Sciences*, 62: 259-266, 2012. 査読有.
2. 黒澤美枝子, 丸山貴美子, 下重里江, 皮膚への触刺激による側坐核ドーパミン放出, *自律神経*, 49(2): 92-94, 2012.

〔学会発表〕(計27件)

1. 徳永亮太, 下重里江, 大久保真人, 丸山仁司, 黒澤美枝子, 体性感覚刺激時の扁桃体中心核セロトニン放出反応におけるコルチコトロピン放出因子の関与, 第89回日本生理学会大会, 2012. 3. 31., 長野県松本文化会館, 長野県/松本市.
2. 黒澤美枝子, 丸山貴美子, 徳永亮太, 下重里江, 側坐核ドーパミン放出におよぼす皮膚触刺激の影響, 第22回マイクロダイアリシス研究, 2011. 12. 10., お茶の水女子大学, 東京/文京区.
3. 黒澤美枝子, 皮膚への触刺激による側坐核ドーパミン放出, 第64回日本自律神経学会総会シンポジウム, 2011. 10. 28., 秋田ビューホテル, 秋田県/秋田市.
4. 黒澤美枝子, 下重里江, 徳永亮太, 大久保真人, ラット扁桃体セロトニン放出におよぼす皮膚触刺激の影響, 第1回国際医療福祉大学学会, 2011. 9. 3., 国際医療福祉大学, 栃木県/大田原市.
5. 徳永亮太, 下重里江, 大久保真人, 黒澤美枝子, 体性感覚刺激によるラット扁桃体セロトニン放出の変化, 第88回日本生理学会大会 第116回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会, 2011. 3. 28., パシフィコ横浜(震災のため, 誌上開催), 神奈川県横浜市.
6. 黒澤美枝子, タッチケアの自律神経系に及ぼす影響, 第32回日本疼痛学会シンポジウム, 2010. 7. 3., 国立京都国際会館, 京都府/京都市.
7. 黒澤美枝子, 丸山貴美子, 下重里江, 皮膚への触刺激によるラット側坐核でのドーパミン放出増加反応, 第87回日本生理学会大会, 2010. 5. 21., 盛岡市民文化ホール, 岩手県/盛岡市.
8. 黒澤美枝子, 丸山貴美子, 下重里江, 体性感覚刺激によるラットの側坐核ドーパミン放出反応, 第37回自律神経生理研究会, 2009. 12. 5., 日本光電工業本社研修センター, 東京.
9. Shimoju R, Maruyama K, Ohkubo M, Maruyama H, Kurosawa M, Cutaneous tactile stimulation increases dopamine

release in the nucleus accumbens via excitation of the ventral tegmental area in rats, 第32回日本神経科学大会, 2009. 9. 17., 名古屋国際会議場, 名古屋.

10. Shimoju R, Maruyama K, Kurosawa M, Tactile stimulation and dopamine release in the rat nucleus accumbens, 36th International Congress for Physiological Sciences, 2009. 7. 28., Kyoto International Conference Center, Kyoto.

〔図書〕(計4件)

6. 研究組織

(1) 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