

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11916

研究課題名(和文) 重力変化に対する耳石・前庭系の適応：過重力で微小重力が模擬できるか？

研究課題名(英文) Adaptation of vestibular system to gravitational change: can microgravity be simulated by hypergravity?

研究代表者

森田 啓之 (Morita, Hironobu)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80145044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：微小重力環境と過重力環境で同じような前庭系の変化が起こるかどうかを調べるため、前庭器を介する血圧調節と前庭系の神経経路(耳石器・前庭神経核)に着目して調べた。4-6ヵ月宇宙に滞在した宇宙飛行士と2g環境で2-4週間飼育したラットにおいて、ともに前庭器を介する血圧調節の感受性低下が認められ、起立時の血圧が低下した。35日間宇宙に滞在したマウスと2gで4週間飼育したマウスの耳石器と前庭神経核の遺伝子発現を調べた。球形嚢と卵形嚢および前庭神経核で多くの遺伝子発現変化が認められた。これらの結果は、前庭機能の可塑性変化においては、微小重力の代用として過重力を使える可能性を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：In order to examine whether the same plastic alteration of vestibular system occurs, vestibular-mediated blood pressure control and changes in gene expression in the vestibular neural pathway (vestibular sensory epithelium vestibular nuclei) were examined. Both astronauts who stayed in space for 4 to 6 months and rats kept under 2 g environment for 2 to 4 weeks showed a suppression of vestibular mediated blood pressure regulation and an orthostatic hypotension. Gene expression of vestibular sensory epithelium and vestibular nuclei of mice that stayed in space for 35 days and mice raised for 4 weeks at 2 g were examined. Many changes in gene expression were observed in the sacculus and utricle. These results suggest the possibility of using hypergravity as a substitute for microgravity in the plastic change of the vestibular function.

研究分野：生理学，宇宙医学

キーワード：微小重力 過重力 前庭器官 前庭神経核 前庭-血圧反射 エピゲノム解析

1. 研究開始当初の背景

前庭系の機能低下に関する我々のこれまでの成果を図1に示す。

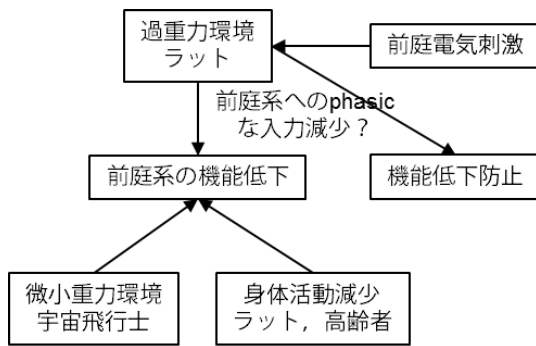


図1. 重力環境の変化が前庭機能に及ぼす

過重力負荷に対する前庭系の可塑性

前庭系は可塑性が強いことが知られており、異なる重力環境に曝されると前庭を介する調節力が低下する可能性がある。我々は、過重力環境下で飼育したラットを1g環境に戻すと、前庭-血圧反射および前庭系を介する運動機能が低下することを報告した (Abe et al., Am J Physiol, 2008)。また、過重力環境下で飼育すると、重力刺激に対する前庭神経核および室傍核の応答が低下した (Abe et al., J Appl Physiol, 2013, Abe et al., J Appl Physiol, 2010, Morita et al., Neurosci Lett, 2007)。

過重力環境下ではラットの活動は低下し、頭部加速度 (前庭器への phasic な入力) は1g環境下の13%に低下していた。従って、過重力環境そのものではなく、過重力環境に伴う活動低下による日々の前庭系への入力が低下することにより、前庭-血圧反射の可塑性が引き起こされた可能性がある (use-dependent plasticity)。実際、ラットの行動を抑制して飼育すると、前庭-血圧反射の調節力が低下した (Abe et al., Neurosci Lett, 2010)。また、末梢前庭器に装着した電極を介し、感知閾値以下の弱い刺激 (10 μA, 500 ms, 1 Hz) で2週間の過重力負荷期間中前庭系を刺激し続けると、前庭系の機能低下を予防することができた (Abe et al., J Appl Physiol, 2009)。さらに、日常の活動が低下する高齢者でも前庭系を介する調節機能が低下していた (Tanaka et al., Auton Neurosci, 2009)。

微小重力暴露に対する前庭系の可塑性 (国際宇宙ステーション実験)

現在進行中の宇宙飛行士を被験者とした研究において、仮説「4-6カ月の宇宙滞在により前庭系の可塑性が起こり、前庭-血圧反射の調節力が低下する」を検証している。宇宙飛行前には臥位から立位への姿勢変換により引き起こされる前庭-血圧反射により10-15 mmHg程度の昇圧が起こる。宇宙から帰還1日および2週間後には前庭-血圧反

射による昇圧応答は完全になくなるが、2ヵ月後には宇宙飛行前の値に回復する。

現在、4名のデータであるが、2017年度中に合計6名の実験が完了予定である。

マウスを用いた宇宙実験の準備状況

研究代表者高橋智筑波大学教授の「マウスを用いた宇宙環境応答の網羅的評価」に分担研究者として参加し、2016年に国際宇宙ステーションで4週間飼育するマウスの耳石前庭系の遺伝子発現・エピゲノム解析を行う予定である。

微小重力環境の模擬としての過重力環境

地上で長期にわたり微小重力環境を得る方法はなく、微小重力環境の影響を調べるためには宇宙実験以外ない。しかし、表1に示すように筋・骨以外は、微小重力と過重力の影響は類似しており、微小重力環境の模擬として遠心機により簡単に作れる過重力環境が使用できる可能性がある。特に過重力の前庭系への影響が phasic な入力が増加することによる use-dependent plasticity であればその可能性は高くなると思われる。

表1. 微小重力および過重力により引き起こされる変化

	微小重力	過重力
体重	増加が抑制	増加が抑制
除脂肪体重	減少	減少
体液量	減少	減少
筋肉	委縮	部分的肥大
骨量	減少	不変 or 増加
前庭機能	低下	低下
心・循環系機能	低下	低下

2. 研究の目的

地球上の生物は1g環境に適応するように進化して、1g環境に適応したシステムが構築されている。そのため、1gとは異なる宇宙の微小重力環境では種々の適応障害 (重力酔いを含む前庭系の失調、骨・筋量減少、起立耐性低下等) が起こる。対策をたてるためには微小重力環境下での実験が必須であるが、その機会は非常に少なく、研究の進捗のためには、微小重力環境の模擬となる環境が必要である。本申請の目的は、「微小重力環境による前庭系の変化と同じような変化が過重力環境でも起こる」との仮説の基、微小重力環境の模擬としての過重力環境を評価することである。

3. 研究の方法

過重力および微小重力により生じる可塑性の中枢経路

過重力環境 (2-4週間) あるいは微小重力環境 (35日間) で飼育したマウスの耳石感覚上皮、前庭神経節、前庭神経核の遺伝子発現変化を調べるため、RNAseq および RT-PCR

を行った。

長期微小重力環境による前庭 - 血圧反射の可塑性

国際宇宙ステーション滞在 (4 - 6 ヶ月) 前後の宇宙飛行士 (n=6) を被験者として、60° head-up tilt (HUT) 時の血圧応答を調べた。前庭 - 血圧反射の大きさは、前庭系を外部から遮断する galvanic vestibular stimulation (GVS) 有と無の HUT 時の血圧応答の差から求めた。

4. 研究成果

過重力および微小重力により生じる可塑性の中樞経路

骨迷路の 10 μm 切片からレーザーマイクロダイセクションで球形嚢感覚上皮、卵形嚢感覚上皮、前庭神経節を切り出し、RNAseq を実施した (図 2)。



図 2. 骨迷路の切片。

前庭神経節では、微小重力および 2 g 負荷により顕著に変化する遺伝子はほとんどなかったが、球形嚢感覚上皮および卵形嚢感覚上皮では多くの遺伝子発現が変化した。

球形嚢感覚上皮では、2 g 環境に反応して複数の難聴関連遺伝子に変化した。例えば、gap junction beta 2 (connexin 26) 遺伝子は常染色体優性遺伝の難聴原因遺伝子として報告されている。Cochlin も常染色体優性遺伝の難聴原因遺伝子として報告されており、内耳に限局した発現パターンを示す。Protein tyrosine phosphatase, receptor type Q 遺伝子も常染色体劣性遺伝の難聴原因遺伝子として報告されている。これらのことから、蝸牛の感覚上皮・有毛細胞と類似の機能が球形嚢で変化していることを示唆しており、めまいを伴う難聴などの発症機構に関連している可能性がある。

一方、卵形嚢感覚上皮では、球形嚢とは異なる遺伝子群、特にマイクロ RNA 群が変化していた。miR-1983, miR-6240 については文献にもほとんど情報がなかったが、miR-183 は、内耳神経、三叉神経などに限局して発現し、さらに、その標的遺伝子には軸索伸長、ポストシナプティックなシグナリングに関わる因子が複数あり、感覚上皮からの神経系の制御を行っている可能性が示唆された。

微小重力に対する耳石感覚上皮の変化は、過重力に対する変化程顕著ではなかった。これはサンプル回収に 3 日間を要したことが関係している可能性がある。ただ、地上コントロールでは球形嚢と卵形嚢には遺伝子発現レベルに差があるが、この差が微小重力群で

は失われ、球形嚢と卵形嚢の機能差が無くなった。この結果は、球形嚢と卵形嚢の機能差は継続的な重力シグナルによって維持されていることを示唆する。

耳石感覚上皮からのファーストニューロンである前庭神経核でも特徴ある変化が見られた。特に微小重力では、Klotho, 副腎皮質ホルモントランスポーター, vasoactive intestinal peptide 等の加齢とともに発現が変化し、変異が顕著な老化フェノタイプを示す遺伝子が大きく動いた。例えば Klotho は神経系の老化や網膜の色素細胞の機能に関わり、変異マウスは骨密度低下、歩行障害を示すなど、宇宙飛行士に現れる症状と似ており、「宇宙滞在は老化促進因子である」を直接説明する分子である可能性を示唆する。

また、過重力と微小重力両方で前庭神経核のグルタミン酸受容体 (Gria1) と GABA 受容体 (Gabra1) の発現が有意に変化した。Gria1 は、微小重力、過重力ともその発現が減少したが、Gabra1 は微小重力では減少、過重力では増加と逆方向に動いた (図 3)。

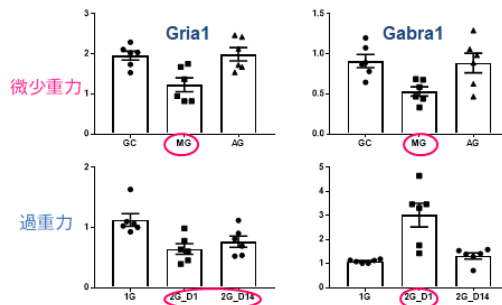


図 3. 前庭神経核の Gria1 および Gabra1 の発現に及ぼす微小重力 (上段)、過重力 (下段) の影響。

長期微小重力環境による前庭 - 血圧反射の可塑性

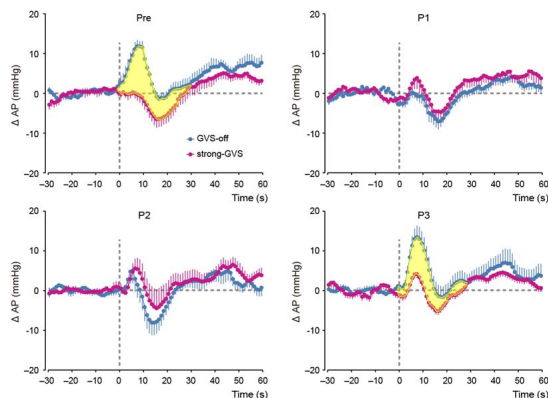


図 4. 60° head-up tilt 時の血圧応答。青は GVS 無、赤は GVS 有、その差の黄色の部分が前庭 - 血圧反射の大きさを示す。Pre: 宇宙滞在前, P1: 帰還 1 - 4 日後, P2: 帰還 2 週間後, P3: 帰還 2 ヶ月後。

GVS により重力変化に伴う前庭系への入力がマスクされ、前庭 - 血圧反射が起こらな

くなる。従って、GVS無のHUT時血圧応答とGVS有のHUT時血圧応答の差は前庭 - 血圧応答の大きさを示す(図4の黄色の部分)。帰還1-4日後および2週間後にはHUT直後の血圧上昇がみられず血圧が低下し、GVS無 - 有の差はなくなった。帰還2ヵ月後には、HUT直後の血圧上昇がみられるようになり、黄色の部分が回復した。以上の結果から、帰還直後には前庭 - 血圧反射は全く働かなくなり、その回復に2ヵ月を要することが分かった。

私達は、これまで過重力負荷および行動抑制により前庭 - 血圧応答の感度が低下することを示してきた。これと同じ、感度低下が微小重力によっても引き起こされた。この実験結果は、前庭機能の可塑的变化においては、微小重力の代用として過重力を使える可能性を示唆するものである。

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12件, 全て査読有)

1. Yamaoka Y, Abe C, Morita H: Comparison among ultrasonic, electrical apparatus, and toxic chemicals for vestibular lesion in mice. *Journal of Neuroscience Methods*, 295: 58-67, doi: org/10.1016/j.jneumeth.2017.11.021, 2018.
2. Kawao N, Morita H, Nishida K, Obata K, Tatsumi K, Kaji H: Effects of hypergravity on gene levels in anti-gravity muscle and bone through the vestibular system in mice. *Journal of Physiological Sciences*, Sep 7. doi: 10.1007/s12576-017-0566-4, 2017.
3. Shiba D, Mizuno H, Yumoto A, Shimomura M, Kobayashi H, Morita H, Shimbo M, Hamada M, Kudo T, Shinohara M, Asahara H, Shirakawa M, Takahashi S: Development of new experimental platform 'MARS'-Multiple Artificial-gravity Research System-to elucidate the impacts of micro/partial gravity on mice. *Scientific Reports*, Sep 7:7(1):10837. doi:10.1038/s41598-017-10998-4, 2017.
4. Ishikawa C, Li H, Ogura R, Yoshimura Y, Kudo T, Shirakawa M, Shiba D, Takahashi S, Morita H, Shiga T: Effects of gravity changes on gene expression of BDNF and serotonin receptors in the mouse brain. *PLoS One*, Jun 7:12(6):e0177833. doi: 10.1371/journal.pone.0177833, 2017.
5. Kawao N, Morita H, Obata K, Tatsumi K, Kaji H. Role of follistatin in muscle and bone alterations by gravity change in mice. *Journal of Cellular Physiology*, May 4, doi: 10.1002/jcp.25986, 2017.
6. Morita H, Yamaguchi A, Shiba D, Shirakawa M, Takahashi S: Impact of a simulated gravity load for atmospheric reentry—10 g for 2 minutes—on conscious mouse. *Journal of Physiological Sciences*, 67: 531-537, doi: 10.1007/s12576-017-0526-z, 2017.
7. Shimode T, Kawao N, Tamura Y, Morita H, Kaji H: Novel roles of FKBP5 in muscle alteration induced by gravity change in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 479: 602-606, doi: 10.1016/j.bbrc.2016.09.126, 2016.
8. Morita H, Abe C, Tanaka K: Long-term exposure to microgravity impairs vestibulo-cardiovascular reflex. *Scientific Reports*, 6:33405, doi: 10.1038/srep33405, 2016.
9. Shinbo M, Kudo T, Hamada M, Jeon H, Imamura Y, Asano K, Okada R, Tsunakawa Y, Mizuno S, Yagami K, Ishikawa C, Li H, Shiga T, Ishida J, Hamada J, Murata K, Ishimaru T, Hashimoto M, Fukamizu A, Yamane M, Ikawa M, Morita H, Shinohara M, Asahara H, Akiyama T, Akiyama N, Asanuma H, Yoshida N, Zhou R, Wang Y, Ito T, Kokubo Y, Noguchi T, Ishimine H, Kurisaki A, Shiba D, Mizuno H, Shirakawa M, Ito N, Takeda S, Takahashi S: Ground-based assessment of jaxa mouse habitat cage unit by mouse phenotypic studies. *Experimental Animals*, 65(2): 175-187, doi: 10.1538/expanim.15-0077, 2016.
10. Tateishi R, Akiyama N, Miyauchi M, Yoshinaga R, Sasanuma H, Kudo T, Shimbo M, Shinohara M, Obata K, Inoue J, Shirakawa M, Shiba D, Asahara H, Yoshida N, Takahashi S, Morita H, Akiyama T: Hypergravity provokes a temporary reduction in CD4+CD8+ thymocyte number and a persistent decrease in medullary thymic epithelial cell frequency in mice. *PLoS One*, 10(10): e 0141650, doi: 10.1371/journal.pone.0141650, 2015.
11. Morita H, Obata K, Abe C, Shiba D, Shirakawa M, Kudo T, Takahashi S: Feasibility of a short-arm centrifuge for mouse hypergravity experiments. *PLoS One*, 10(7): e0133981, doi: 10.1371/journal.pone.0133981, 2015.
12. Abe C, Nagai Y, Yamaguchi A, Aoki H, Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sugimachi M, Morita H: Reduced carotid baroreceptor distensibility-induced baroreflex resetting contributes to impairment of sodium regulation in rats fed a high-fat diet. *American Journal of Physiology*, 308: H942-H950, doi: 10.1152/ajpheart.00697.2014, 2015.

[学会発表](計 8件)

1. 森田啓之: What is a role of the vestibular mediated autonomic reflex? 日本生理学会大会, 2018.
2. 森田啓之: 短期および長期の重力変化に対する前庭系を介した応答とその可塑的变化. 生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 2017.
3. Morita H: Long-term exposure to microgravity impairs head-up tilt-induced vestibulo-cardiovascular reflex. ISAN2017, 2017.
4. 森田啓之: 「前庭 - 血圧反射の可塑性とその対策 (V-C Reflex)」の成果報告と 2015 年 FS「長期宇宙滞在により引き起こされる耳石前庭機能障害の評価 (Labyrinth)」の準備状況. 宇宙航空環境医学会, 2017.
5. Morita H: Impact of a simulated gravity load for atmospheric reentry on conscious mouse. 日本生理学会大会, 2017.
6. 森田啓之: 宇宙から帰還後の循環制御と NASA での実験. 循環制御学会大会, 2016.
7. 森田啓之: FY2009 国際公募ライフサイエンスおよび宇宙医学分野国際宇宙ステーション利用実験テーマ: Plastic alteration of vestibulo-cardiovascular reflex and its countermeasure (前庭 - 血圧反射の可塑性とその対策). JCASMHR 研究開発報告会, 2016.
8. Morita H: Adaptation of vestibular function to a different gravitational environment. 11th World Congress of the International Society for Adaptive Medicine, 2015.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
 発明者 :
 権利者 :
 種類 :
 番号 :
 出願年月日 :
 国内外の別 :

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 :

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森田 啓之 (MORITA, Hironobu)
 岐阜大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号 : 80145044

(2)連携研究者

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

村谷 匡史 (MURATANI, Masafumi)
 筑波大学・医学医療系・准教授
 研究者番号 : 50730199