

機関番号：34519

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590245

研究課題名 (和文) 発声-呼吸モードスイッチングにおける神経機構の解明

研究課題名 (英文) Analysis of the network for the vocalization-respiration mode switching mechanism

研究代表者

荒田 晶子 (ARATA AKIKO)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00266082

研究成果の概要 (和文)：

発声は、呼吸を随意的にコントロールすることで実現される。呼吸性神経回路をどのように制御すれば発声を実現するのかを、肺伸展受容器からの情報と発声中枢からの信号が入力している橋結合腕傍核 (Nucleus Parabrachialis; NPB) をそれらの情報統合の場と考え解析した。NPB の仕組みを調べるためには、広域神経回路が保持されている摘出橋 - 延髄 - 脊髓標本を用いた。NPB の内外側野にタングステン電極を挿入し刺激すると、刺激が入ったタイミングで吸息相が抑制され、刺激が強ければ吸息相が終止し呼息相へとスイッチした。NPB には、能動的吸息 - 呼息切り替えスイッチがあり、この現象は NMDA 受容体が GABA システムを介して行っていること、NPB に吸息相から呼息相に掛けて発火するニューロン (I-E ニューロン) が多く存在し、上位中枢からの入力ばかりでなく、肺伸展受容器からの入力にも応じる事が分かった。さらに、NPB 近傍にあるノルアドレナリン産生細胞の影響により、傍顔面神経核呼吸ニューロングループからの入力が I-E ニューロンという発火パターンになることが分かってきた。

研究成果の概要 (英文)：

The nucleus parabrachialis (NPB) is known as a respiratory modulating center and the NPB receives direct inputs from the vocal and insular cortices associated with the higher processing of emotion and speech. We examined how the NPB participates in the inspiratory-expiratory phase switching using brainstem-spinal cord preparations obtained from 0-4-day-old rats. The NPB electrical stimulation induced a transient depression or termination in the C4 inspiratory phase. This inhibition of C4 was greatly reduced by perfusion of NMDA antagonists and was blocked by GABA_A-antagonist. We identified inspiratory-expiratory (I-E) neurons that responded vagal stimulation in the NPB. These I-E neurons which might be inspiratory off-switch neurons received the inputs from the para-facial respiratory group and adrenergic modulation. These results suggested that the NPB is involved in the inspiratory-expiratory phase switching in neonatal rat; NPB might be working as a phase and/or mode switching system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：橋結合腕傍核、吸息 - 呼息切り替え機構、NMDA、GABA、新生ラット

1. 研究開始当初の背景

発声には、大きく分けて2つの系がある。1つは、呼吸の呼息ニューロンプールである後擬核(NRA)へ投射して呼息のパターンを変える系、そして、もう1つは吸息から呼息に変えて発声モードにする系である。どこの場所が呼吸のフェーズを知る最高位となるかを調べると肺伸展受容器からの信号は、孤束核(NTS)から上行して橋結合腕傍核(Nucleus Parabrachialis; NPB)まで投射することが知られており(Ezure K. 2004)、また、発声の信号はNPBに投射していることが知られている(Jürgens U, Hage SR., 2007)。そして、NPBには吸息相を停止させる吸息オフスイッチ機構があることが知られている(Dutschmann M, Herbert H., 2006)。

NPBは、呼吸の状態を知り、発声側からしゃべりたいという信号がくれば、直ちに吸息から呼息に切り替えることを実現する場所ではないかと考える。申請者は、発声-呼吸の切り替え機構を、呼吸性神経回路と発声神経回路のNPBにおける統合メカニズムと捉えて、NPBの神経機構に焦点を絞って研究する。

2. 研究の目的

呼吸モードから発声モードの切り替える仕組みを橋結合腕傍核(NPB)のレベルで明らかにする。申請者は、より単純系である摘出橋-延髄-脊髓標本を用いて、延髄の吻側腹外側野にある呼吸性ニューロンネットワークに存在する呼吸性リズムジェネレータとパターンジェネレータがNPB刺激により、どのように変化するのか、NPBのニューロンの特性、そして、NPBと呼吸中枢を含む延髄においてどのような入出力があるのか解析する。

3. 研究の方法

- (1) 電気生理学的手法を用いてNPB刺激時の延髄呼吸性ニューロンの反応性やNPBニューロンの発火パターン・特性を解析する。
- (2) (1)の反応に、どのような神経伝達物質が関わるのかを、薬理学的手法(agonist, antagonist等を用いる)により解析する。
- (3) 光学的測定法を用いてNPB刺激の時間的・空間的なネットワークの変化を解析する。さらにNPBで記録したニューロンをトリガーとしてネットワークスイッチングに関与するニューロン群を時間・空間的に解析することを試みる。

4. 研究成果

発声-呼吸モードスイッチングの仕組みを調べるため、広域神経回路が保持されている摘出橋-延髄-脊髓標本を用いた。NPBの内側野にタングステン電極を挿入し刺激す

ると、刺激が入ったタイミングで吸息相が抑制され、刺激が強ければ吸息相から呼息相へとスイッチした(図1参照)。

この場所には、能動的吸息-呼息切り替えスイッチがあり、この現象はNMDA受容体がGABAシステムを介して行っていること、NPBに吸息相から呼息

相に掛けて発火するニューロン(I-Eニューロン)が多く存在し、上位中枢からの入力ばかりでなく、肺伸展受容器からの入力にも応じる事が分かった。さらに、NPB近傍にあるノルアドレナリン産生細胞の影響により、傍顔面神経核呼吸ニューロングループからの入力がI-Eニューロンという発火パターンになることが分かってきた。また、NPBの刺激時の延髄呼吸性ニューロンにおいて、吸息性ニューロンではIPSPsが記録され、呼息性ニューロンは、EPSPsを記録した。NPB刺激では、吸息性ニューロンを抑制し呼息性ニューロンを興奮させることにより、吸息相から呼息相へ切り替えていると考えられた。さらに光学的測定法により、NPBを刺激すると同側性の呼吸中枢へ入力している事が分かり、橋では左右の独立性が強く、同側の呼吸中枢へ入力する事により呼吸を制御していることが判明した。以上の結果より、橋結合腕傍核には、能動的吸息-呼息切り替えスイッチが存在し、延髄呼吸性ニューロンによる橋NPBの役割は、主に同側性に吸息を抑制し呼息を興奮させるということが判明した。

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9件)

1. 荒田晶子 橋の呼吸調節神経機構 自律神経(The Autonomic Nervous System)

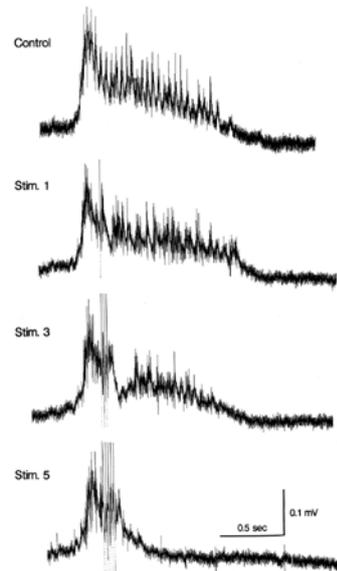


図1 C4吸息性活動におけるNPB刺激の効果C4吸息相は、NPB1回及び3回連続刺激で抑制を受け、NPB5回連続刺激により吸息相は、短縮され、吸息相から呼息相に切り替わった

49, 24-32, 2012. (査読あり)

2. Arata A. Role of nucleus parabrachialis complex in respiratory circuit in brainstem-spinal cord preparation isolated from neonatal rat. (新生ラット摘出脳幹-脊髄標本における呼吸性ニューロンネットワークに対する橋結合腕傍核の役割.) Reports of Toyoda Physical and Chemical Research Institute 2010;63:141-4. (査読なし)
3. Amano K, Fujii M, Arata S, Ogawa M, Yamakawa K, Arata A. Loss of pre-inspiratory neuron synchronicity in mice with DSCAM deficiency, Adv Exp Med Biol, 669, 15-9, 2010. (査読あり)
4. Fujii M, Arata A. Adrenaline modulates on the respiratory network development, Adv Exp Med Biol, 669, 25-8, 2010. (査読あり)
5. Okabe A, Arata A. Oku Y, Takayama C, Fukuda A. Ontogeny of Cl⁻ homeostasis in mouse hypoglossal nucleus. Adv. Exp. Med. Biol. 669:29-31, 2010. Adv. (査読あり)
6. Arata S, Amano K, Yamakawa K, Arata A. Central respiratory failure in a mouse model depends on the genetic background of the host, Adv Exp Med Biol, 669, 21-4, 2010. (査読あり)
7. Arata A. Tanaka I, Fujii M, Ezure K, Active inspiratory-expiratory phase switching mechanism exists in the neonatal nucleus parabrachialis, Adv Exp Med Biol, 669, 135-8, 2010. (査読あり)
8. Arata A. Respiratory activity of the neonatal dorsolateral pons in vitro, Respir Physiol Neurobiol, 168, 144-152, 2009. (査読あり)
9. Amano K, Fujii M, Arata S, Tojima T, Ogawa M, Morita N, Shimohata A, Furuichi T, Itohara S, Kamiguchi H, Korenberg JR, Arata A. Yamakawa K, DSCAM deficiency causes loss of pre-inspiratory neuron synchronicity and perinatal death, J Neurosci, 29, 2984-96, 2009. (査読あり)

[学会発表] (計 20 件)

1. 志賀真理、下村英毅、谷澤隆邦、荒田晶子
低酸素状態における新生児期の呼吸リズム 第 39 回自律神経研究会 (2011 年 12 月 4 日、東京)
2. Akiko Arata, Morimitsu Fujii, Ikuko Tanaka, Kazuhisa Ezure
Adrenergic modulation on the respiratory phase-switching neurons in nucleus parabrachialis complex in the neonatal rat
Neuroscience2011: 41st annual meeting of Neuroscience, (2011 年 11 月 13 日、Washington D. C.)
3. 荒田晶子、下村英毅、藤井盛光、谷澤隆邦
橋結合腕傍核における呼吸性ニューロンの特性 第 64 回日本自律神経学会 (2011 年 10 月 28 日、秋田)
4. Akiko Arata, Hideki Shimomura, Kenji Amano, Satoru Arata, Kazuhiro Yamakawa, Takakuni Tanizawa
The differences of the respiratory network between C57BL/6 and Balb/c in Dscam KO mice. The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (2011 年 9 月 17 日、横浜)
5. Mari Ito-Shiga, Nobuko Kanbara-Kume, Hideki Shimomura, Takakuni Tanizawa, Akiko Arata
Cyanide modulates on the cervical activity in neonatal rat brainstem-spinal cord preparation The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, (2011 年 9 月 17 日、横浜)
6. Akiko Arata Analysis of the respiratory rhythm genesis using knock-out mice with respiratory failure (招待講演)
Experimental Biology 2011, (2011 年 4 月 12 日、Washington D. C.)
7. Mari Ito-Shiga, Nobuko Kanbara-Kume, Akiko Arata Effects of sodium cyanide on cervical root activity in brainstem-spinal cord preparation
第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日

本解剖学会総会 全国学術集会合同大会
2011年3月29日、横浜

8. Akiko Arata The structure and function of the respiratory center viewing from gene knock-out mice (シンポジウム)
第88回日本生理学会大会・第116回日本解剖学会総会 全国学術集会合同大会 (2011年3月28日、横浜)
9. 荒田 晶子, 藤井 盛光, 伊藤 正男.
小脳神経回路発達における呼吸活動の役割 (口頭発表) 第38回自律神経生理研究会 2010. 12月3日、東京)
10. Itaru Yazawa, Ryusuke Yoshimi, Daniel Kim, Tomohiko Kanno, Akiko Arata, Michael O' Donovan, Keiko Ozato
Electrophysiological analysis of the spinal network function regarding locomotor-like activity in the *in situ* adult interferon regulatory factor 8 (IRF8) knockout mice.
Neuroscience2010: 40th annual meeting of Neuroscience, (2010年11月15日、サンディエゴ)
11. 荒田 晶子, 藤井 盛光.
発声 - 呼吸切り替えにかかわる橋結合腕傍核の神経機構 (口頭発表) 第63回日本自律神経学会 (2010年10月22日、横浜)
12. Akiko Arata (招待講演)
Nucleus Parabrachialis (NPB) gate mechanism: Coordination between the information of speech and respiration
US - JAPAN Brain Research Cooperative Program Workshop The NeuroPhysiome: Bridging computational neuroscience and systems biology. (2010年10月7日、沖縄)
13. Akiko Arata, Akihito Okabe, Chitoshi Takayama, Atsuo Fukuda, Masao Ito
Correlated expression of the neuron-specific potassium chloride cotransporter 2 (KCC2) in the neonatal cerebellum and inferior olive.
Neuro2010 (Joint Conference of The 33rd annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, The 53rd Annual Meeting of Japanese Society for Neurochemistry and The 20th Annual Meeting of Japanese Neural Network Society.) (2010年9月17日、神戸)

14. Naoko Nisimaru, Akiko Arata, Masao Ito
Hypothalamic orexinergic neurons and flocculus Purkinje cells regulate cardiovascular defense reactions
Neuro2010 (Joint Conference of The 33rd annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, The 53rd Annual Meeting of Japanese Society for Neurochemistry and The 20th Annual Meeting of Japanese Neural Network Society. (2010年9月17日、神戸)
15. Akiko Arata, Morimitsu Fujii, Junichi Nakai
Adrenergic modulation of the pontine respiratory neurons in nucleus parabrachialis complex in the neonatal rat
The 87th Annual Meeting for the Physiological Society of Japan, (2010年5月20日、盛岡)
16. Arata S, Amano K, Yamakawa K, Arata A.
Occurrence of central respiratory failure in mouse model depend on host genetic background. (Poster presentation) 11th Oxford Conference 2009 (2009年7月25日、奈良)
17. Amano K, Fujii M, Arata S, Ogawa M, Yamakawa K, Arata A.
DSCAM deficiency causes loss of pre-inspiratory neuron synchronicity and perinatal death. (Symposium speaker) 11th Oxford Conference 2009, (2009年7月24日、奈良)

[その他]

1. 荒田晶子, Erik De Schutter
Bridging computational neuroscience and system biology
日米科学技術協力事業「脳研究」分野 研究情報交換セミナー成果報告
(日米科学技術協力事業「脳研究」分野 生理学研究所 2011年12月7日、岡崎)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒田 晶子 (ARATA AKIKO)
兵庫医科大学・医学部・准教授
研究者番号：00266082