

【総 説】

加齢に伴う侵害受容機構の変化

鈴木郁子、岩田幸一
日本大学歯学部生理学教室

キーワード：Pain, aging, descending inhibitory system, nociceptive neuron

要約

老齢ラットを用いて侵害性行動、脊髄後角（DH）および三叉神経脊髄路核尾側亜核（Vc）に分布する侵害受容ニューロン活動について解析し、成熟ラットと比較したところ、以下のような結果を得た。1）侵害的熱刺激に対する四肢のひっこめ反射が起こるまでの時間は老齢ラットにおいて有意に短かった。これに対し、熱刺激後に誘導されるリッキング行動の発現率は老齢ラットにおいて有意に少なかった。2）DHに分布する侵害受容ニューロンの安静時および侵害刺激中の活動は老齢ラットにおいて有意に高い値を示した。3）DH侵害受容ニューロン活動は脊髄ブロックにより、成熟ラットでは増大したのに対し、老齢ラットにおいては全く変化を示さなかった。4）成熟ラットでは、ナロキソン投与により活性型のVc侵害受容ニューロン数が増加したのに対し、老齢ラットにおいては変化が認められなかった。

以上から、老齢ラットにおいては下行性抑制系の機能不全が誘導され、DHおよびVcに存在する侵害受容ニューロン活動が増強し、侵害性反射が亢進した可能性が示された。

はじめに

加齢は末梢神経および中枢神経系に対し、様々な変化を誘導すると言われている [1,2,3]。加齢の運動機能への影響に関する研究結果から、運動神経線維の脱髄が老齢ラットの運動機能障害に対する原因の一つである可能性が報告された [4,5]。末梢神経線維の脱髄は、有髄神経線維における活動電位の伝導速度の低下を生じ、運動機能低下を誘導すると考えられている [6]。また、加齢によるシナプス伝達の障害も運動機能変化の一因であるとされているが、その詳細については不明である。

痛覚も加齢により強く影響されるものの一つであるとされているにもかかわらず、痛覚と加齢に関する研究は少ない。特に、加齢に伴う痛覚受容メカニズムに関して、動物実験による基礎研究はほとんどない。これまで、ヒトを対象とした心理学的研究により、加齢に伴って疼痛閾値が上昇するという報告、あるいは全く逆に低下するという報告があり、加齢と痛みの関係については一定した見解が得られておらず、その神経機構に関してはほとんど明らかにされていない。

本稿では、これまでに行ってきた加齢と疼痛に関する動物実験の結果を中心に紹介し、老化によって誘導される痛覚異常の神経機構について考察したい。

1. 老齢ラットの逃避行動

これまでの運動機能に対する老化の影響を調べた研究によると、Fisher系ラットは25ヶ月齢以後、急激に運動機能が低下するといわれ、25ヶ月齢より高齢のラットが老齢ラットとして研究に用いられることが多い [5]。そこで、我々の研究では、生後7-13ヶ月齢のFisher系ラットを成熟群、28-34ヶ月齢のラットを老齢群として研究を進めている。

まず、侵害性行動に対する老化の影響を明らかにするため、老齢および成熟ラットの後肢に侵害的熱刺激を与え逃避反応が起こるまでの時間を測定した [7]。図1Aに示したように、老齢ラットの熱刺激に対する逃避時間は成熟ラットに比べ有意に短かった。これは、老齢ラット

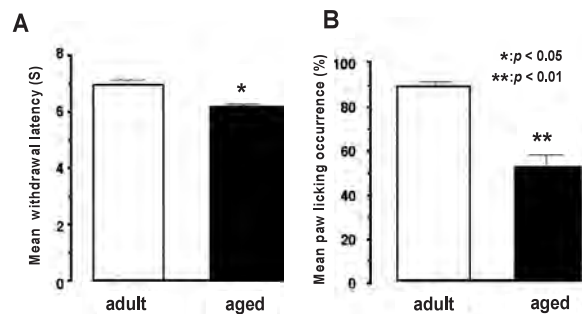


図1
老齢および成熟ラットにおける侵害熱刺激に対する逃避行動
A：後肢に熱刺激を与えてから、引っ込めるまでの時間
B：後肢に熱刺激を与えたとき、後肢のリッキングを示したラットの割合
(Iwata et al. J Neurophysiol 2002より改変)

連絡先：〒101-8310
東京都千代田区神田駿河台1-8-13
TEL: 03-3219-8112
FAX: 03-3219-8341
E-mail: iwata-k@dent.nihon-u.ac.jp

において、何らかのメカニズムで侵害反射の機能亢進が起こっている可能性があることを意味している。また、侵害刺激後のリッキング行動の誘導には大脳皮質を含む上位中枢が必要であるといわれており、リッキング行動が痛み認知の指標となる可能性があると考えられる。そこで、我々は熱刺激による後肢のリッキング発現率を成熟ラットと比較し、さらに検討を加えた。その結果、老齢ラットでは成熟ラットに比べ熱刺激によって誘導されるリッキング発現率は有意に低い値を示した (図1B)。これらの行動実験の結果から、老齢ラットは侵害刺激に対してより敏感に反応するにもかかわらず、痛みの認知機能は低下している可能性があることが示された。では何故、侵害反射が亢進され、疼痛認知機能が低下するのであろうか。この行動学実験から得られた研究結果の神経メカニズムを解明するために、脊髄後角から単一神経活動を導出し、その生理学的性質を詳細に調べた。

2. 脊髄後角侵害受容ニューロンの機能変化

老齢ラットの脊髄後角 (DH) に存在する侵害受容ニューロンの活動性変化について詳細な検討を加えた。まず、老齢ラットの脊髄後角から単一侵害受容ニューロン活動を記録し、詳細な電気生理学的検索を行った。DHから後肢の侵害刺激に反応する単一ニューロン活動を導出し、自発活動および温度刺激に対する応答特性変化について解析を行った。その結果、老齢ラットDHの侵害受容ニューロン活動は成熟ラットに比べ、有意に高い自発放電頻度および温度刺激に対する有意に強い誘発反応を示した [7]。さらに、このような老齢ラットにおけるDH侵害受容ニューロン活動の増強には、脊髄における下行性抑制系機能変化が関与する可能性が考えられる。そこで本研究では胸髄レベルで脊髄ブロックを行い腰髄侵害受容ニューロン活動の応答性変化についても解析を行った。胸髄レベルで脊髄ブロックを行うと、成熟ラットにおいては有意な熱刺激に対する応答性の増加を認めたが、老齢ラットにおいてはほとんど応答性の変化を示さなかった (図2)。この結果は、老齢ラットが下行性抑制系の機能不全を起こし、結果的にDH侵害受容ニューロン活動の増強が誘導された可能性を示している。

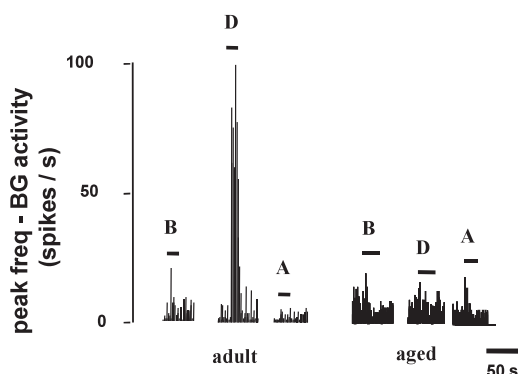


図2 脊髄ブロックによる後角侵害受容ニューロンの反応性変化
B: 脊髄ブロック前の熱刺激(48°C)に対する反応
D: 脊髄ブロック中の熱刺激に対する反応A:熱刺激5分後の反応(Iwata et al. J Neurophysiol 2002より改変)

さらに、我々は下行性抑制系に関与するセロトニンおよびノルアドレナリン合成酵素含有神経線維について免疫組織学的に検討を加えた。その結果、老齢ラットでは成熟ラットに比べ両神経線維の有意な減少が認められた [7]。以上の結果から、老齢ラットにおいて観察された脊髄後角侵害受容ニューロンの活動性増強には、下行性抑制系の機能不全およびセロトニンやノルアドレナリンの放出量減少が強く関与すると考えられる。

3. 顔面皮膚の侵害刺激によって三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) に発現するpERK陽性細胞の動態

最近、脊髄後角あるいは三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロンにおいて、MAP kinaseの一つであるextracellular signal-regulated kinase (ERK) が侵害刺激後5分以内にリン酸化され、侵害刺激によって発現したpERK陽性細胞数は刺激強度依存的に増加すると報告されている [8,9]。最近、我々の研究室で得られた結果によると、末梢組織の侵害刺激後、リン酸化ERKとFos様タンパクが延髄後角に存在する多くの細胞において共発現していた。これは、侵害刺激により細胞が活性化され、次いでERKがリン酸化されることにより、それより下流の細胞内情報伝達系の活性化が進む可能性を示している [8,9]。このことから、ERKのリン酸化は侵害刺激により活性化されたニューロンの指標として有用であると考えられている。そこで、pERKをニューロン活性化のマーカーとし、加齢に伴う侵害情報伝達機構の変化について免疫組織学的手法を用いて検討した。

我々は老齢および成熟ラットの口髭部へのカプサイシン注入によりVcに認められるpERK陽性細胞について解析を行った [10]。その結果、pERK陽性細胞はVc領域の表層に限局して認められ、その発現数は老齢ラットの方が成熟ラットに比べ、わずかに多い傾向を示した (図3A、BおよびE)。さらに、下行性抑制系を活性化させるオピオイド拮抗薬であるナロキソン投与の影響について検討した。ナロキソン投与により、成熟ラットにおいては

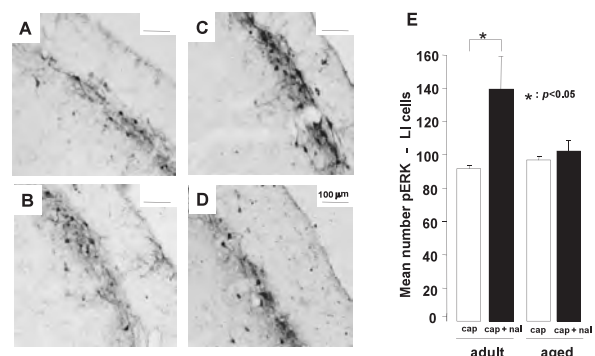


図3 老齢および成熟ラットの口髭部へのカプサイシン刺激により、三叉神経脊髄路核尾側亜核内に認められたpERK陽性細胞 (A: 成熟ラット, B: 老齢ラット) および、ナロキソン静注後に口髭部にカプサイシン刺激したときに認められたpERK陽性細胞 (C: 成熟ラット, D: 老齢ラット) の組織標本写真とpERK陽性細胞数のグラフ (E)
cap: カプサイシン刺激, cap+nal: ナロキソン静注後にカプサイシン刺激 (Suzukiet al. Neurosci Lett 2009より改変)

非ナロキソン投与群と比較し、カプサイシン刺激によって発現したpERK陽性細胞数に有意な増加がみられた。これに対し、老齢ラットにおいてはpERK陽性細胞数に変化はみられなかった(図3C,DおよびD)。この結果は、脊髄ブロックを行っても老齢ラットにおいてはニューロンの応答性に変化は認められなかったという、これまでの研究結果とよく一致しており、老齢ラットにおいては下行性抑制系の機能不全が誘導されている可能性が強く示唆された [7]。

まとめ

これまでの加齢と痛みに関する研究は、ほとんどがヒトを対象としたもので実験動物を用いた基礎研究は非常に少ない。我々の研究結果は、老齢ラットにおいて下行性抑制系が機能不全を起し、それが老化に伴って発症する異常な侵害反射亢進の原因となる可能性を示した。

高齢化が進む日本において、加齢に伴う痛みの受容機構の変化を解明することは、高齢者のQOLの維持につながる重要な研究テーマであり、さらなる研究の推進が望まれる。

参考文献

1. Hayflick L. How and why we age. *Exp Gerontol* 33:639-653, 1998.
2. Janssens JP, Pache JC, Nicod LP. Physiological changes in respiratory function associated with ageing. *Eur Respir J* 13: 197-205, 1999
3. Ribera-Casado JM. Ageing and the cardiovascular system. *Z Gerontol Geriatr* 32: 412-419, 1999
4. Kanda K, Hashizume K. Effects of long-term physical exercise on age-related changes of spinal motoneurons and peripheral nerves in rats. *Neurosci Res* 31:69-75, 1998.
5. Sugiura M, Kanda K. Progress of age-related changes in properties of motor units in the gastrocnemius muscle of rats. *J Neurophysiol* 92:1357-1365, 2004.
6. Kanda K, Hashizume K. Changes in properties of the medial gastrocnemius motor units in aging rats. *J Neurophysiol* 61:737-746, 1989.
7. Iwata K, Fukuoka T, Kondo E, Tsuboi Y, Tashiro A, Noguchi K, Masuda Y, Morimoto T, Kanda K. Plastic changes in nociceptive transmission of the rat spinal cord with advancing age. *J Neurophysiol* 87:1086-1093, 2002.
8. Shimizu K, Asano M, Kitagawa J, Ogiso B, Ren K, Oki H, Matsumoto M, Iwata K. Phosphorylation of Extracellular Signal-Regulated Kinase in medullary and upper cervical cord

neurons following noxious tooth pulp stimulation. *Brain Res* 1072:99-109, 2006.

9. Noma N, Tsuboi Y, Kondo M, Matsumoto M, Sessle BJ, Kitagawa J, Saito K, Iwata K. Organization of pERK-immunoreactive cells in trigeminal spinal nucleus caudalis and upper cervical cord following capsaicin injection into oral and craniofacial regions in rats. *J Comp Neurol* 20: 1428-1440, 2008.
10. Suzuki I, Kitagawa J, Noma N, Tsuboi Y, Kondo M, Honda K, Kanda K, Hasegawa M, Saito K, Okamoto R, Iwata K. Attenuation of naloxone-induced Vc pERK hyper-expression following capsaicin stimulation of the face in aged rat. *Neurosci Lett* 442:39-43, 2008.

“Change in nociceptive mechanisms during advancing age

Ikuko Suzuki, Ph. D, Koichi Iwata, , D. D. S., Ph. D.

Department of Physiology, School of Dentistry, Nihon University
1-8-13 Kandasurugadai, Chiyoda-ku Tokyo 101-8310, Japan

Summary

Although a few animal studies have reported the effect of aging on pain pathways, the neuronal mechanisms of pain sensation with advancing age are not well understood. Therefore, we have studied the nocifensive behavior, dorsal horn (DH) and trigeminal spinal subnucleus caudalis (Vc) nociceptive neuronal activities in aged rats to evaluate the change in neuronal mechanisms with advancing age. Our data were summarized as follows: 1) The paw withdrawal latency to heat stimulation of the hind paw was significantly shorter in aged rats compared to adult rats, whereas the occurrence of the paw licking behavior was significantly higher in adult rats compared to aged rats. 2) The DH nociceptive neuronal activities were significantly higher in aged rats compared to adult. 3) The spinal block caused an enhancement of DH nociceptive neuronal excitability in adult rats but not in aged. 4) The Vc neuronal activity increased after naloxone administration in adult rats but not in aged.

These findings suggest that an impairment of the descending inhibitory system in aged rats causes an enhancement of the DH and Vc nociceptive neuronal activities, resulting in an enhancement of noxious reflex during advancing age.