

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06874

研究課題名（和文）経血管灌流標本を用いた内臓感覚性呼吸リズム調節を実現する神経ネットワークの解明

研究課題名（英文）Neuronal mechanism regulating the respiratory rhythm by the visceral sensory information

研究代表者

濱 德行 (HAMA, Noriyuki)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教

研究者番号：60422010

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：臓器感覚の中継核である孤束核の抑制性ニューロンや興奮性ニューロンを活性化させることで呼吸周期に生じる変動を解析した。その結果、抑制性ニューロンは吸息ニューロンでもある呼吸ペースメーカーニューロンの活動を抑制することで吸息を停止し、興奮性ニューロンは呼息ニューロンを活性化することで呼吸周期を調整していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

呼吸は生命維持に不可欠な運動であり、その調節機構は不明な点が多い。体液のpHや肺の伸展状態といった臓器感覚による調節は重要な調節因子の一つである。これらの臓器感覚の中継核である孤束核の抑制性ニューロンや興奮性ニューロンによる呼吸調節機構を明らかにした。これにより、睡眠時無呼吸症候群といった呼吸調節機構に異常に起因する疾患の病態理解や治療法の開発に基礎的知見を提供することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the alternation in the respiratory rhythm induced by the activation of inhibitory and excitatory neurons in the nucleus of solitary tract, the relay nucleus of visceral sensory information. The results revealed that inhibitory neurons terminated inspiration by suppressing the activity of respiratory pacemaker neurons, which also play as an inspiratory neurons, and excitatory neurons activated the expiratory neurons.

研究分野：生理学

キーワード：呼吸リズム 経血管灌流標本 孤束核 光遺伝学

1. 研究開始当初の背景

呼吸は生命維持に不可欠な運動であり、呼吸リズム生成・調節機構の解明は重要な生理学的課題である。肺胞の拡張、血圧や体液の **pH**・ガス分圧の変化などの内臓感覚は呼吸を調節する。呼吸調節において孤束核を介した内臓感覚の呼吸中枢への入力経路^{1,2)}は重要な役割をはたしているが、投射線維が伝える情報や、投射線維活性化による呼吸パターン生成回路(呼吸 **CPG**)を構成するニューロンの活動パターンの修飾機序は、不明な点が多い。

脳幹の呼吸中枢には呼息性ニューロンを含むベッチンガーコンプレックス(**BC**)と吸息性ニューロンを含むプレベッチンガーコンプレックス(**pBC**)と呼ばれる領域が存在する。これらのニューロンが呼吸 **CPG** を構成する³⁾。感覚入力による **CPG** ニューロンの活動パターン変化の機序を明らかにすることは、呼吸調節に関わる神経機構の解明に重要であるが、解析が容易なスライス標本や摘出脳幹標本は正常な **3** 相性(吸息・後吸息・呼息)の呼吸パターンを示さず、このような解析はほとんどなされていない。

2. 研究の目的

臓器感覚の中継核である孤束核投射線維刺激による **CPG** ニューロンの活動パターン変化を電気生理学的手法に光遺伝学と光学的測定を合わせて記録・解析し、内臓感覚による呼吸調節機構の一端を解明する。

呼吸調節に関する研究は広く行われているが、感覚入力による **CPG** ニューロンの活動パターン変化の機序は計算論的モデルを用いて検証したものがほとんどである。本研究では **3** 相性の呼吸を示す経血管灌流標本を用いて、孤束核からの入力による呼吸調節機構を実験生理学的に明らかにする。

3. 研究の方法

抑制性または興奮性ニューロン特異的に **Cre** を発現する遺伝子改変マウスの孤束核へ **Cre** 依存的に **ChR2** と **mCherry** を発現する遺伝子を組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターを注入し孤束核の抑制性または興奮性ニューロン特異的に **ChR2** を発現させる。この動物を用いて経血管灌流標本を作成し横隔神経、頸部迷走神経活動を記録し呼吸パターンをモニターする。

4. 研究成果

孤束核抑制性ニューロン活性化による呼吸周期の変動

光遺伝学的手法を用いて孤束核から呼吸CPGへと投射する抑制性ニューロンの活性化による呼吸リズムの変化を解析した。抑制性ニューロン特異的にCreを発現する遺伝子改変マウスの孤束核へCre依存的にChR2とmCherryを発現する遺伝子を組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターを注入した動物を用いて経血管灌流標本を作成し横隔神経、頸部迷走神経活動を記録し呼吸パターンをモニターする。レーザー光によってさまざまな条件で孤束核抑制性ニューロンを刺激し呼吸パターンの変化を解析した。その結果、抑制性ニューロンを吸息相特異的に刺激すると吸息相が停止し、呼息相へ移行した(図1A)。一方、呼息相での刺激は、呼息相の前半(post-I)、後半(Late expiratory)いずれも呼吸周期への影響は見られなかった。

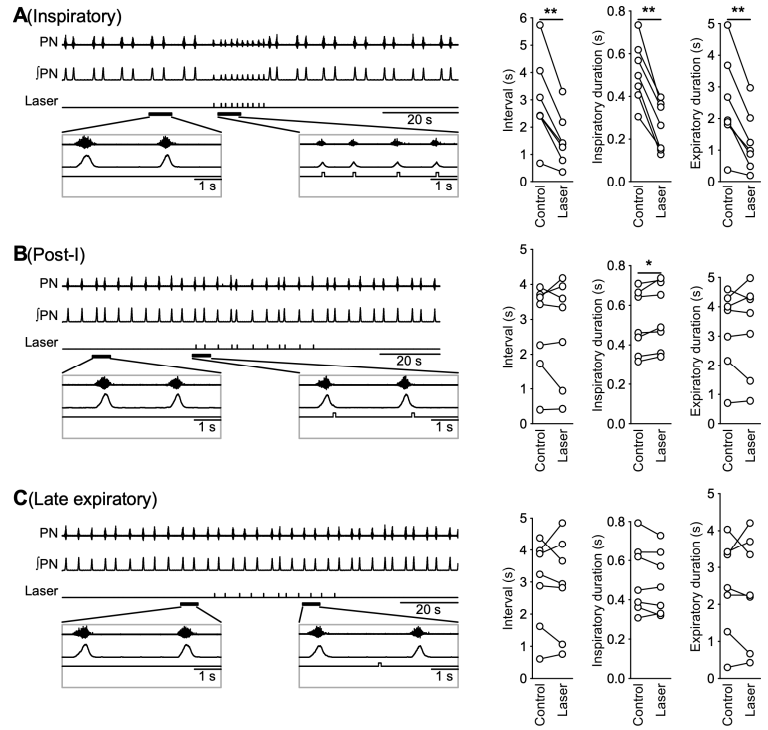


図1 孤束核抑制性ニューロンの活性化が呼吸周期に与える効果。

本研究で対象としている孤束核抑制性ニューロンは肺の伸展受容器からの情報を受け取っており、これは吸息相の後半で活動が上昇することが知られている。そこで、刺激を吸息の開始直後、中間、後半と変更した。開始直後、中間では吸息相と呼息相共に短縮したが(図2A, B)、後半での刺激では呼息相のみが短縮した(図2C)。これと並行して呼吸CPGを構成するニューロン群の活動を解析するため、ユニットレコーディングを行った。ペースメーカーニューロンと考えられているpre-I/Iニューロンの活動を抑制していることが明らかになった(図3)。これらより、孤束核抑制性ニューロンは呼吸CPGのペースメーカーニューロンを抑制することで呼吸リズムを調節するが、吸息相の停止だけでなく、呼息相の短縮も引き起こすことが明らかになった。

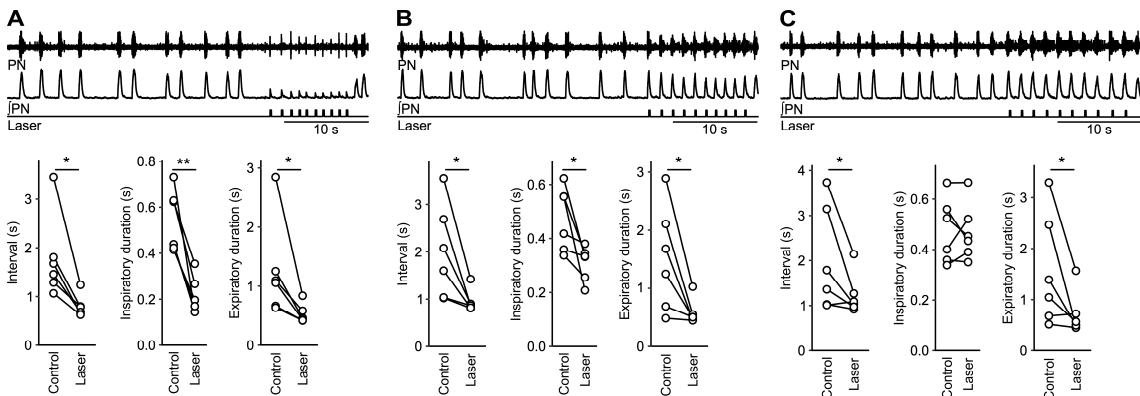


図2 様々な吸息相での孤束核抑制性ニューロンの活性化が呼吸周期に与える効果。

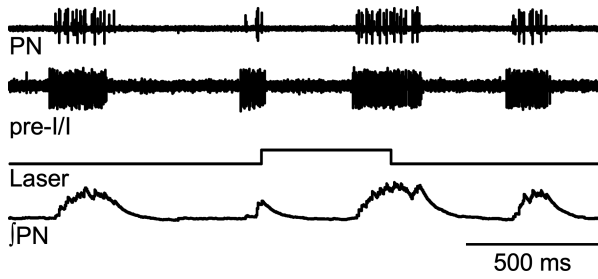


図3 孤束核抑制性ニューロンによる pre-I/I ニューロン活動の抑制.

孤束核興奮性ニューロン活性化による呼吸周期の変動

孤束核興奮性ニューロンの活性化が呼吸リズムに与える影響を光遺伝学的手法を用いて解析した。孤束核興奮性ニューロンを持続的に活性化させたところ、呼吸が停止した (図4)。ついで、呼吸周期特異的に刺激を行った。吸息相での刺激では吸息時間の短縮と呼息時間の延長が見られ、呼吸頻度が低下した (図5A)。呼息相での刺激では吸息時間に変化はなく、呼息時間の延長によって呼吸頻度が低下した (図5B)。呼吸CPGを構成するニューロン群の活動を解析するため、ユニットレコーディングを行った。吸索性ニューロン (early-I, 図6A) の活動は抑制され、呼索性ニューロンのうち、呼息期の初期に活動するニューロン (post-I, 図6B) の活動は活性化したが、後期に活動するニューロン (aug-E, 図6C) の活動は抑制された。また、呼吸CPGに出力を脊髄運動ニューロンへと伝達するニューロン (ramp-I, 図6D) ニューロンの活動も活性化された。これらのことから、孤束核興奮性ニューロンは呼息期の初期に活動する呼息ニューロンを興奮させることで呼吸リズムを調整していると考えられる。

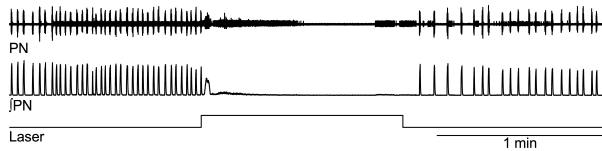


図4 孤束核興奮性ニューロンの持続的活性化による呼吸の停止.

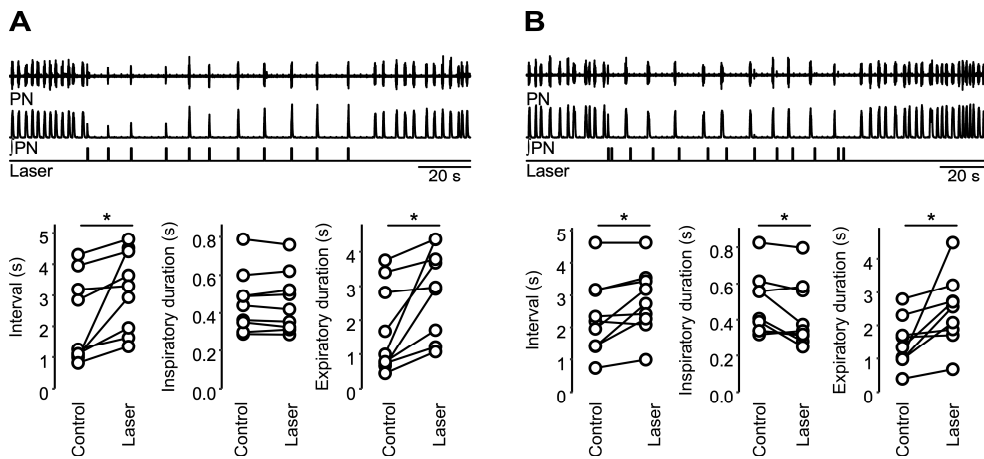


図5 孤束核興奮性ニューロンによる呼吸周期の変動.

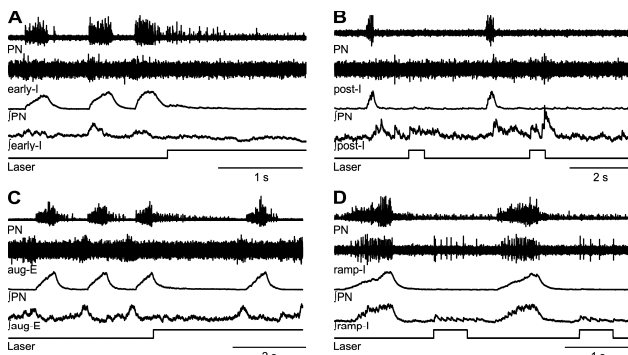


図6 孤束核興奮性ニューロン活性化による呼吸CPGニューロン活動の変化.

<参考文献>

1)Andresen MC et al., Annu Rev Physiol 56: 93–116, 1994.

2)Kubin L et al., J Appl Physiol 101: 618–27, 2006.

3)Smith JC et al., Trends Neurosci 36: 152–62, 2013.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hama Noriyuki, Kawai Minako, Ito Shin-Ichi, Hirota Akihiko	4. 巻 448
2. 論文標題 Optical Analysis of Acute Changes after Peripheral Nerve Injury in Spatio-Temporal Pattern of Neural Response to Forelimb Stimulation in Rat Somatosensory Cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 85～93
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2020.09.020	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 Hama Noriyuki, Kawai Minako, Ito Shin-ichi, Yoshida Yuki, Fujita Yasuhisa, Hirota Akihiko	4. 巻 69
2. 論文標題 Concave-shaped transparent electrode to simultaneously monitor electrical activity from multiple sites within the optical sampling area of the intact rat cerebral cortex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 543～551
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12576-019-00663-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 Shinozaki Yoshio, Yokota Shigefumi, Miwakeichi Fumikazu, Pokorski Mieczyslaw, Aoyama Ryoma, Fukuda Kentaro, Yoshida Hideaki, Toyama Yoshiaki, Nakamura Masaya, Okada Yasumasa	4. 巻 224
2. 論文標題 Structural and functional identification of two distinct inspiratory neuronal populations at the level of the phrenic nucleus in the rat cervical spinal cord	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Brain Structure and Function	6. 最初と最後の頁 57～72
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00429-018-1757-3	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 Arima Yosuke, Yokota Shigefumi, Fujitani Masashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Lateral parabrachial neurons innervate orexin neurons projecting to brainstem arousal areas in the rat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2830
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-39063-y	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 Asano Hirohiko, Arima Yosuke, Yokota Shigefumi, Fujitani Masashi	4. 巻 512
2. 論文標題 New nociceptive circuits to the hypothalamic perifornical area from the spinal cord and spinal trigeminal nucleus via the parabrachial nucleus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 705 ~ 711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.02.153	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25件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 濱 德行, 横田 茂文, 藤谷 昌司, 岡田 泰昌, 越谷 直弘, 小泉 英彦
2. 発表標題 マウス孤束核興奮性ニューロンによる呼吸調節機構の解析
3. 学会等名 日本生理学会 第72回中国四国地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 濱德行, 武田湖太郎, 岡田泰昌, 越谷直弘, 小泉英彦, 横田茂文
2. 発表標題 孤束核抑制性ニューロンによる呼吸調節に関わる神経機構の生理学的・解剖学的解析
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 第98回日本生理学会大会 合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田茂文, 濱德行, 武田湖太郎, 岡田泰昌
2. 発表標題 低酸素が引き起こす呼吸喚起と覚醒の神経路
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 第98回日本生理学会大会 合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田茂文, 武田湖太郎, 濱 德行, 有馬陽介, 藤谷昌司, 岡田泰昌
2. 発表標題 遺伝子改変動物を用いた孤束核グルタミン酸作動性ニューロンによる呼吸循環調節機構の解析
3. 学会等名 日本生理学会 第72回中国四国地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukushi I, Yokota S, Takeda K, Terada J, Okada Y
2. 発表標題 Dual blockade of orexin receptors does not affect ventilation in mice
3. 学会等名 The 24th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology (APSR 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fukushi I, Yokota S, Takeda K, Terada J, Okada Y
2. 発表標題 Dual orexin receptor antagonism and ventilatory function in mice
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fukushi I, Yokota S, Takeda K, Okazaki S, Terada J, Okada Y
2. 発表標題 Effects of suvorexant (Belsomra(R)) on ventilation in mice
3. 学会等名 第59回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fukushi I, Yokota S, Takeda K, Terada J, Okada Y
2. 発表標題 Effects of a dual orexin receptor blocker suvorexant on breathing
3. 学会等名 第42回神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fukushi I, Kono Y, Yokota S, Takeda K, Yazawa I, Onimaru H, Okada Y
2. 発表標題 The diencephalon augments respiration in the isolated diencephalon-lower brainstem-spinal cord preparations of newborn rats
3. 学会等名 The 6th Conference of Japanese Society of Respiratory Physical Therapy
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 有馬陽介、横田茂文、藤谷昌司
2. 発表標題 ラット外側結合腕傍核は脳幹覚醒調節領域へ投射する視床下部オレキシン産生ニューロンを支配する
3. 学会等名 日本解剖学会第74回中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横田茂文、武田湖太郎、濱 徳行、有馬陽介、藤谷昌司、岡田泰昌
2. 発表標題 孤束核グルタミン酸作動性ニューロンによる呼吸循環調節機構の機能的・形態学的解析
3. 学会等名 日本解剖学会第74回中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱 徳行、横田茂文、藤谷昌司、岡田泰昌、越谷直弘、小泉英彦
2. 発表標題 孤束核抑制性投射ニューロンによる呼吸相の短縮
3. 学会等名 日本生理学会 第71回中国四国地方会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横田茂文、濱 徳行、武田湖太郎、藤谷昌司
2. 発表標題 血中低酸素情報を伝達する孤束核から結合腕傍核を介して視床下部へ至る神経路
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yokota S, Hama N, Takeda K, Fujitani M
2. 発表標題 The pathway transmitting hypoxia information from the solitary nucleus to the hypothalamus
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fukushi F, Yokota S, Takeda K, Terada J, Okada Y
2. 発表標題 A dual orexin receptor blocker suvorexant inhibits hypercapnic ventilatory augmentation
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hama H Yokota S, Fujitani M, Okada Y, Koshiya N, Koizumi H
2. 発表標題 Decrease in the expiratory duration induced by the photostimulation of inhibitory neurons within the lateral solitary nucleus during inspiration
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 濱徳行, 横田茂文, 藤谷昌司, 岡田泰昌, 越谷直弘, 小泉英彦
2. 発表標題 弧束核抑制性ニューロンの光遺伝学的活性化による呼吸リズム修飾
3. 学会等名 第41回日本神経科学学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 濱徳行, 横田茂文, 藤谷昌司, 岡田泰昌, 越谷直弘, 小泉英彦
2. 発表標題 経血管灌流標本を用いたマウス弧束核抑制性投射ニューロンによる呼吸リズムの修飾機構の解析
3. 学会等名 第70回日本生理学会中国四国地方会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Noriyuki Hama, Shigefumi Yokota, Masashi Fujitani, Yasumasa Okada, Naohiro Koshiya, Hidehiko Koizumi
2. 発表標題 Function of inhibitory neurons in the solitary nucleus in the control of respiration
3. 学会等名 9th FAOPS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河野洋介, 有馬陽介, 横田茂文, 鬼丸洋, 福士勇人, 小泉敬一, 長谷部洋平, 吉沢雅史, 喜瀬広亮, 戸田孝子, 岡田泰昌
2. 発表標題 ラット視床下部背 内側野から延髄腹側循環中枢群に至る神経路の形態学的解析
3. 学会等名 第41回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yokota S, Arima Y, Takeda K, Okada Y
2. 発表標題 Role of glutamatergic neurons in the caudal solitary nucleus in cardiorespiratory regulation
3. 学会等名 第41回神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fukushi I, Kono Y, Yokota S, Takeda K, Okazaki S, Yazawa I, Onimaru H, Okada Y
2. 発表標題 The role of the diencephalon in the central control of respiration investigated with the isolated diencephalon-lower brainstem-spinal cord preparation
3. 学会等名 第41回神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kono Y, Arima Y, Yokota S, Onimaru H, Fukushi I, Koizumi K, Hasebe Y, Yoshizawa M, Kise H, Hoshiai M, Sugita K, Toda T, Okada Y
2. 発表標題 Anatomical connectivity from the dorsomedial hypothalamus to the ventral medullary cardiovascular regions: neural pathway mediating the descending sympathetic information
3. 学会等名 第41回神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Arima Y, Yokota S
2. 発表標題 Lateral parabrachial neurons innervate orexin-containing hypothalamic neurons projecting to the ventral tegmental area and dorsal raphe in the rat
3. 学会等名 第41回神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野洋介, 岡田泰昌, 有馬陽介, 福士勇人, 小泉敬一, 長谷部洋平, 吉沢雅史, 喜瀬広亮, 星合美奈子, 杉田完爾, 戸田孝子
2. 発表標題 視床下部テタヌス刺激は延髄腹側心血管調節領域の遷延性興奮を惹起する: 時空間的解剖
3. 学会等名 第54回日本小児循環器学会総会・学術集会
4. 発表年 2018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
研究 分担者	横田 茂文 (YOKOTA Shigefumi) (50294369)	島根大学・学術研究院医学・看護学系・准教授 (15201)	
研究 分担者	伊藤 眞一 (ITO Shin-Ichi) (10145295)	島根大学・学術研究院医学・看護学系・准教授 (15201)	

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
---------	---------