

令和 4 年 4 月 28 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07283

研究課題名（和文）前庭系可塑のメカニズム解明とデコンディショニング治療への展開

研究課題名（英文）Plastic alteration of the vestibular system-induced autonomic deconditioning

研究代表者

安部 力（Abe, Chikara）

岐阜大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：10585235

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）：高齢者や帰還後の宇宙飛行士では前庭器（耳石器・三半規管）の機能低下による平衡機能障害や起立性低血圧が問題となっており、これには前庭系可塑の関与が示唆されている。しかし、可塑のメカニズムやそれが引き起こす生理機能調節力低下（デコンディショニング）の全容が不明であるため、障害や症状に対する効果的な予防法やリハビリテーション法が確立されていない。本研究では、前庭系可塑による生理機能低下に前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンが関与していること、また可塑防止に必要な前庭電気刺激パラメーターを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

宇宙空間では、筋・骨萎縮、心循環系の調節力低下、前庭機能低下などが起こることから、前庭系可塑のメカニズムを解明することで、高齢者に起こる様々な疾患の治療法を見つけることができる可能性がある。最近では、前庭系の可塑が平衡感覚機能不全や心循環器系の調節低下だけでなく、筋・骨代謝の低下や免疫不全にも関与していることが明らかになり始めてきた。このことから、前庭系の可塑メカニズム解明は多くの疾患の理解につながる可能性がある。さらに、前庭系電気刺激法で可塑の制御法を確立することができれば、宇宙飛行士だけでなく高齢者にみられる疾患や機能不全の治療にもつながることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Equilibrium dysfunction and orthostatic hypotension due to functional deterioration of the vestibular system (otolith and semicircular canals) have become problems in the elderly and astronauts who returned from the space. It is suggested that this phenomena involve vestibular plasticity, however the effective preventive and rehabilitation methods for disorders and symptoms have not been established since the mechanism of plasticity is unknown. In the present study, we clarified the vestibular plasticity-induced decrease in physiological function involves changes in response of glutamatergic neurons in the vestibular nuclei. We also developed the electrical devise for the peripheral vestibular organs which presumably works as prevention of the vestibular plasticity.

研究分野：生理学

キーワード：前庭系 可塑性 交感神経

1. 研究開始当初の背景

我が国の65歳以上の高齢者人口は約3500万人であり、総人口に占める割合は27.7%と過去最高になった。また、80歳以上の人口が初めて1000万人を超え、その数はますます増加していくと予想されている。高齢者に起こりやすい事故のひとつに転倒がある。高齢者の転倒事故は、大腿骨骨折や頭部外傷等の重大な傷害を招き、結果、寝たきり・要介護状態をきたす。転倒事故による医療・介護費用は年間約7300億円であり、これは全医療・全介護費用の約2%となっている。このことから、高齢者の転倒事故は生活の質を低下させるだけでなく、大きな経済的損失を与えていることがわかる。

転倒防止に必要な姿勢の制御には、内耳にある前庭器が重要な役割を果たす。前庭器は三半規管と耳石器から構成され、それぞれ回転感覚と直線加速感覚をつかさどっている。各入力の中枢で統合され、正常な直立姿勢の維持や歩行移動を行うことができる。しかし高齢者では前庭系の機能低下により、眼球運動(前庭-動眼反射)や筋運動(前庭-脊髄反射)の調節力が低下しているため、転倒が起こりやすいと考えられている。また、臥位から起立への姿勢変化時に起こる起立性低血圧も、高齢者の転倒を引き起こす原因となっており、その一部には前庭系機能低下が関わっている。これらの報告から、平衡機能低下や起立性低血圧などの様々なデコンディショニングへの原因療法や効果的な対症療法の開発が求められている。

前庭系は非常に可塑性の強い器官であり、微小重力環境や長期臥床など通常とは異なる環境・状態では前庭系の応答性が変化する。過重力や微小重力などの重力環境変化および行動抑制環境に動物を曝露すると、前庭系を介する運動機能や動脈血圧応答(前庭-動脈血圧反射)の調節力が低下する。また、宇宙から地球に帰還した宇宙飛行士における起立性低血圧発症にも前庭系の可塑が関わっている。これら前庭系を介するデコンディショニングには、前庭系への入力が増加することによって起こる使用依存的可塑(use-dependent plasticity)が一部関与していると考えられている。実際、動物実験では、末梢前庭器電気刺激によって前庭系への入力を補うことで、前庭系の可塑による生理機能低下を防ぐことができる。しかしながら、前庭系可塑のメカニズムや、それが原因で生じるデコンディショニングの全容はいまだ不明であるため、効果的な予防法やリハビリテーション法が確立されておらず、これらの解決は喫緊の課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では、マウスを用いた実験をベースに前庭系可塑のメカニズムを解明し、生理機能調節力低下への対策を確立することを目的とする。前庭系の可塑が起こる部位のひとつである前庭神経核を対象に、遺伝子工学の技術を応用した特異的神経細胞操作法を用いて、前庭系可塑に関わる神経細胞亜集団や遺伝子を同定する。また、同定されたターゲット神経細胞亜集団を効果的に刺激できるような末梢前庭電気刺激法の開発と刺激パラメーターを確立する。

3. 研究の方法

本研究の目的である前庭系可塑のメカニズム解明とデコンディショニング治療の開発を達成するために、以下の3つのセクションに分けて研究を行った。

前庭系可塑に関わる遺伝子の同定と機能解明

前庭神経核を構成する神経細胞は主にVglut2陽性神経細胞、Vgat陽性神経細胞とChAT陽性神経細胞であるので、過重力負荷に対するこれらの神経細胞の可塑的变化を生理機能評価から明らかにする。

Vglut2-cre マウス, Vgat-cre マウスと ChAT-cre マウスの前庭神経核にアデノ随伴ウイルスベクターを局所投与し, オプトジェネティクス法もしくはケモジェネティクス法に必要な受容体(興奮性・抑制性)を神経細胞膜に発現させる。光刺激や化学刺激にて神経細胞を特異的に刺激し, 姿勢や自律神経応答を 1G, 2G, 行動抑制群間で比較する。また, 毒性タイプのウイルスベクターを用いて各神経細胞を除去し, 2G 曝露や行動抑制による可塑的变化への影響を調べる。

前庭系可塑防止に必要な末梢前庭電気刺激装置の開発および刺激パラメーターの決定

前庭系可塑に重要な前庭神経核神経細胞群を効果的に刺激するようなマウス用末梢前庭電気刺激装置の開発および刺激パラメーターを決定する。

ターゲット神経細胞亜集団を特異的に刺激しながら過重力環境や行動抑制状態で飼育した時に, 生理機能低下がレスキューされるかどうかを調べる。ターゲット神経細胞亜集団を効果的に刺激するような前庭電気刺激法のパラメーターを模索し, 2G や行動抑制環境下飼育において同等のレスキュー効果がみられるかどうかを調べる。

4. 研究成果

前庭系可塑に関わる遺伝子の同定と機能解明

前庭神経核には, 少なくともグルタミン酸作動性神経細胞と GABA 作動性神経細胞が存在する。Vglut2-cre マウスと Vgat-cre マウスを用い, ウイルスベクターにて片側前庭神経核のグルタミン酸作動性神経細胞, GABA 作動性神経細胞とコリン作動性神経細胞に光受容体(ChR2)を発現させた。光刺激にて興奮させると, Vglut2-cre マウスは刺激同側に, Vgat-cre マウスは反対側に身体が傾斜した。このことから, これらの神経細胞は姿勢制御に関与していることがわかった。

次に, Vglut2-cre マウスと Vgat-cre マウスを用い, 両側前庭神経核のグルタミン酸作動性神経細胞と GABA 作動性神経細胞に化学受容器(hM3Dq)を発現させた。Clozapine-N-Oxide(CNO)にて各神経細胞を興奮させると, Vglut2-cre マウスでは体温の低下がみられた。一方, Vgat-cre マウスでは体温の変化がみられなかった。さらに, ウイルスベクターにて前庭神経核のグルタミン酸作動性神経細胞を特異的に除去し過重力刺激(2G)を与えると, 体温低下が有意に抑えられた。これらの結果から, 前庭刺激による体温の低下には前庭神経核のグルタミン酸作動性神経細胞が関与していることがわかった。

さらに, 前庭神経核のグルタミン酸作動性神経細胞への介入による 2G 曝露依存性低体温応答への影響を調べた。CNO を用いて前庭神経核のグルタミン酸作動性神経細胞を興奮させ, 翌日に 2G 曝露を行うと低体温応答は有意に抑えられた。また, 9 時間の 2G 曝露を行い, 24 時間後に再び 2G 環境に曝露しても低体温応答は有意に抑えられた。一方で, 1 時間の 2G 曝露を 3 回反復しても低体温応答に有意な差は見られなかった。このことから, 過重力環境曝露による前庭系の可塑対策には, 前庭神経核内のグルタミン酸作動性神経細胞を長時間刺激することが重要であることが明らかになった。

前庭系可塑防止に必要な末梢前庭電気刺激装置の開発および刺激パラメーターの決定

麻酔下のマウスの外耳道から鼓膜および耳小骨を取り除いた。耳小骨のひとつであるアブミ骨を外すと耳石膜を確認することができ, その部位に先端をアンブレラ型にしたステンレス製の電極を置いた。電極および耳石膜を歯科用シリコンにて包埋し固定した。耳石側とは反対の電極先端を, 外耳道の側壁に穴をあけた部位から頭蓋骨上まで通した。電極をピンソケットターミナルと接続し, 歯科用セメントにて頭蓋骨上に固定した。

電流 0.2 mA にて 1 秒間の電気刺激を行うと, 同側方向に身体の傾斜がみられた。身体傾斜は電流値依存的に有意に増加した。また, 矩形波にて電流値, 頻度および持続時間を変化させると, 0.1 mA, 0.5 Hz, 500 msec の組み合わせが平衡機能への適切な刺激であることがわ

かった。また、サイン波での電気刺激も試したが、傾斜角度は矩形波の場合と違いがみられなかった。今後は、本研究にて開発した末梢前庭器電気刺激装置を用いて、前庭神経核内のグルタミン酸作動性神経細胞を介する前庭系可塑を防ぐことができるかどうかを検討する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Abe C, Yamaoka Y, Maejima Y, Mikami T, Yokota S, Yamanaka A, Morita H	4. 巻 3(1)
2. 論文標題 VGLUT2-expressing Neurons in the Vestibular Nuclear Complex Mediate Gravitational Stress-Induced Hypothermia in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Commun Biol	6. 最初と最後の頁 227
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-0950-0	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 Abe C, Yamaoka Y, Maejima Y, Mikami T, Morita H	4. 巻 69(6)
2. 論文標題 Hypergravity-induced plastic alteration of the vestibulo-sympathetic reflex involves decrease in responsiveness of CAMK2-expressing neurons in the vestibular nuclear complex.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Physiol Sci.	6. 最初と最後の頁 903-917
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12576-019-00705-5	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安部力
2. 発表標題 延髄C1ニューロンを介する未病改善の可能性
3. 学会等名 第50回脳研セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安部力
2. 発表標題 Arterial pressure control via the vestibular system
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Uni R, Abe C, Inagi R, and Inoue T	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Singapore	5. 総ページ数 20
3. 書名 Role of the Nervous System in Acute Kidney Injury	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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