

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07003

研究課題名(和文) オプトジェネティクスを用いた新生児ラット呼吸中枢の解析

研究課題名(英文) Analysis of respiratory center in newborn rat by optogenetics

研究代表者

鬼丸 洋 (Onimaru, Hiroshi)

昭和大学・医学部・客員教授

研究者番号：30177258

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：Phox2b遺伝子の発現制御領域下に光感受性イオンチャンネル；チャンネルロドプシン(ChRFR)またはアーキロドプシン(Arch)を発現させたトランスジェニックラットからの抽出脳幹-脊髄標本を用いて、延髄呼吸中枢神経回路の動作特性を解析した。光刺激は、Arch発現ラットでは呼吸リズムの抑制を、ChRFR発現ラットでは促進を引き起こした。この時Phox2b発現Pre-Iニューロンは、Arch発現ラットでは過分極を、またChRFR発現ラットでは脱分極を示した。Phox2b陰性呼吸性ニューロンの応答は、Pre-Iニューロンとのシナプス結合様式に依存した。結果より呼吸中枢神経回路のモデルを構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、非スライスin vitro 脳標本である新生児ラット脳幹-脊髄標本を用いた。これはオプトジェネティクスによる呼吸中枢神経回路の解析としては世界で初めての試みとなった。抽出脳幹標本は、Cre-loxP システムを用いた遺伝子組み換えによって、Phox2b 遺伝子の発現制御領域下に光感受性チャンネル(アーキロドプシンおよびチャンネルロドプシン)を発現させた新生児ラット(生後0-2日)から抽出した。光感受性チャンネルを選択的に光刺激することによって引き起こされる呼吸リズムの変化、呼吸性ニューロンの膜電位変化などを詳細に解析することで、呼吸中枢の神経回路の動作特性が明瞭に示すことができた。

研究成果の概要(英文)：We developed a transgenic (Tg) rat line in which Phox2b-positive cells expressed archaerhodopsin-3 (Arch) or the step-function channelrhodopsin variants (ChRFR) under the control of Phox2b promoter-enhancer regions. We analyzed a local neuron network of the respiratory center in the medulla of a brainstem-spinal cord preparation isolated from 0-2-day-old Tg rat. The photostimulation induced inhibition or facilitation of the respiratory rhythm in Arch-expressing or ChRFR-expressing Tg rats, respectively. Phox2b-positive Pre-I neurons were hyperpolarized or depolarized in Arch-expressing or ChRFR-expressing Tg rat preparations, respectively. The photostimulation induced heterogeneous membrane potential changes of other respiratory-related neurons, depending on properties of synaptic connections (especially between Pre-I neurons) in the respiratory center. The optogenetic approach was a powerful method of verifying a hypothetical model of local networks among respiratory-related neurons.

研究分野：神経生理学

キーワード：Phox2b 呼吸リズム トランスジェニックラット オプトジェネティクス チャンネルロドプシン アーキロドプシン

1. 研究開始当初の背景

Phox2b 遺伝子は、脳幹部自律神経ネットワークの発生に不可欠な遺伝子であり、転写因子をコードしている(Dauger et al., 2003). Phox2b 遺伝子の変異は、ヒトでは先天性中枢性肺胞低換気症候群(CCHS)の患者に高率に認められることが報告されている(Amiel et al., 2003). 申請者らは新生ラット吻側腹外側延髄において Phox2b 遺伝子を発現している細胞は、1) 血液中の CO₂ を感知する中枢化学受容器細胞そのものであること、2) 少なくともその一部は傍顔面神経グループ(pFRG)の呼吸リズム形成ニューロン(Pre-I ニューロン)でもあることを明らかにした(Onimaru and Homma, 2003; Onimaru et al., 2008, 2009, 2012ab; Stornetta et al., 2006). こうして、pFRG/Pre-I ニューロンが特に新生児期においては、呼吸リズム形成だけでなく中枢化学受容にも直接関わることで、生後の生存に不可欠であることがわかった. さらに吻側 pFRG においては Pre-I ニューロンのほぼ 100% が Phox2b 遺伝子を発現しており、Phox2b 遺伝子は、pFRG/Pre-I ニューロンの最も特異的な遺伝子マーカーであることが明らかになった(Onimaru et al., 2014; Ikeda et al., 2017; Onimaru et al., 2018). 一方で、Phox2b 遺伝子を発現していない尾側 pFRG の Pre-I ニューロンの役割、吸息性活動をトリガーする神経機構の詳細、呼息性神経活動との関連など、解明されるべき問題も多い.

2. 研究の目的

本研究の目的は、光遺伝学的アプローチを用いて、特に呼吸リズム形成の中心として働くニューロン群の決定、吸息性活動及び呼息性活動の発生の神経機構など、呼吸中枢ニューロンネットワークの動作特性の詳細を明らかにすることにあつた. このために、Phox2b 発現細胞に光感受性イオンチャンネル(興奮性のチャンネルロドプシンまたは抑制性のアーキロドプシン)を発現させたトランスジェニック(Tg)ラットの摘出脳幹-脊髄標本を用いて、延髄呼吸性ニューロンからホールセルパッチクランプ法により膜電位を記録し、延髄局所の光刺激によってニューロンのバースト形成及び呼吸出力がどのように変化するかを詳細に解析した.

Phox2b 陽性ニューロンは脳幹部の自律神経機能を考えるときの鍵(キー)ニューロンである. 新生児ラット及びマウスでは、Phox2b 陽性細胞は、中枢化学受容器としてのみならず、呼吸リズム形成にも直接関わっており、生後の生存に不可欠な役割を果たしている(Dubreuil et al., 2008; Onimaru et al., 2008). 連携研究者(池田啓子)を中心に、申請者らは、Phox2b 遺伝子が Pre-I ニューロンの極めて特異的な遺伝子マーカーであることを利用して、Phox2b 遺伝子の発現制御領域下に蛍光タンパク質(EYFP)を発現する Tg ラットを世界で初めて作成した(Ikeda et al., 2015; Ikeda et al., 2017). マウスではなくラットを使用する理由は、呼吸リズム形成の基本的神経機構についてはラットを用いた研究が多いこと、マウスでは系統によって呼吸中枢の動作が非常に異なること、将来 *in vivo* 解析を行うときにラットのほうが有利であることなどである. 本研究では、これまで多くの研究実績がある非スライス *in vitro* 脳標本である脳幹-脊髄標本を用いるが、これはオプトジェネティクスによる呼吸中枢神経回路の解析としては世界で初めての試みとなった. 摘出脳幹標本は、Cre-loxP システムを用いた遺伝子組み換えによって、Phox2b 遺伝子の発現制御領域下に光感受性チャンネル(アーキロドプシンおよびチャンネルロドプシン)を発現させた新生児ラットから摘出した(Igarashi et al., 2016; Igarashi et al., 2018). これらの光感受性チャンネルを選択的に光刺激することによって引き起こされる呼吸リズムの変化、呼吸性ニューロンの膜電位変化などを詳細に解析することで、呼吸中枢の神経回路の動作特性の明瞭な理解を目指した.

3. 研究の方法

本研究では、新生児ラット摘出脳幹-脊髄標本を用いて呼吸中枢神経回路の解析を行った. Phox2b 陽性細胞に光感受性チャンネルを発現させるために、Phox2b のエンハンサー・プロモーター制御下に Cre を発現する系統と loxP-光感受性チャンネル遺伝子-GFP を持つ系統のラットを維持し、掛け合わせによって目的の新生児ラットを得た.

[ラットの系統]

Phox2b_{tTA}-2A-Cre Rec BAC トランスジェニックラット
CAG-loxP-Stop-loxP-Arch/Rosa BAC トランスジェニックラット
CAG-loxP-Stop-loxP-ChRFR BAC トランスジェニックラット

上記のラットの系統を維持し、とあるいはとのかけ合わせによって生まれて

くる新生児 Tg ラットから、アーキロドプシン (Arch) あるいはチャンネルロドプシン (ChRFR) が発現したものを実験に用いた。

[電気生理学的解析及び光活性化実験] 新生児ラット(0 - 2日齢)から脳幹及び脊髄を摘出し実験槽におき、95%O₂, 5%CO₂で飽和した人工脳脊髄液(ACSF)(25-26°C)で灌流した。呼吸活動はガラス吸引電極を用いて、第4または第5頸髄前根(C4/C5)から吸息性の運動神経活動を記録することでモニターした。ホールセル記録法を用いて、通常、延髄腹側表面からのアプローチにより呼吸性ニューロンの膜電位を記録した(Onimaru and Homma, 1992)。延髄最吻側腹側 - 腹側表層部のニューロン(吻側pFRGニューロン)を記録する場合には、標本を下小脳動脈のレベルで脳スライサーを用いて切断し、切断面を上にして標本を実験槽に置き、切断面からニューロンを記録した。生理活性物質などは、ACSFに溶かして、灌流投与した。記録したニューロンの位置、形態などは、ルシファーイエローまたはニューロピオチンを用いてニューロンを標識し、実験終了後に確定した。同時に、他の免疫組織化学的な解析を行い、記録ニューロンの細胞特性を調べた。Arch発現細胞への光刺激は、先端の直径が1mmの光ファイバーを通して、目的の場所に緑色レーザー光を照射することで行った。ChRFR発現細胞への光刺激は、先端の直径が0.2mmの光ファイバーを通して、目的の場所に青色LED光を照射することで行った。

4. 研究成果

Phox2b_{tTA}-2A-Cre Rec BAC トランスジェニックラット()とCAG-loxP-Stop-loxP-Arch/Rosa BAC トランスジェニックラット()の掛け合わせによって生まれてくる新生児ラットから、Archを発現しているものを選び、その特異的発現を調べた。Archの発現の特異性については、オス×メスの組み合わせと、逆の組み合わせで、異なる結果が得られた。前者の組み合わせでは、Archが非特異的に発現した。理由は今のところ不明である。逆の組み合わせでは、Archの発現はPhox2b陽性ニューロンに特異的であった。この傾向は、ChRFRの場合(すなわち ×)にもあてはまった。従って、実験にはメス×オスまたはメス×オスの組み合わせで生まれてくる新生児ラットを使用した。

Arch発現陽性新生児から摘出した脳幹 - 脊髄標本では、吻側腹外側延髄への緑色レーザー光の照射によって、呼吸リズムは抑制あるいは完全に停止した。また、Pre-Iニューロンの膜電位の過分極方向へのシフトが、光刺激によって引き起こされた(Ikeda et al., 2019a)。

ChRFR発現陽性新生児ラットから摘出した脳幹 - 脊髄標本では、吻側腹外側延髄への青色LED光を照射によって、呼吸リズムは3倍以上まで促進した。さらに吻側腹外側延髄に短時間の光刺激(0.5-1s)を行うことによって、呼吸リズムがリセットされた。光刺激にตอบสนองして、ChRFRを発現しているPhox2b陽性Pre-Iニューロン、ChRFR陰性(Phox2b陰性)のPre-Iニューロン、およびChRFRを発現している吸息性ニューロンは、10mV前後の脱分極を示した。一方、ChRFR陰性(Phox2b陰性)の吸息性ニューロンの光刺激に対する膜電位変化は、ニューロンのサブタイプによって異なった：タイプI(Pre-IからEPSPを受けるもの)は2mV前後の脱分極、タイプII(Pre-IからEPSPもIPSPも受けないもの)は変化なし、タイプIII(Pre-IからIPSPを受けるもの)は-2mV前後の過分極を示した。また、呼息性ニューロン(ChRFR陰性)のうち、Pre-I及び吸息性ニューロンから抑制を受けるタイプは、約-6mVの過分極を示した。さらにTTX存在下では、ニューロンのサブタイプに依らず、ChRFR発現ニューロンは、光刺激にตอบสนองして9mV前後の脱分極を示したが、ChRFR陰性ニューロンは膜電位変化を示さなかった(Ikeda et al., 2019b)。

本研究では、これまで多くの研究実績がある非スライス *in vitro* 脳標本である脳幹 - 脊髄標本を用いたが、これはオプトジェネティクスによる詳細な呼吸中枢神経回路を解析するための最も適した標本であり、世界で初めての試みとなった。脳幹 - 脊髄標本は、Cre-loxPシステムを用いた遺伝子組み換えによって、Phox2b遺伝子の発現制御領域下に光感受性チャンネル(ArchまたはChRFR)を発現させた新生児ラットから摘出した。この光感受性チャンネルを選択的に光刺激することによって、呼吸リズムの抑制または促進、呼吸性ニューロンの膜の過分極または脱分極などが引き起こされることが確認された。さらにPre-Iニューロンでは、チャンネルロドプシンを発現しているかどうかに関わらず、有意な脱分極を示したが、吸息性ニューロンでは、チャンネルロドプシンを発現していない細胞では光刺激に対する応答は、Pre-Iニューロンとのシナプス結合のタイプに基づいて分類されるサブグループで異なった。これらの結果に基づいて、呼吸中枢のニューロンネットワークモデルを構築した(図1)(Ikeda et al., 2019b)。

参考文献

- Amiel J, Laudier B, Attie-Bitach T, Trang H, de Pontual L, Gener B, Trochet D, Etchevers H, Ray P, Simonneau M, Vekemans M, Munnich A, Gaultier C, Lyonnet S (2003) Polyalanine expansion and frameshift mutations of the paired-like homeobox gene PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome. *Nat Genet* 33:459-461.
- Dauger S, Pattyn A, Lofaso F, Gaultier C, Goridis C, Gallego J, Brunet JF (2003) Phox2b controls the development of peripheral chemoreceptors and afferent visceral pathways. *Development* 130:6635-6642.
- Dubreuil V, Ramanantsoa N, Trochet D, Vaubourg V, Amiel J, Gallego J, Brunet JF, Goridis C (2008) A human mutation in Phox2b causes lack of CO₂ chemosensitivity, fatal central apnea, and specific loss of parafacial neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:1067-1072.
- Igarashi H, Koizumi K, Kaneko R, Ikeda K, Egawa R, Yanagawa Y, Muramatsu S, Onimaru H, Ishizuka T, Yawo H (2016) A novel reporter rat strain that conditionally expresses the bright red fluorescent protein tdTomato. *PLoS One* 11:e0155687.
- Igarashi H, Ikeda K, Onimaru H, Kaneko R, Koizumi K, Beppu K, Nishizawa K, Takahashi Y, Kato F, Matsui K, Kobayashi K, Yanagawa Y, Muramatsu SI, Ishizuka T, Yawo H (2018) Targeted expression of step-function opsins in transgenic rats for optogenetic studies. *Sci Rep* 8:5435.
- Ikeda K, Kaneko R, Yanagawa Y, Ogawa M, Kobayashi K, Arata S, Kawakami K, Onimaru H (2019a) Analysis of the neuronal network of the medullary respiratory center in transgenic rats expressing archaerhodopsin-3 in Phox2b-expressing cells. *Brain Res Bull* 144:39-45.
- Ikeda K, Igarashi H, Yawo H, Kobayashi K, Arata S, Kawakami K, Izumizaki M, Onimaru H (2019b) Optogenetic analysis of respiratory neuronal networks in the ventral medulla of neonatal rats producing channelrhodopsin in Phox2b-positive cells. *Pflugers Arch* 471:1419-1439.
- Ikeda K, Kawakami K, Onimaru H, Okada Y, Yokota S, Koshiya N, Oku Y, Iizuka M, Koizumi H (2017) The respiratory control mechanisms in the brainstem and spinal cord: integrative views of the neuroanatomy and neurophysiology. *J Physiol Sci* 67:45-62.
- Ikeda K, Takahashi M, Sato S, Igarashi H, Ishizuka T, Yawo H, Arata S, Southard-Smith EM, Kawakami K, Onimaru H (2015) A Phox2b BAC transgenic rat line useful for understanding respiratory rhythm generator neural circuitry. *PLoS One* 10:e0132475.
- Onimaru H, Homma I (1992) Whole cell recordings from respiratory neurons in the medulla of brainstem-spinal cord preparations isolated from newborn rats. *Pflugers Arch* 420:399-406.
- Onimaru H, Homma I (2003) A novel functional neuron group for respiratory rhythm generation in the ventral medulla. *J Neurosci* 23:1478-1486.
- Onimaru H, Ikeda K, Kawakami K (2008) CO₂-sensitive preinspiratory neurons of the parafacial respiratory group express Phox2b in the neonatal rat. *J Neurosci* 28:12845-12850.
- Onimaru H, Ikeda K, Kawakami K (2009) Phox2b, RTN/pFRG neurons and respiratory rhythmogenesis. *Respir Physiol Neurobiol* 168:13-18.
- Onimaru H, Ikeda K, Kawakami K (2012a) Postsynaptic mechanisms of CO₂ responses in parafacial respiratory neurons of newborn rats. *J Physiol* 590:1615-1624.
- Onimaru H, Ikeda K, Kawakami K (2012b) Relationship between the distribution of the paired-like homeobox gene (Phox2b) expressing cells and blood vessels in the parafacial region of the ventral medulla of neonatal rats. *Neuroscience* 212:131-139.
- Onimaru H, Ikeda K, Mariho T, Kawakami K (2014) Cytoarchitecture and CO₂ sensitivity of Phox2b-positive Parafacial neurons in the newborn rat medulla. *Prog Brain Res* 209:57-71.
- Onimaru H, Nakamura S, Ikeda K, Kawakami K, Inoue T (2018) Confocal calcium imaging analysis of respiratory-related burst activity in the parafacial region. *Brain Res Bull* 139:16-20.
- Stornetta RL, Moreira TS, Takakura AC, Kang BJ, Chang DA, West GH, Brunet JF, Mulkey DK, Bayliss DA, Guyenet PG (2006) Expression of Phox2b by brainstem neurons involved in chemosensory integration in the adult rat. *J Neurosci* 26:10305-10314.

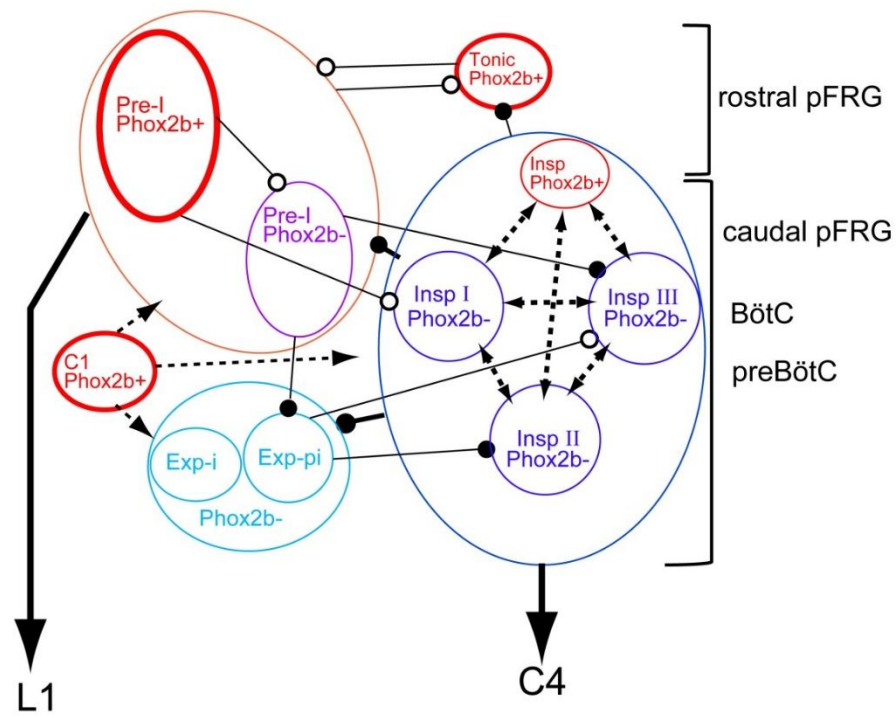


図1 . 新生児ラット摘出脳幹 - 脊髄標本における延髄呼吸中枢のネットワークモデル (Ikeda et al., 2019)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計30件（うち査読付論文 30件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Oshima N, Onimaru H, Yamagata A, Ito S, Imakiire T, Kumagai H.	4. 巻 224
2. 論文標題 Rostral ventrolateral medulla neuron activity is suppressed by Klotho and stimulated by FGF23 in newborn Wistar rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auton Neurosci.	6. 最初と最後の頁 102640
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.autneu.2020.102640	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ikeda K, Igarashi H, Yawo H, Kobayashi K, Arata S, Kawakami K, Izumizaki M, Onimaru H.	4. 巻 471
2. 論文標題 Optogenetic analysis of respiratory neuronal networks in the ventral medulla of neonatal rats producing channelrhodopsin in Phox2b-positive cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pflugers Arch	6. 最初と最後の頁 1419-1439
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00424-019-02317-9	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 Ikeda K, Onimaru H, Inada H, Tien Lin S, Arata S, Osumi N.	4. 巻 152
2. 論文標題 Structural and functional defects of the respiratory neural system in the medulla and spinal cord of Pax6 mutant rats.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Res Bull	6. 最初と最後の頁 107-116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainresbull.2019.07.007	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 Ikeda K, Onimaru H, Matsuura T, Kawakami K.	4. 巻 1720
2. 論文標題 Different impacts on brain function depending on the mode of delivery.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Res	6. 最初と最後の頁 146289
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2019.06.008	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 Kotani S, Yazawa I, Onimaru H, Izumizaki M.	4. 巻 155
2. 論文標題 An aromatic substance, eugenol induces distinct depressant effects on respiratory activity in different postnatal developmental stages of the rat.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurosci Res	6. 最初と最後の頁 20-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2019.06.001	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 Iigaya K, Minoura Y, Onimaru H, Kotani S, Izumizaki M.	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of Feeding-Related Peptides on Neuronal Oscillation in the Ventromedial Hypothalamus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 E292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8030292.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iigaya K, Minoura Y, Onimaru H, Kotani S, Izumizaki M	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of Feeding-Related Peptides on Neuronal Oscillation in the Ventromedial Hypothalamus.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Med.	6. 最初と最後の頁 E292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8030292.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oka A, Iizuka M, Onimaru H, Izumizaki M.	4. 巻 397
2. 論文標題 Inhibitory Thoracic Interneurons are not Essential to Generate the Rostro-caudal Gradient of the Thoracic Inspiratory Motor Activity in Neonatal Rat.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2018.11.037	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 Ikeda K, Kaneko R, Yanagawa Y, Ogawa M, Kobayashi K, Arata S, Kawakami K, Onimaru H.	4. 巻 144
2. 論文標題 Analysis of the neuronal network of the medullary respiratory center in transgenic rats expressing archaerhodopsin-3 in Phox2b-expressing cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Res Bull.	6. 最初と最後の頁 39-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainresbull.2018.11.005	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 Iizuka M, Ikeda K, Onimaru H, Izumizaki M.	4. 巻 4
2. 論文標題 Expressions of VGLUT1/2 in the inspiratory interneurons and GAD65/67 in the inspiratory Renshaw cells in the neonatal rat upper thoracic spinal cord.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 IBRO Rep.	6. 最初と最後の頁 24-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ibror.2018.08.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bautista TG, Fong AY, Pilowsky PM, Ikeda K, Kawakami K, Spirovski D, Onimaru H.	4. 巻 384
2. 論文標題 The Expression of Galanin in the Parafacial Respiratory Group and its Effects on Respiration in Neonatal Rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2018.05.009	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 Igarashi H, Ikeda K, Onimaru H, Kaneko R, Koizumi K, Beppu K, Nishizawa K, Takahashi Y, Kato F, Matsui K, Kobayashi K, Yanagawa Y, Muramatsu SI, Ishizuka T, Yawo H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Targeted expression of step-function opsins in transgenic rats for optogenetic studies.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 5435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-23810-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onimaru H, Nakamura S, Ikeda K, Kawakami K, Inoue T.	4. 巻 139
2. 論文標題 Confocal calcium imaging analysis of respiratory-related burst activity in the parafacial region.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Brain Res Bull.	6. 最初と最後の頁 16-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 0.1016/j.brainresbull.2018.01.013.	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 Igarashi H, Ikeda K, Onimaru H, Kaneko R, Koizumi K, Beppu K, Nishizawa K, Takahashi Y, Kato F, Matsui K, Kobayashi K, Yanagawa Y, Muramatsu SI, Ishizuka T, Yawo H.	4. 巻 3
2. 論文標題 Targeted expression of step-function opsins in transgenic rats for optogenetic studies.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 5435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41598-018-23810-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oshima N, Onimaru H, Yamagata A, Itoh S, Matsubara H, Imakiire T, Nishida Y, Kumagai H.	4. 巻 314
2. 論文標題 Erythropoietin, a putative neurotransmitter during hypoxia, is produced in RVLM neurons and activates them in neonatal Wistar rats.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol	6. 最初と最後の頁 R700-R708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00455.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onimaru H, Nakamura S, Ikeda K, Kawakami K, Inoue T.	4. 巻 139
2. 論文標題 Confocal calcium imaging analysis of respiratory-related burst activity in the parafacial region.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Brain Res Bull.	6. 最初と最後の頁 16-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainresbull.2018.01.013	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 Kotani S, Irie S, Izumizaki M, Onimaru H.	4. 巻 470
2. 論文標題 Effects of eugenol on respiratory burst generation in newborn rat brainstem-spinal cord preparations.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pflugers Arch.	6. 最初と最後の頁 385-394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-017-2074-z	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 Lin ST, Ohbayashi M, Yamamoto T, Onimaru H, Kogo M.	4. 巻 125
2. 論文標題 Effects of riluzole on spinal seizure-like activity in the brainstem-spinal cord preparation of newborn rat.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 46-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2017.07.002	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 Oyama Y, Iigaya K, Minoura Y, Okabe T, Izumizaki M, Onimaru H.	4. 巻 67
2. 論文標題 An in vitro experimental model for analysis of central control of sympathetic nerve activity.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Physiol Sci.	6. 最初と最後の頁 629-635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-017-0549-5.	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 Nagoya K, Nakamura S, Ikeda K, Onimaru H, Yoshida A, Nakayama K, Mochizuki A, Kiyomoto M, Sato F, Kawakami K, Takahashi K, Inoue T.	4. 巻 358
2. 論文標題 Distinctive features of Phox2b-expressing neurons in the rat reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 211-226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) org/10.1016/j.neuroscience.2017.06.035	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 Ikeda K, Onimaru H, Kawakami K.	4. 巻 1666
2. 論文標題 Knockout of sodium pump 3 subunit gene (Atp1a3-/-) results in perinatal seizure and defective respiratory rhythm generation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain Res.	6. 最初と最後の頁 27-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainres.2017.04.014.	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 Oshima N, Onimaru H, Matsubara H, Uchida T, Watanabe A, Imakiire T, Nishida Y, Kumagai H.	4. 巻 344
2. 論文標題 Direct effects of glucose, insulin, GLP-1, and GIP on bulbospinal neurons in the rostral ventrolateral medulla in neonatal wistar rats.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 74-88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2016.12.039.	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 Kamon Iigayaa, Shuntaro Okazaki, Yoshino Minoura, Hiroshi Onimaru,	4. 巻 343
2. 論文標題 Interaction between novel oscillation within the ventromedial hypothalamus and the sympathetic nervous system	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 213-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) org/10.1016/j.neuroscience.2016.11.048	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 Tani M, Kotani S, Hayakawa C, Lin ST, Irie S, Ikeda K, Kawakami K, Onimaru H.	4. 巻 469
2. 論文標題 Effects of a TRPV1 agonist capsaicin on respiratory rhythm generation in brainstem-spinal cord preparation from newborn rats.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pflugers Arch.	6. 最初と最後の頁 327-338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-016-1912-8.	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 Ikeda K, Kawakami K, Onimaru H, Okada Y, Yokota S, Koshiya N, Oku Y, Iizuka M, Koizumi H.	4. 巻 67
2. 論文標題 The respiratory control mechanisms in the brainstem and spinal cord: integrative views of the neuroanatomy and neurophysiology.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Physiol Sci.	6. 最初と最後の頁 45-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-016-0475-y	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 Kamon Iigayaa, Shuntaro Okazaki, Yoshino Minoura, Hiroshi Onimaru	4. 巻 343
2. 論文標題 Interaction between novel oscillation within the ventromedial hypothalamus and the sympathetic nervous system	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 213-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.neuroscience	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 Tani M, Kotani S, Hayakawa C, Lin ST, Irie S, Ikeda K, Kawakami K, Onimaru H	4. 巻 469
2. 論文標題 Effects of a TRPV1 agonist capsaicin on respiratory rhythm generation in brainstem-spinal cord preparation from newborn rats.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pflugers Arch	6. 最初と最後の頁 327-338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00424-016-1912-8	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 Ikeda K, Kawakami K, Onimaru H, Okada Y, Yokota S, Koshiya N, Oku Y, Iizuka M, Koizumi H.	4. 巻 67
2. 論文標題 The respiratory control mechanisms in the brainstem and spinal cord: integrative views of the neuroanatomy and neurophysiology	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Physiol Sci	6. 最初と最後の頁 45-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-016-0475-y	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 Igarashi H, Koizumi K, Kaneko R, Ikeda K, Egawa R, Yanagawa Y, Muramatsu S, Onimaru H, Ishizuka T, Yawo H.	4. 巻 11
2. 論文標題 A Novel Reporter Rat Strain That Conditionally Expresses the Bright Red Fluorescent Protein tdTomato.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0155687
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0155687	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi K, Hayakawa C, Onimaru H	4. 巻 619
2. 論文標題 Effects of a quaternary lidocaine derivative, QX-314, on the respiratory activity in brainstem-spinal cord preparation from newborn rats	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 121 - 125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet	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22件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Keiko Ikeda, Hiroshi Onimaru, Kiyoshi Kawakami
2. 発表標題 Vaginal delivery is a strong adaptation signal to start spontaneous breathing
3. 学会等名 FAOPS (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Hiroyuki Igarashi, Hiromu Yawo, Kazuto Kobayashi, Satoru Arata, Kiyoshi Kawakami, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Responses to hypercapnia and hypoxia of Phox2b-positive cells in the ventral medulla of newborn rats
3. 学会等名 FAOPS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Hiroyuki Igarashi, Hiromu Yawo, Kazuto Kobayashi, Satoru Arata, Kiyoshi Kawakami, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Optogenetic analysis of the respiratory center neuron networks of transgenic neonatal rats that produce channelrhodopsin in Phox2b-positive cells
3. 学会等名 第42回日本神経科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Hiroyuki Igarashi, Hiromu Yawo, Kazuto Kobayashi, Satoru Arata, Kiyoshi Kawakami, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Responses to hypercapnia and hypoxia of neurons in the cardio-respiratory center of the ventral medulla of newborn rats
3. 学会等名 10th IBRO (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Hiroyuki Igarashi, Hiromu Yawo, Kazuto Kobayashi, Satoru Arata, Kiyoshi Kawakami, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Responses to hypercapnia and hypoxia of Phox2b-positive cells in the ventral medulla of newborn rats
3. 学会等名 FAOPS2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keiko Ikeda, Hiroshi Onimaru, Kiyoshi Kawakami
2. 発表標題 Vaginal delivery is a strong adaptation signal to start spontaneous breathing
3. 学会等名 FAOPS2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鬼丸 洋
2. 発表標題 呼吸中枢の神経機構と中枢化学受容器
3. 学会等名 第41回日本呼吸療法医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Shiro Nakamura, Keiko Ikeda, Kiyoshi Kawakami, Tomio Inoue
2. 発表標題 Imaging analysis of respiratory-related burst activity in the parafacial region of newborn rat
3. 学会等名 FENS（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Sayumi Kotani, Saki Yagura, Shih Tien Lin, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Respiratory rhythm generation under the reduced mutual excitatory synaptic connections
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Hiroyuki Igarashi, Hiromu Yawo, Kazuto Kobayashi, Satoru Arata, Kiyoshi Kawakami
2. 発表標題 Optogenetic analysis of neuronal mechanisms of respiratory rhythm generation in transgenic rats expressing channelrhodopsin in Phox2b-positive cells
3. 学会等名 第41回日本神経科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鬼丸 洋
2. 発表標題 呼吸のホメオスタシス---呼吸リズム形成と化学受容
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Oyama, H. Onimaru, K. Iigaya, Y. Minoura
2. 発表標題 Angiotensin II enhanced peripheral sympathetic nerve activity in the brainstem-spinal cord preparation from newborn rats
3. 学会等名 ISAN2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru
2. 発表標題 Relationship between the distribution of the paired-like homeobox gene (Phox2b) expressing cells and blood vessels in the parafacial region of the ventral medulla of neonatal rats.
3. 学会等名 IUPS 38th World Congress, Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Hiroyuki Igarashi, Hiromu Yawo, Masaaki Ogawa, Kan-ichiro Ihara, Kazuto Kobayashi, Satoru Arata, Kiyoshi Kawakami
2. 発表標題 Optogenetic analysis of medullary respiratory center by modulating activity of Phox2b expressing cells
3. 学会等名 IUPS 38th World Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Sayumi Kotani, Saki Yagura, Shih Tien Lin, Masahiko Izumizaki
2. 発表標題 Respiratory rhythm generation under the reduced mutual excitatory synaptic connections
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Hiroyuki Igarashi, Hiromu Yawo, Kazuto Kobayashi, Kiyoshi Kawakami
2. 発表標題 Optogenetic analysis of neuronal network of medullary respiratory center in transgenic rats expressing channelrhodopsin in Phox2b expressing cells
3. 学会等名 第40回日本神経科学会, 幕張メッセ
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Keiko Ikeda, Masaaki Ogawa, Kan-ichiro Ihara, Kazuto Kobayashi, Kiyoshi Kawakami
2. 発表標題 Optogenetic analysis of neuronal network of medullary respiratory center in brainstem-spinal cord preparations from transgenic newborn rats expressing Archaelrhodopsin in Phox2b positive cells
3. 学会等名 Society for Neuroscience 2016 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Sayumi Kotani, Hiroshi Onimaru
2. 発表標題 Neuronal mechanisms of inhibitory effects of eugenol on respiratory neuron activity in the brainstem-spinal cord preparation
3. 学会等名 第93回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shih Tien Lin, Hiroshi Onimaru
2. 発表標題 Descending inhibition on spinal seizure-like activity observed in respiratory nerve activity output in brainstem spinal cord preparation from newborn rats
3. 学会等名 第93回日本生理学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shih Tien Lin, Hiroshi Onimaru
2. 発表標題 Respiratory rhythm generation and spinal seizure-like activity in the in vitro brainstem-spinal cord preparation of the neonatal rat
3. 学会等名 第93回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Onimaru, Shih Tien Lin, Keiko Ikeda, Noriko Osumi
2. 発表標題 Developmental defect of respiratory center in the medulla of Pax6 mutant rats
3. 学会等名 第39回日本神経科学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Kamon Iigaya, Hiroshi Onimaru
2. 発表標題 The interaction between novel oscillation within the ventromedial hypothalamus and the sympathetic nervous system
3. 学会等名 第39回日本神経科学会
4. 発表年 2016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
連携研究者	池田 啓子 (Ikeda Keiko) (10265241)	兵庫医科大・医学部・教授 (34519)	国際医療福祉大学を経て、現在国立病院機構村山医療センター