

機関番号：15201

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390385

研究課題名 (和文)

迷走神経刺激の抗うつ作用における視床束傍核-線条体経路の役割：ラットでの検討

研究課題名 (英文)

Role of the parafascicular-striatal projection in the anti-depressive effect of vagal nerve stimulation

研究代表者

伊藤 真一 (ITO SHIN-ICHI)

島根大学・医学部・准教授

研究者番号：10145295

研究成果の概要 (和文)：迷走神経刺激の抗うつ作用における視床束傍核-線条体経路の役割を検討するため、迷走神経刺激のための埋め込み電極を開発して、迷走神経刺激が有効なうつモデルを検索した。一方、視床束傍核への迷走神経入力経路、および抗うつ効果への視床束傍核破壊の影響を検討した。その結果、①恐怖条件付けストレスモデルに迷走神経刺激が有効であること、②視床束傍核への迷走神経入力は同側傍腕核の内側部由来であることを見出した。視床束傍核破壊の影響は検討中である。

研究成果の概要 (英文)：A new implantable cuff electrode for vagus nerve stimulation (VNS) was developed. VNS was found to be effective to the treatment-resistant depression model based on fear conditioning. It was found that vagus input to the thalamic parafascicular nucleus was transmitted via medial subnucleus of the ipsilateral parabrachial nucleus. Effects of parafascicular lesion on the anti-depressant VNS effect is under investigation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,400,000	2,220,000	9,620,000
2009年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2010年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・機能的神経外科学

キーワード：迷走神経刺激、カフ電極、視床束傍核、強制水泳、恐怖条件付け、抗うつ効果、抗不安効果、逆行性標識

1. 研究開始当初の背景

(1)「迷走神経刺激法」は難治性うつ病に効果があるとして治験段階にある療法である。刺激電極と小型電気刺激装置を体内に埋め込み、迷走神経を慢性的に刺激するもので、アメリカを中心とする西洋諸国で行われ一定の成績を得ている。ただ、この効果は他の目的で試行された際の副産物として見出されたものであって理論的背景に乏しく、なぜ効くのかまったく分かっていない。

(2)われわれは迷走神経の脳内上行路を調べる過程で、視床束傍核から線条体への経路に迷走神経からの入力が強力にあることを見出した。視床束傍核、線条体それぞれ、うつ病との関連を示唆する知見があるので、「迷走神経刺激がこの束傍核—線条体経路を賦活することで抗うつ効果が生じる」という可能性を考えた。

2. 研究の目的

- (1) 迷走神経用の埋め込み電極を開発する。
- (2) 迷走神経刺激が有効であるような行動モデルを見出す。
- (3) 迷走神経刺激の効果に対する視床束傍核破壊の影響を調べる。
- (4) 視床束傍核への迷走神経入力経路を調べる。

3. 研究の方法

(1) VNS モデルの検討

うつ病モデルとして、Porsolt が報告し (Nature 266:730, 1977)、現在も広く用いられている強制水泳試験と、マウスを用いた治療抵抗性のうつ病モデルとして提唱されている恐怖条件付けストレスモデル (斎藤ら、2003、日本神経精神薬理学雑誌 23:75) をラットに適用して用いることとした。実験スケジュールは、Krahl ら (J Psychiat Res 38:237, 2004) が VNS が有効であったと報告した方法を踏襲した。さらに、VNS 処置の一般行動への影響の報告があまりなく、また、不安緩解の可能性を探るため、オープンフィールド (OF) による観察も行った。

実験では SD オスラットを用い、迷走神経刺激 (VNS) の効果を、強制水泳および恐怖条件付け事象で生理食塩液 (S; 1ml/kg)、イミプラミン (IMP; 20mg/kg) およびフルオキセチン (FLX; 30mg/kg) 皮下投与の効果と比較した。VNS は頸部迷走神経に電極を植え込み、術後 3 日間の回復期間をおいた後、0.1mA、2 秒間の矩形波を 5 秒間隔で 30 分間与えた。VNS や薬物は 4 日連続でラット毎にほぼ同じ時刻に処置し、上記行動試験を第 1 および第 4 日に行った。いずれの実験でも薬物毎に 5 ないし 6 匹、VNS は強制水泳および恐怖条件付けで 10 ないし 12 匹のデータを得た。なお、運動量や無動時間の測定は Actimetrics 社の行動解析装置を用いて行った。

強制水泳: 各ラットを水温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に保った水槽内 (水深 35cm) に設置した脱出不能の亚克力製円筒 (内径 20cm) 内に 15 分入れ、最後の 5 分間における無動時間を記録した。ついで VNS ないし薬物処置を 4 日間行い、4 日目の処置 1 時間後に再度水槽に 5 分間入れて無動時間を測定した。

恐怖条件付け: 各ラットを 25 (D) x 31 (W) x 28 (H) cm の矩形実験箱に入れ、0.8mA、2 秒間の回避不能の電撃を床グリッドより平均 30 秒に 1 回、10 分間与えた。ついで、強制水泳の場合と同様の処置を行い、4 日目の処置 1 時間後に再度同実験箱内で電撃を与えず、無動時間を 10 分間計測した。

OF での一般行動観察: いずれの試験でも、処置 4 日目の行動試験終了後、ラットを 1 匹づつ 45cm 四方の OF に入れ、運動量および行動軌跡を 30 分間観察した。

(2) 迷走神経入力経路

視床束傍核で迷走神経誘発電位をマッピングし、その焦点部位にトレーサーを注入して、逆行性に標識される部位を検討した。麻酔下のサルで視床に微小電極を刺入して神経活動を調べ、迷走神経刺激に対する誘発電位応答を 100~150 点で検索した。応答中心の部位に蛍光色素を注入し、2 週間後脳を灌流固定して、逆行性に標識された細胞体を脳幹を中心に検索し、プロットした。

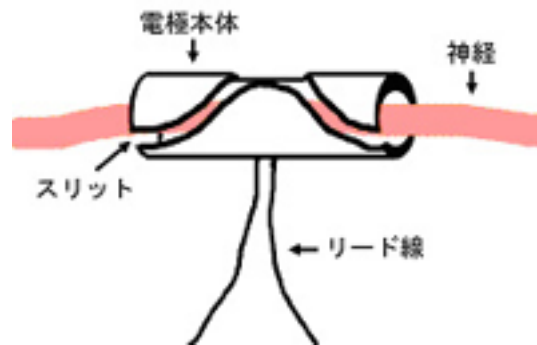
4. 研究成果

(1) 新しい埋め込み電極の開発

本研究では迷走神経に刺激電極を装着して慢性的に電気刺激をする。そのための埋め込み電極として当初、サイベロニクス社 (臨床用の迷走神経電極を一手に作っている会社) の電極を充てることを考えていたが、入手できなかった。従来一般的な電極には不満があり、使いやすいものを考案した。

この電極はシリコンチューブの本体に波型に幅広の切れ込みが入っており、この切れ込みを通して神経を力を加えることなく滑り込ませることができる。一たび取り込まれた神経は、どの方向に引っ張られ力が加わってもチューブのどこかが邪魔をして外へ出てしまうことがない。こうして装着に容易でしかも埋め込み後に抜けてしまうことのない電極が得られた。

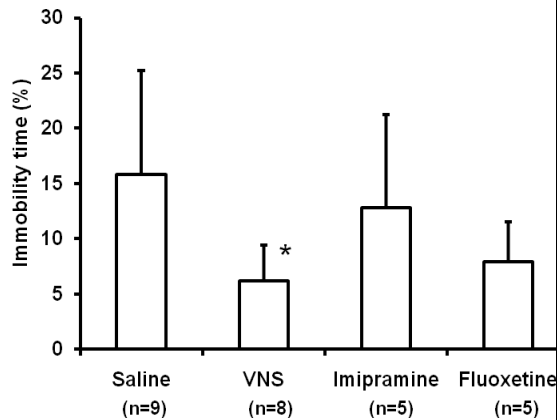
なお、この電極は末梢神経一般の刺激・記録に広く用いることができ、慢性実験の埋め込み様電極としてのみならず急性実験でも有用である。特許出願した。サイベロニクス社の電極が市販されていないことに鑑みて、この電極は需要が高いと期待できる。



(2) 「うつ」モデルの開発

強制水泳: 下図は S, VNS, IMP および FLX 処置後第 4 日の 5 分間における無動時間 (%) の平均である。この実験パラダイムにおいて、水槽からの逃避が不可能であることを学習したラットでは、第 2 回目に同じ環境に晒されると無動状態に陥るが、抗うつ薬処置で無動状態が改善されることが知られる。今回、このような効果は VNS でみられたが (* $p < 0.05$)

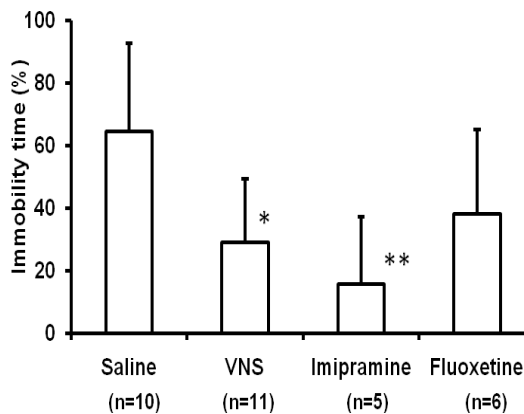
vs S)、FLX や IMP では有意な結果は得られなかった。これら薬物が強制水泳事態での無動



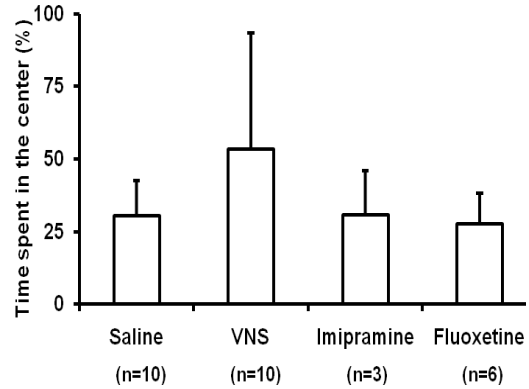
時間を短縮することは繰り返し認められているが、今回は個体間のばらつきも大きく、有意な結果は得られなかった。今後、画像解析ソフトのパラメタを変更するなどして更に検討の予定である。

恐怖条件付け：恐怖条件づけ後の無動（すくみ）時間に対する各処置の影響を下図に示した。無動時間は VNS (* $p < 0.05$) および IMP (** $p < 0.01$) 処置により、S 処置群と比べて有意に減少し、FLX では減少傾向にあったが有意差は見られなかった。恐怖条件付けによる効果は、比較的ばらつき少なく、安定して捉えることができ、今後はこのモデルでの検討が肝要と思われた。

OF での一般行動：強制水泳、恐怖条件づけ後の OF での移動量は、VNS でやや低い傾向がみられたが、有意差はみられなかった。OF 中央



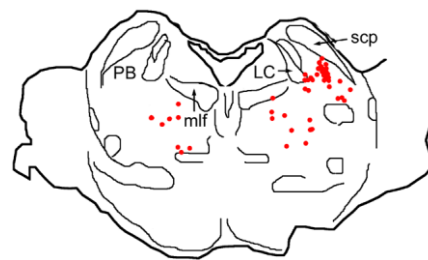
での滞在時間は、不安軽減の指標ともなりうる事が知られるが、VNS でそのような傾向はみられたものの有意差はなかった（下図は恐怖条件づけ後の中央区画滞在時間の比率を示す）。ただし今回は、観察途中で画像がフリーズするなどの不具合が生じ、従って使用できるデータが減少しており、今後、この点を改善するとともに、匹数を増やす必要があると思われた。



上記から、恐怖条件付け事態が VNS の抗うつ様効果を捉えるよい条件と考えられた。動物のうつ病モデルは種々あるが、VNS の有効性が確認されたものはこれまで強制水泳試験があるのみだった。今回新たに恐怖条件付けストレスモデルを付け加えることができたことは、VNS 研究のレパトリーを広げるものであり、しかもそれが治療抵抗性のうつ病モデルであることの意義は大きい。

(3) 入力経路

迷走神経刺激は束傍核に局限した大きな誘発電位応答を生じた。その応答中心への蛍光色素注入によって逆行性に標識された細胞は、主として同側の傍腕核 (PB) で見出された (図の赤点)。PB では内側部に集中しており外側部にはほとんど見られなかった。そもそも迷走神経求心線維は孤束核に終止し、孤束核ニューロンは PB に投射する。よって束傍核の迷走神経入力は孤束核→PB→を介するものと結論した。なお、今回孤束核には標識細胞はほとんど見られず、孤束核→束傍核の直接の経路は否定された。



束傍核は VNS の抗うつ作用のほか VNS の抗てんかん作用においても関与が示唆されている。迷走神経入力の経路が明らかにされたことで、VNS の効果に対する束傍核の役割について、より踏み込んだ考察が可能になり、今後の研究に資すると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

①高橋宏明、高田孝二、神経毒性試験、日本薬理学雑誌 131: 462-467, 2008 査読あり。

〔学会発表〕(計7件)

①Takada K, Watanabe, S, Cognitive drug safety - a translational approach. 日本薬理学会第83回年会シンポジウム2010. 3. 16 横浜

②Ito S, Thalamic sites projecting to the vagal-responsive region in the insular and sensorimotor cortex in rats 北米神経科学学会 2009.10.18 シカゴ

③ Ito S, Projection of slow-conducting somatic afferents to the visceral representing region in the rat sensorimotor cortex 日本神経科学学会第32回大会 2009. 9. 17 名古屋

④Ito S, Thalamocortical projections of the vagus-responsive region of the basal part of the ventral medial nucleus in monkeys 国際生理学会第36回大会 2009. 7. 30 京都

⑤ Ito S, Craig AD, Thalamocortical projections of the vagus-responsive region of the basal part of the ventral medial nucleus in monkeys 北米神経科学学会 2008. 11. 17 ワシントン

⑥久保位可子, 橋倉都, 堀弘明, 尾関祐二, 廣中直行, 高田孝二, 功刀浩, 健常者における音刺激による驚愕反応と不安感との関連,、第30回日本生物学的精神医学会、2008. 9. 11 富山

⑦Ito S, Vagal visceral sensory input to the basal ganglia 日本神経消化器病学会シンポジウム 2008. 5. 11 福岡

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称: カフ電極

発明者: 伊藤眞一

権利者: 伊藤眞一

種類: 発明

番号: 2012-223455号

出願年月日: 2010年10月1日

国内外の別: 国内

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 眞一 (ITO SHIN-ICHI)

島根大学・医学部・准教授

研究者番号: 10145295

(2) 研究分担者

高田 孝二 (TAKADA KOHJI)

帝京大学・文学部・教授

研究者番号: 70100930

(3) 連携研究者

()

研究者番号: