

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tsujino. H., Kondo. E., Fukuoka. T., Dai. Y., Tokunaga. A., Miki. K., Yonenobu. K., Ochi. T. and Noguchi. K. Activating transcription factor 3 (ATF3) induction by axotomy in sensory and motoneurons: A novel neuronal marker of nerve injury. *Mol. Cell. Neurosci.*, 15,170-182, 2000.
- 2) Kenzo Tsuzuki, Eiji Kondo, Tetsuo Fukuoka, Dai Yi, Hiroaki Tsujino, Masafumi Sakagami and Koichi Noguchi Differential regulation of P2X3 mRNA expression by peripheral nerve injury in intact and injured neurons in the rat sensory ganglia, *Pain*, In Press, 2001.

2. 学会発表

- 1) Tsuzuki. K., Kondo. E., Sakuma. Y., Sakagami. M. and Noguchi. K. Effect of partial nerve injury on P2X3 mRNA expression in the rat primary afferent neurons. 30th Annual Meeting Society for Neuroscience, 11.4-9, New Orleans, U.S.A, 2000.
- 2) Yamanaka. H., Hashimoto. N., Kondo. E., Fukuoka. T. and Noguchi. K. Induction of plasminogen activators and their inhibitors in rat dorsal

root ganglion and spinal cord following sciatic nerve transection. 30th Annual Meeting Society for Neuroscience, 11.4-9, New Orleans, U.S.A, 2000.

- 3) Fukuoka. T., Kondo. E., Dai. Y. and Noguchi. K. Phenotypical change of the L4 DRG neurons after unilateral L5 spinal nerve ligation and the contribution of neurotrophic factors: BDNF increases in Trk A positive neurons. 30th Annual Meeting Society for Neuroscience, 11.4-9, New Orleans, U.S.A, 2000.

- 4) Shimode. N., Tanimoto. M., Tashiro. T., Fukuoka. T., Kondo. E. and Noguchi. K. The effect of intrathecal dexmedetomidine on induction of fos-like immunoactivity in the spinal dorsal horn in a rat postoperative pain model. 30th Annual Meeting Society for Neuroscience, 11.4-9, New Orleans, U.S.A, 2000.

- 5) Dai. Y., Iwata. K., Kondo. E., Morimoto. T. and Noguchi. K., A selective increase in fos expression in spinal dorsal horn neurons following graded thermal stimulation in rat with experimental mononeuropathy. 30th Annual Meeting Society for Neuroscience, 11.4-10, New Orleans, U.S.A, 2000.

厚生科学研究費補助金（長寿科学研究事業）
分担研究報告書

脊髄侵害受容ニューロンの活動と防御反射機構の加齢変化

分担研究者 神田健郎 東京都老人総合研究所 研究部長

研究要旨

脊髄痛覚伝導路の可塑性変化の一形態である wind-up 現象の基本的性質について、ラットの屈筋反射で検討した。更に、成熟・高齢ラットに於ける差を調べた。腓腹神経をC線維が活動する強度で電気刺激し、大腿半腱様筋に誘発される屈筋反射筋電図を記録した。

反復刺激による反応増強の程度は、刺激間隔を3秒から20秒に拡げるに従って低下した。この低下過程に指数関数を当てはめ、時定数で減衰の程度を表した。この減衰の時定数は従来の評価法である wind-up の強度とは相関がなかった。時定数は成熟ラットの 6.4 ± 2.9 秒に対して、高齢ラットでは 9.2 ± 3.2 秒と有意に長かった。C線維活動が脊髄痛覚伝導路に与える影響は、高齢ラットでは成熟ラットに比べてゆっくり減衰し、従って、長く持続して可塑性変化を起こし状態にあることが示唆された。

A. 研究目的

痛覚情報の伝導に係わっているとされる末梢神経中の小径有髄線維や無髄線維では、個体の老化に伴う変化が形態学的にも、電気生理学的（軸索の伝導速度）にも、大径有髄線維に比べて軽度である。脊髄後角のP物質やカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）を含有する神経線維の分布密度は高齢ラットで低下するが、その変化は軽度である。また、精神物理学的方法によって、痛覚閾値の加齢に伴う変化がこれまでに数多くヒトで研究されてきた。若齢者に比べて高齢者ではやや低下するとする報告が多いが、殆ど差が無いとするものもある。ヒト及び動物実験に於けるこの様な所見は、歳を取っても痛覚機能は良く維持されていることを窺わせ、その為か、痛覚伝導路に於けるニューロン活動や情報処理過程の加

齢変化については殆ど研究されてこなかった。しかし、脊髄後角の侵害受容ニューロンの活動及び末梢皮膚への刺激に対する反応性を調べた本研究に於ける我々の実験で、自発放電の発射頻度、受容野皮膚への侵害熱刺激に対する反応が共に高齢ラットでは成熟ラットに比べて明らかに高いことが解った。侵害機械刺激後の発射も高齢ラットで高く、刺激の効果が後まで残ることが示唆された。痛覚伝導路は極めて可塑性に富んでおり、それが痛覚に影響を及ぼすことが知られている。ひどい場合は神経原性疼痛を引き起こし患者を苦しめる。高齢者では慢性痛を訴える者が多い。侵害受容ニューロンの過活動性が慢性痛の誘発に影響していないか、また、高齢者の痛覚受容機構の特性として、治療面で考慮されるべきかを明らかにするために、更に研究を

進めることにした。まず、wind-up 現象として知られる反復刺激による反応の増強について調べることにし、前年度には、高齢ラットではこの wind-up 現象が、より長い刺激間隔でも見られることを明らかにした。今年度は、高齢ラットにおける変化を詳細に検討するために、表し方を工夫し、更に、高齢ラットに見られる変化の原因に、上位中枢からの抑制系の変化が関与していないか、どのような伝達物質・受容体の関与があるかを検討した。

B. 研究方法

実験には SPF 環境下に当研究所実験動物開発施設で飼育された雄の Fischer 344/DuCjr を使用した。成熟群は 11ヶ月齢、高齢群は 29ヶ月齢であった。尚、平均寿命は約 28ヶ月である。ハロセン麻酔下（導入時 2.0%、手術中の維持 1.5%）に、気管、総頸動脈、外頸静脈にそれぞれカニューレを挿入した。以後、呼吸は人工呼

吸器に接続して管理した。左下腿背面皮膚に小切開を加え、腓腹神経を露出、周囲結合組織から剝離して、腓腹筋の筋腹レベルで切断した。ラットを金属フレームに固定し、屈筋反射による筋電活動を記録するため、直径 100 ミクロンのテフロン被覆ステンレス線（先端 2 ミリメートルを剝離した）2 本を半腱様筋に、約 5 ミリメートルの間隔を置いて刺入した。腓腹神経を刺激用双極電極に装着し、神経・筋の露出部は温めたミネラルオイルで被った。ハロセン濃度を 1.2 から 0.8% に下げて、1 時間後に観察を開始した。腓腹神経の刺激は定電流パルスにより行い、幅 2 ミリ秒、強さは 0.5 から 5.0 ミリアンペア（通常 0.5 ミリアンペア）であった。5 回の連発刺激を 1 分の間隔を置いて 5 回繰り返し、反応の増強を観察した。5 分後に、連発刺激の間隔を変え、同様の刺激を加えた。連発刺激の間隔と行った順序は 3, 20, 5, 15, 8, 12, 10 秒であった。研究の後半では、この順番をランダム化した。即

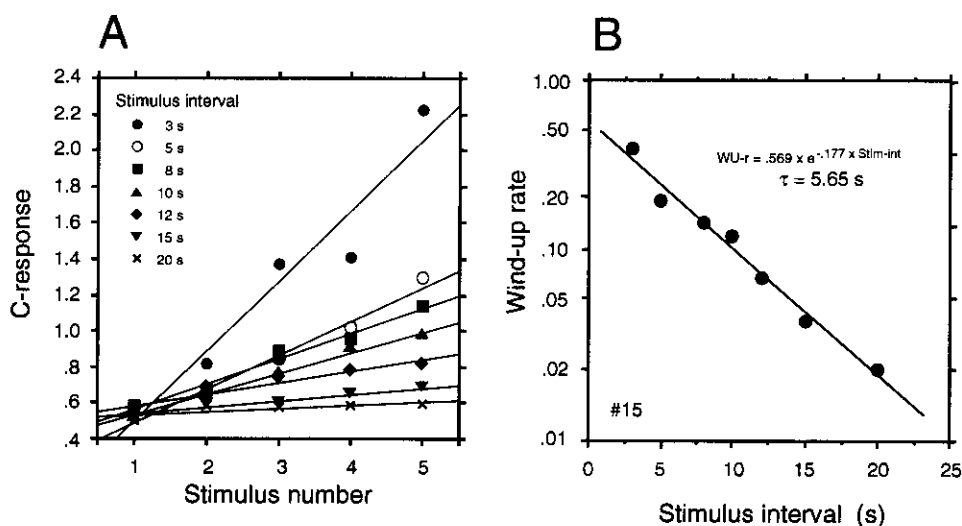


図1 刺激頻度と wind-up との関係。

A: 刺激を繰り返す毎に C 線維の活動により誘発される屈筋反射はほぼ直線的に大きくなる。この大きくなり方、wind-up rate は刺激間隔が長くなるに従って低下する。 B: Wind-up rate は刺激頻度が長くなるに従って指数関数的に低下する。グラフの縦軸は対数目盛である。

ち、同一刺激間隔5発の連発刺激を単位とし、これをランダム化した刺激間隔で1分おきに繰り返し、それぞれの刺激間隔での試行単位数が全体で3回となるように設定した。半腱様筋に出現した反射活動は数値化し、刺激後100から600ミリ秒の間の反応を積分して、C線維により誘発された反応の大きさとした。連発刺激の順番ごとに5回（または3回）の反応を平均し、連発刺激による反応の増強を調べた。刺激のタイミングのコントロール、筋電図活動の数値化及び平均など処理からグラフ表現まで全てコンピュータで管理した。実験最後には坐骨神経を切断し、腓腹神経刺激によるC線維の活動を確認した。

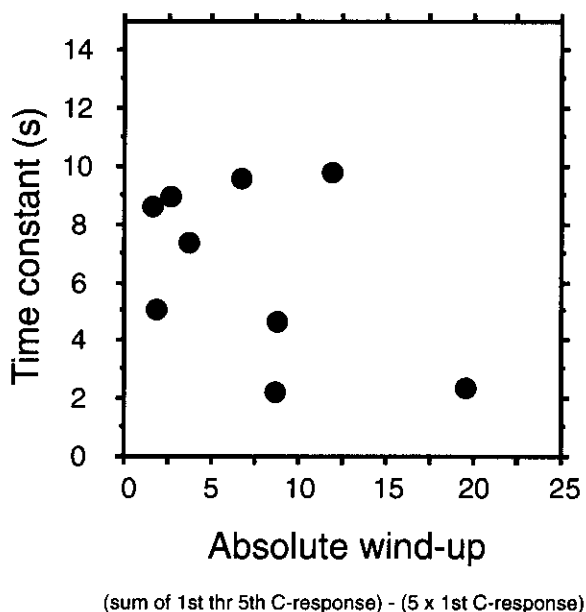


図2 Wind-upの大きさと減衰時定数との関係

従来用いられてきたWind-upの大きさと刺激頻度延長に伴うwind-up減衰の時定数との間には有意の相関を認めなかった。各点は個体ごとの値で、全てハロセン1.0%麻酔下、刺激強度0.5ミリアンペア、脊髄無傷の状態で得られたものである。

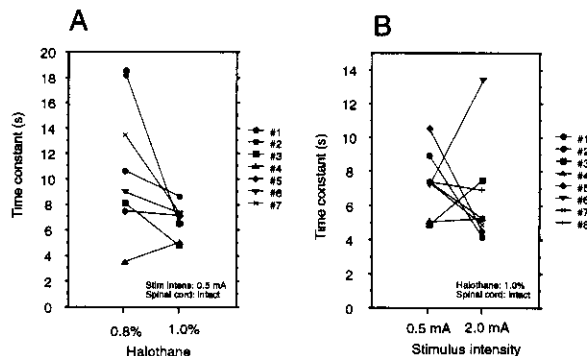


図3 減衰時定数に対する麻酔深度 (A)、刺激強度 (B) の影響。

ハロセン濃度が0.8%の時のほうが1.0%の時より有意に長かった (Wilcoxon signed rank test, $p < 0.05$)。しかし、刺激強度0.5ミリアンペア、2.0ミリアンペアの比較では差がなかった。

C. 研究成果

C線維の活動により誘発される屈筋反射は刺激の回を重ねるごとに直線的に増加する。回帰直線の勾配をwind-up rateとして、反応増強の程度を表す。連発刺激の間隔を長くしていくとwind-up rateは次第に低下する (図1 A)。これを片対数グラフに描くと、良い直線関係が成り立つことが分かった (図1 B)。即ち、連発刺激の間隔を延ばしていくに従ってwind-up rateは指数関数的に低下していく事になる。そこで、このwind-up rateの低下を時定数で表した。時定数が短い程、刺激間隔を延ばすにつれ急速に反復刺激による反射増強作用が弱まることを意味する。言い換えると、時定数が長いことは刺激間隔が長くても反復刺激による促進効果が起こることを示唆する。従来、wind-upについては反応の増強の程度を如何に表すかについて種々工夫されてきたが、時間のパラメータに関しては厳密なものなかった。本実験に於ける時定数と従来表現によるwind-upの大きさとの関係を見た (図

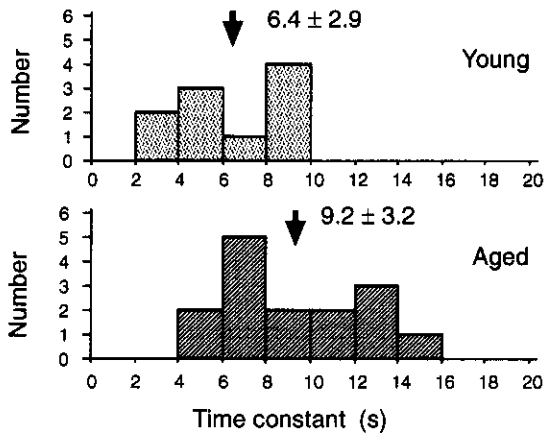


図4 減衰時定数の成熟ラット・高齢ラット間の比較。

高齢ラットの時定数 9.2 ± 3.2 秒は成熟ラットの値 6.4 ± 2.9 秒に比べて有意に長い。

($p < 0.05$, t-test)

2)。図に見る如くこれら両者の間には有意の相関を認めなかった。刺激強度は時定数に影響を与えなかったが(図3B)、ハロセンの濃度が低い方が時定数が長かった(図3A)。

成熟ラット15例、高齢ラット15例から得られた時定数の分布を図4に示す。成熟ラットでは 9.2 ± 3.2 秒(平均±標準偏差)であるのに対して高齢群は 6.4 ± 2.9 秒で、この差は統計学的に有意($p < 0.01$, t-test)であった。次に、脊髄切断(Th10)の前後で時定数を比較し、脊髄下行路の影響を調べた。成熟ラットでは、脊髄無傷時に6.4秒であった時定数は脊髄切断後に有意に延長し、14.3秒となった。一方、高齢ラットでは、脊髄切断前9.2秒、切断後8.1秒と差が無かった(図5)。

更に、NMDA受容体の拮抗薬であるケタミンの時定数への影響を調べたが、明かな変化は認められなかった。ケタミンは1~4 mg/kg筋注で投与した。

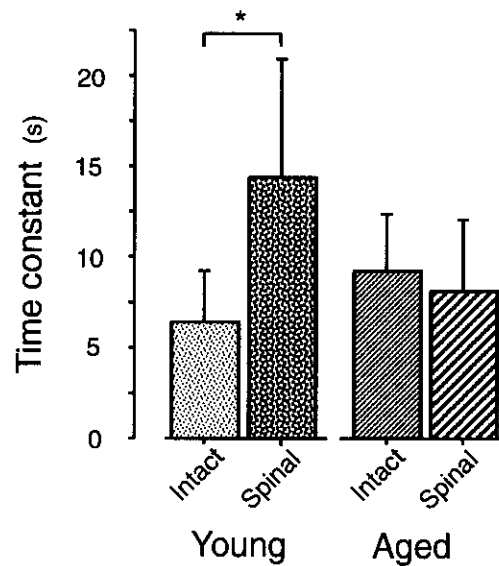


図5 減衰時定数に対する脊髄切断の影響。

脊髄切断(Th10)により成熟ラットでは時定数が6.4秒から14.3秒に延長したが、高齢ラットでは有意の差が認められなかった(9.2秒と8.1秒)。

D. 考察

wind-upは活動依存性の可塑性変化である。これまでのin vivo実験のほとんどは刺激間隔として、0.5~1.0秒を用いている。PriceはC線維の反復刺激によって誘発される屈筋反射の増強は頻度が0.3秒を上回る場合であると報告している。wind-upを誘発する刺激頻度の範囲は比較的狭いとされてきた。しかし、今回の実験では、3秒以上開いた刺激でも明かなwind-upが認められた。高齢ラットでは、1回の刺激の効果は1分以上持続する例も見られる(未発表データ)。Wolf and KingはC線維刺激後に数10秒間続く緩徐な興奮性シナプス後電位を脊髄後角のニューロンで記録している。本実験による観察はこの様な緩徐な興奮性シナプス後電位の存在を反映していると考えられる。

一方、刺激を数多く繰り返すと今回規定

した時定数が短くなり、屈筋反射自体が次第に減弱してしまうことが見られた。時には屈筋反射が全く消失してしまい、刺激強度を5~10ミリアンペアに上げてでも無効であった。この多くの場合に於いて、脊髄を横断するとその後に反射が再び見られるようになるので、刺激を多数繰り返して起こった時定数の短縮、反射の減弱は、この反射経路が下行性の系によって抑制されたことによるらしい。従って、椎弓切除術を含む広範囲の手術は強い侵害刺激を与えることによって、この抑制系の働きを誘発することが考えられる。従来の脊髄後角ニューロンの活動記録による wind-up 現象の観察は同様の原因により比較的刺激間隔が狭い範囲でしか見られなかった可能性がある。しかし、wind-up 現象誘発の刺激間隔が従来一般に報告されていたものより今回の方が長かったことについては、更にその原因を追究する必要がある。

これまで wind-up を誘発する刺激間隔は比較的狭い範囲に限られるとされ、反応の増強の程度に主な興味向けられて来た。本実験で刺激間隔が wind-up 現象にどの様に影響するかを定量的に表すため、時定数を導入した。本実験で用いた最も短い刺激間隔である3秒での刺激で見られた wind-up による反射増強の程度と刺激間隔を種々に変化させて求めた

wind-up 減衰時定数との間に相関は認められなかった。従って、wind-up 現象の基本的性質について、反応増強の程度を規定する要因と刺激間隔という時間を規定している要素とが互いに独立に存在している可能性が示唆される。

wind-up 現象には多くの神経伝達物質やその受容体の関与が報告されている。その中には、AMPA と NMDA 受容体、P 物質、セロトニン、ノルアドレナリン、VIP が含まれる。その他、非選択的陽イオンチャンネル

の関与も示唆されている。今回明らかになった wind-up 減衰時定数の高齢ラットで延長にどのような背景変化があるかを詳しく論ずる段階には現時点では至っていない。しかし、痛覚伝導路ニューロンの活動を制御している下行路の働きについて考えてみることに意義が有ると思われる。wind-up 現象が下行路の働きにより影響されることはこれまでの多くの研究によって明らかにされている。また、我々の以前の実験で後角の侵害受容ニューロンの末梢皮膚受容野刺激に対する反応性や背景発射が脊髄切断によって成熟ラットでは有意に増えるのに対して、高齢ラットではこの増強が見られないことが示されている。下行性の抑制系として働いているとされるセロトニン作動性神経線維やノルアドレナリン作動性神経線維の後角内分布密度も低下していた。これらの所見は何れも下行性の抑制系の働きが高齢ラットでは傷害されていることを示唆している。従って、この下行性抑制系の障害に由来する侵害受容ニューロンの過活動が、wind-up 減衰時定数の高齢ラットにおける延長を引き起こしている可能性がある。

E. 結論

これまでの我々の実験で、高齢ラットにおける脊髄侵害受容ニューロンが過活動状態にあることが判明した。更に今回の実験で、wind-up 減衰時定数が高齢ラットで成熟ラットに比べて有意に長いことが明らかになったことで、高齢者の痛覚伝導路にはかなりの変化が起こっている可能性がある。また、ラットを用いた神経原性疼痛の実験に於いて、高齢のものほどよりひどい、持続の長い疼痛過敏が引き起こされるとの報告もある。高齢者に慢性痛が多い原因には、単に基礎疾患が増えるのみでなく、痛覚伝導路の加齢変化が基礎にあるかもしれない。

更に詳しい検討が必要である。高齢者の痛覚伝導路の特性が更に明らかになれば、高齢者の疼痛に対しより適切な治療を施すことが出来る可能性がある。

F. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 神田健郎、佐藤斉、岩田幸一、野口光一
高齢ラット脊髄侵害受容ニューロンの活動亢進 日本基礎老化学会第23回大会 大府市 2000, 6.28-30.
- 2) 岩田幸一、田代晃正、小川明子、田村泰久、森本俊文、神田健郎 皮膚炎により誘導される高齢ラット脊髄後角侵害受容ニューロン活動の変調 第23回日本神経科学大会 横浜 2000, 9.4-6.
- 3) Kanda, K., Sato, H., Kemuriyama, T. Liability to temporal summation of the flexor reflex in aged rats. Society for Neuroscience 30th Annual Meeting, New Orleans, USA. 2000, 11.4-9.
- 4) 神田健郎、佐藤斉、岩田幸一 高齢ラット脊髄侵害受容ニューロンの活動特性と可塑性変化 第30回日本臨床神経生理学会学術大会 2000, 12.13-15.

2. 論文発表

- 1) Kanda, K., Sato, H., Kemuriyama, T. and Iwata, K. Temporal facilitation of the flexor reflex induced by C-fiber activity: Comparison between adult and aged rats. *Neurosci. Lett.* in press.
- 2) Iwata, K., Fukuda, T., Kondo, K., Tashiro, A., Tsuboi, Y., Morimoto, T. and Kanda, K. Plastic changes in nociceptive transmission of the rat spinal cord with advancing age. submitted.
- 3) Sato, H., Kamuriyama, T., Iwata, K. and Kanda, K. Age-related changes in spinal nociceptive transmission revealed by a novel appraisal method for wind-up phenomenon. in preparation.

侵害性刺激による心拍数増加反応の加齢変化

分担研究者 鈴木敦子 東京都老人総合研究所 主任研究員

研究要旨

皮膚の侵害刺激によって誘発される心拍数増加反応の加齢変化について麻酔ラットで調べた。中枢神経無傷時、後肢ピンチ刺激によって誘発される上脊髄性の心拍数増加反応は成熟ラットに比べて約2年齢の老齢ラットでは良く保たれていたが、約3年齢の超老齢ラットでは成熟ラットの約1/5に著しく減弱していた。急性脊髄切断ラットにおいて胸部ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応は老齢ラットにおいても超老齢ラットにおいても成熟ラットに比べて有意差は認められなかった。以上の事実から、後肢侵害刺激によって誘発される上脊髄性の心拍数増加反応は、超老齢ラットにおいて減弱し、この減弱には上脊髄における加齢変化が関与していることが示唆された。

A. 研究目的

高齢者では慢性痛を訴える者が多くなることが知られている。痛みを起こす侵害性刺激は、同時に自律機能にも様々な反射性反応を引き起こす。本研究は、侵害刺激が自律機能に及ぼす反射性効果とその反射経路の加齢変化について明らかにし、高齢者の痛みの治療に役立てることを目的とする。

具体的には、自律機能の中でも循環機能、特に心拍数に注目した。侵害刺激によって心臓交感神経活動が亢進して心拍数増加反応が誘発されること、侵害刺激によって誘発される心拍数増加反応は、刺激が入力する部位によって上脊髄性の反射と脊髄性の反射が誘発されること、が麻酔ラットで明らかにされている（Kimura et al., 1995; Sato et al., 1997）。

このような背景を踏まえ、本研究は心

臓交感神経が出力する分節と遠い後肢刺激によって誘発される脳を介する上脊髄性反射と、心臓交感神経の出力する分節と近い胸部への刺激によって誘発される脊髄性反射に着目し、これらの反射の加齢変化を調べ、反射経路の加齢変化を検討した。

B. 研究方法

成熟群として4-6ヶ月齢、老齢群として23-24ヶ月齢、超老齢群として32-36ヶ月齢の3群のWistar系ラット（190g～300g）を用いた。ラットをウレタンで麻酔し（0.9-1.1g/kg, i.p.）気管挿管して人工呼吸にし、呼気中炭酸ガス濃度を約3%に保った。直流ヒートパッドと赤外線ランプを用いて体温を約37.5℃に保った。実験中、血圧の変動、眼瞼反射などを指標とし、必要に応じて麻酔を頸静脈に留置したカテーテルから追加投与

した。

心拍数の測定：頸動脈に挿入したカテーテルを圧トランスデューサーに接続してを介して血圧を記録し、血圧の脈派から心拍タコメータで心拍数を連続記録した。

侵害刺激：上脊髄性反射を誘発する部位として後肢足底、脊髄反射を誘発する部位として胸部を選び、皮膚を外科鉗子で約1cm²、3kgでつまむピンチ刺激を20秒間行った。

脊髄切断：脊髄を第二頸髄のレベルで切断した。血圧低下を緩和する目的で血漿増量剤（4% Ficoll、Ficoll70、Pharmacia、Sweden）を必要に応じて投与し、平均血圧を40～60mmHgに維持した。

検定：ラット群間の検定には、Student's t-testを用いた。

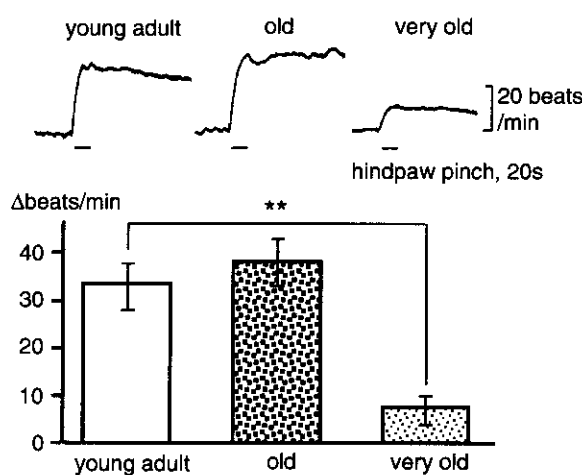


図1 後肢ピンチ刺激による心拍数増加反応の加齢変化（中枢神経無傷時）。上段：後肢ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応の典型例。下線部で20秒間刺激した。下段：心拍数増加の最大反応を成熟群（n=6）、老齢群（n=4）、超老齢群（n=5）についてまとめたグラフ。*：p<0.01，成熟ラット群との間の有意差（Student's t-testで検定した）。

C. 研究結果

中枢神経無傷時の安静時の心拍数は平均で成熟群では414±7（n=6）、老齢群では392±8（n=4）、超老齢群では423±20（n=5）beats/minであり、群間に有意差は認められなかった。成熟群に比べて超老齢群では個体差が大きい傾向があった。

後肢にピンチ刺激を20秒間加えると、刺激開始直後から心拍数が増加し始め、刺激開始20秒～60秒にかけて最大に達し、その後徐々に元の値に戻った（図1上段）。成熟群では心拍数は最大33±5beats/min増加した。この心拍数増加反応は老齢群では38±5beats/minで成熟群とほぼ同じであったが、超老齢群では7±3beats/minしか増加せず、成熟群に比べて著しく減弱していた（p<0.01）（図1下段）。同様の後肢ピンチ刺激は血圧上昇反応を誘発し、成熟群、老齢群、超老齢群でそれぞれ、26±2、29±5、19±5mmHg上昇し、この血圧上昇反応には、群間で有意差は認められなかった。

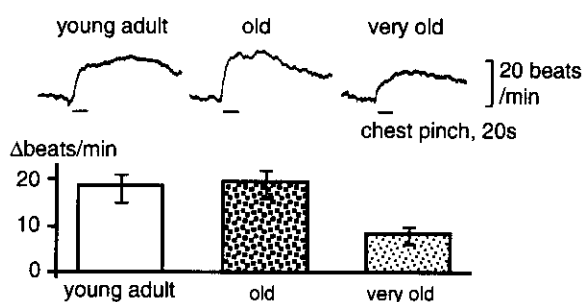


図2 胸部ピンチ刺激による心拍数増加反応の加齢変化（中枢神経無傷時）。上段：胸部ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応の典型例。下線部で20秒間刺激した。下段：心拍数増加の最大反応を成熟群（n=6）、老齢群（n=4）、超老齢群（n=5）についてまとめたグラフ。

胸部にピンチ刺激を加えると、成熟群では心拍数は $18 + 3$ beats/min 増加した。この心拍数増加反応は老齢群では $19 + 3$ 、超老齢群では $7 + 2$ beats/min であった (図2)。超老齢群は成熟群に比べて反応が小さい傾向が見られたが、統計的に有意差は認められなかった。同様の胸部ピンチ刺激は血圧上昇反応を誘発し、成熟群、老齢群、超老齢群でそれぞれ、 $2 + 2$ 、 $8 + 3$ 、 $7 + 2$ mmHg 上昇し、この血圧上昇反応は群間で有意差は認められなかった。

次に脊髄反射について調べるために、第二頸髄で急性に脊髄を切断したラットを用いて、同様の実験を行った。脊髄切断ラットにおいて安静時の心拍数は成熟群、老齢群、超老齢においてそれぞれ $330 + 9$ (n=4)、 $304 + 6$ (n=4)、 $324 + 12$ (n=4) beats/min であった。脊髄切断ラットでは、後肢のピンチ刺激はいずれの群においても有意な反応を誘発しなかった。

脊髄切断ラットにおいて胸部にピンチ刺激を加えると、中枢神経無傷ラットに比べて大きな心拍数増加反応が誘発された。成熟群では $64 + 5$ 、老齢群では $43 + 6$ 、超老齢群では $49 + 14$ beats/min であった (図3)。いずれの群間においても有意差は認められなかった。同様の胸部ピンチ刺激により血圧は、成熟群では $19 + 2$ 、老齢群では $15 + 2$ 、超老齢群では $9 + 2$ mmHg 上昇し、これらの反応は群間に有意差は認められなかった。

D. 考察

本研究により、中枢神経無傷時に後肢ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応が約3年齢の超老齢ラットにおいて減弱することが明らかになった。このとき、同じ後肢ピンチ刺激によって誘発される血圧上昇反応は超老齢ラットでもよく保たれてい

たので、後肢皮膚の侵害受容器からの入力、超老齢ラットでも良く保たれていると考えられる。また、急性脊髄ラットを用いて実験を行った結果、胸部のピンチ刺激によって誘発される脊髄性の心拍数増加反応は、超老齢ラットでも保たれていた。したがって、皮膚ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応が超老齢ラットで減弱するメカニズムには、上脊髄性における加齢変化が関与していることが示唆された。中枢神経無傷時に胸部ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応が、加齢によって有意な影響を受けないのは、この反応には上脊髄性反射と脊髄反射が混じっているためと考えられる。

心臓には交感神経と副交感神経 (迷走神経) が分布している。本研究で調べた、

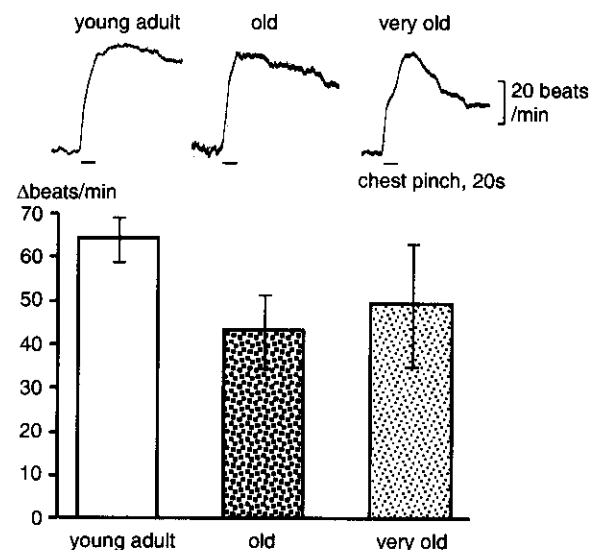


図3 胸部ピンチ刺激による心拍数増加反応の加齢変化 (急性脊髄切断時)。上段：胸部ピンチ刺激によって誘発される新派桶増加反応の典型例。下段：心拍数増加の最大反応を成熟群 (n=4)、老齢群 (n=4)、超老齢群 (n=4) についてまとめたグラフ。

侵害性刺激によって誘発される心拍数増加反応には、主に交感神経が関与しており、このとき心臓の β 受容体が働くと考えられる。心臓の β 受容体機能は加齢によって減弱することがヒトで報告されている(Lakatta, et al., 1993)。本研究でも、予備実験として β 受容体刺激薬(プロプラノロール 10ug/kg i.v.)を投与して β 受容体機能を薬理的に検討した結果、 β 受容体刺激薬投与による心拍数増加反応はラットにおいても加齢と共に減弱していることが明らかになった。しかし、中枢無傷時および脊髄切断時に胸部刺激による心拍数増加反応が超老齢ラットにおいても成熟ラットと有意な差が認められないことから、侵害刺激によって誘発される生理的な心拍数増加反応の際には、 β 受容体機能の加齢による低下は、あまり関係しないと考えられる。

E. 結論

本研究により、中枢神経無傷時には後肢ピンチ刺激による心拍数増加反応は、約2年齢の老齢ラットでは良く保たれているが、約3年齢の超老齢ラットでは有意に減弱することが明らかになった。胸部ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応は加齢により有意な変化を示さなかった。

急性脊髄切断後には、後肢ピンチ刺激は心拍数に影響を及ぼさないが、胸部ピンチ刺激は心拍数増加反応を誘発し、この反応は老齢および超老齢ラットのいずれにおいても良く保たれていることが明らかになった。

以上の事実から、中枢神経無傷時に後肢ピンチ刺激によって誘発される心拍数増加反応が超老齢ラットで減弱する機序には、上脊髄が関与していることが示唆された。

(9) F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Messlinger, K., Suzuki, A., Pawlak, M., Zehnter, A. and Schmidt, R.F. : Involvement of nitric oxide in the modulation of dural arterial blood flow in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 129, 1397-1404, 2000
- 2) Budgell, B. and Suzuki, A. : Inhibition of gastric motility by noxious chemical stimulation of interspinous tissues in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 80, 162-168, 2000
- 3) Uchida, S., Kagitani, F., Suzuki, A. and Aikawa, Y. : Effect of acupuncture-like stimulation on cortical cerebral blood flow in anesthetized rats. *Jpn. J. Physiol.*, 50, 495-507, 2000
- 4) Uchida, S., Suzuki, A., Kagitani, F. and Hotta, H. : Effects of age on cholinergic vasodilation of cortical cerebral blood vessels in rats. *Neurosci. Lett.*, 294, 109-112, 2000

2. 学会発表

- 1) 鈴木敦子、内田さえ : 体性感覚刺激が排尿中枢ニューロン活動に及ぼす効果。第77回日本生理学会大会、東京、2000.3.27-29
- 2) 内田さえ、鈴木敦子 : 麻酔ラットの大脳皮質局所血流に及ぼす鍼刺激の効果。第77回日本生理学会大会、東京、2000.3.27-29

III 研究成果の刊行に関する一覧表

1. Miki, K., Iwata, K., Tsuboi, Y., Morimoto, T., Kondo, E., Dai, Y., Ren, K. and Noguchi, K. Dorsal column-thalamic pathway is involved in thalamic hyperexcitability following peripheral nerve injury: A lesion study in rats with experimental mononeuropathy. *Pain* 85: 263-271, 2000.
 2. Kenshalo, R.D., Iwata, K., Sholas, M. and Thomas, D. A., Response properties and organization of nociceptive neurons in area 1 of monkey primary somatosensory cortex. *J. Neurophysiol.* 84: 719-729, 2000.
 3. Dai, Y., Iwata, K., Kondo, E. and Noguchi, K., A selective increase in Fos expression in the spinal dorsal horn neurons following quantitative thermal stimulation in rats with experimental mononeuropathy. *Pain* 90: 287-296 2001.
 4. Tsujino, H., Kondo, E., Fukuoka, T., Dai, Y., Tokunaga, A., Miki, K., Yonenobu, K., Ochi, T. and Noguchi, K. Activating transcription factor 3 (ATF3) induction by axotomy in sensory and motoneurons: A novel neuronal marker of nerve injury. *Mol. Cell. Neurosci.*, 15, 170-182, 2000.
 5. Kenzo Tsuzuki, Eiji Kondo, Tetsuo Fukuoka, Dai Yi, Hiroaki Tsujino, Masafumi Sakagami and Koichi Noguchi Differential regulation of P2X3 mRNA expression by peripheral nerve injury in intact and injured neurons in the rat sensory ganglia, *Pain*, In Press, 2001.
 6. Messlinger, K., Suzuki, A., Pawlak, M., Zehnter, A. and Schmidt, R.F. : Involvement of nitric oxide in the modulation of dural arterial blood flow in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 129, 1397-1404, 2000
 7. Budgell, B. and Suzuki, A. : Inhibition of gastric motility by noxious chemical stimulation of interspinous tissues in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 80, 162-168, 2000
 8. Uchida, S., Kagitani, F., Suzuki, A. and Aikawa, Y. : Effect of acupuncture-like stimulation on cortical cerebral blood flow in anesthetized rats. *Jpn. J. Physiol.*, 50, 495-507, 2000
 9. Uchida, S., Suzuki, A., Kagitani, F. and Hotta, H. : Effects of age on cholinergic vasodilation of cortical cerebral blood vessels in rats. *Neurosci. Lett.*, 294, 109-112, 2000
- その他印刷中のもの
1. Nomura, H., Ogawa, A., Tashiro, A., Morimoto, T., Hu, J. W. and Iwata, K. Induction of Fos protein-like immunoreactivity in the trigeminal spinal nucleus caudalis and upper cervical cord following noxious and non-noxious mechanical stimulation of the whisker pad of the rat with an inferior alveolar nerve transection. *Pain* (in press) 2001.
 2. Komuro, A., Morimoto, T., Iwata, K., Inoue, T., Masuda, Y., Kato, T. and Hidaka, O., Possible feed-forward control of jaw-closing muscle activity during rhythmic jaw movements in the anesthetized rabbit. *J Neurophysiol.* (in press) 2001.
 3. Kondo, E., Iwata, K., Tashiro, A., Tsuboi, Y., Fukuoka, T., Morimoto, T. and Noguchi, K. Involvement of glutamate

receptors on hyperexcitability of wide dynamic range neurons in the gracile nucleus of the rats with experimental mononeuropathy. *Pain* (in press) 2001.

4. Iwata, K., Imai, T., Tsuboi, Y., Tashiro, A., Ogawa, A., Morimoto, T. and Hu, J. Alteration of Medullary Dorsal Horn neuronal activity following inferior alveolar nerve transection in rats. *J Neurophysiol.* (in press) 2001.
5. Kanda, K., Sato, H., Kemuriyama, T. and Iwata, K. Temporal facilitation of the flexor reflex induced by C-fiber activity: Comparison between adult and aged rats. *Neurosci. Lett.* (in press).