

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：33705

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06850

研究課題名(和文)筋量・骨量減少，平衡機能障害に対する前庭刺激を応用した新たな治療法の開発

研究課題名(英文)Development of a new therapy applying vestibular stimulation to muscle atrophy, bone loss, and equilibrium dysfunction

研究代表者

森田 啓之(Morita, Hironobu)

東海学院大学・健康福祉学部・教授(移行)

研究者番号：80145044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：重力環境変化に伴う前庭機能の可塑的变化に起因する身体的問題である起立性低血圧，平衡機能障害，筋・骨量減少は地上の活動量が低下した高齢者にもみられる問題である。本研究では，前庭機能の可塑的变化の中枢機序を調べ，これらの問題が微小電流前庭電気刺激(GVS)により改善するかどうかを検討した。過重力下で飼育したラットでは，前庭神経核直接刺激に対する応答が低下していることから，受容器からのファーストニューロンで可塑的变化が起こっている。また，過重力負荷による平衡機能障害は微小電流GVSにより改善された。さらに，宇宙から帰還後の宇宙飛行士にみられる平衡機能障害も微小電流GVSにより改善された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「宇宙は老化のアクセラレータである」と言われるように，宇宙飛行に伴う医学的問題 平衡機能障害，起立性低血圧，筋量・骨量減少 は高齢者にもみられる症状であり，高齢者では活動量減少に伴う前庭への入力減少により，前庭機能が低下して，症状を引き起こしている可能性がある。本研究により，これらの医学的問題に対する予防・治療法としての微小電流GVSの可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Orthostatic hypotension, equilibrium dysfunction, and muscle / bone loss, which are physical problems caused by plastic changes in vestibular function due to changes in the gravitational environment, are also problems in elderly people with reduced ground activity. In this study, we investigated the central mechanism of plastic changes in vestibular function and examined whether these problems could be improved by microcurrent galvanic vestibular stimulation (GVS). In rats reared under hypergravity, the response to direct vestibular nuclei stimulation was reduced, suggesting that plastic changes occurred in the first neurons from the receptor. In addition, the equilibrium dysfunction due to the hypergravity load was improved by the minute current GVS. In addition, the equilibrium dysfunction seen in astronauts after returning from space was also improved by the minute current GVS.

研究分野：生理学，宇宙医学

キーワード：微小重力 過重力 前庭神経核 平衡機能障害 筋-骨連関 前庭電気刺激

1. 研究開始当初の背景

前庭系を介する筋・骨量調節

重力(直線加速度)の感知器官である耳石前庭系は、姿勢制御、眼球運動、自律神経・血圧等多くの身体機能調節に関与していることが知られている。また最近、末梢前庭器の破壊により骨のリモデリングが起こることから、前庭系と骨代謝の関連が注目を集めている(Vignaux et al., J Bone Miner Res, 2013)。私達もマウスを3g環境下で4週間飼育した後、筋と骨の解析を行い、過重力による筋量と骨量の増加が、前庭破壊や交感神経系遮断薬投与によって抑制されることを見出し、過重力が前庭系と交感神経系を介して筋量と骨量を増加させることを明らかにした(Kawao et al., Physiol Rep, 2016)。この結果は、単に物理的負荷の増加ではなく、前庭-交感神経-受容体を介した情報が筋量・骨量増加に重要な役割を果たしていることを示唆している。

前庭系の可塑的变化

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。私達は、過重力環境下で飼育したラット・マウス、35日間宇宙滞在したマウス、6か月間宇宙滞在した宇宙飛行士において、前庭機能を介する姿勢制御と血圧調節機能が低下することを報告した(Abe et al., J Appl Physiol, 2013; Morita et al., Sci Rep, 2016; Shiba et al., Sci Rep, 2017)。これらの障害は一過性であり、1-2週間で回復する。宇宙の微小重力環境下では、姿勢変化に伴う耳石前庭系への入力ほぼゼロになる。また、過重力環境下ではラットの活動量は低下し、頭部に装着した加速度計で測定した前庭系への入力は1g環境下の10%程度に低下する。従って、重力環境そのものではなく、重力環境変化に伴う前庭系へのphasicな入力減少することにより、前庭系の可塑性が引き起こされた可能性がある(use-dependent plasticity)。この可能性を調べるため、1g環境下で行動制限して飼育したラットにおいて前庭-血圧反射の調節力を測定し、その低下を確認した(Abe C, Neurosci Lett, 2010)。さらに、日常の活動が低下している高齢者において、姿勢変換時の前庭-血圧反射の調節力が低下し、起立時の血圧が低下することを報告した(Tanaka K, Autonomic Neurosci, 2009)。

閾値下の前庭電気刺激 GVS により前庭系の機能回復

Galvanic vestibular stimulation (GVS)とは、耳介後部に置いた電極を介して末梢前庭系を電気刺激する方法であり、感知閾値以上の強いGVSでは刺激方向に体幹が傾く感覚が起こることを利用して、前庭機能検査やVRに活用されている。一方、感知閾値以下の弱いGVSにより、両側前庭障害患者の平衡機能が改善され(Iwasaki et al., Neurology, 2014)、その効果は数時間にわたり持続する(Fujimoto et al., Sci Reports, 2016)。また、地上に帰還後の宇宙飛行士の40-60%に起立性低血圧が発生するとの報告がある(Buckey et al., J Appl Physiol, 1996)。私達はこの機序として前庭-血圧反射の機能低下が関与していることを報告し、長期宇宙滞在から帰還後に起こる起立性低血圧が、閾値下のGVSにより改善される可能性を示した(Morita et al., Sci Rep, 2016)。これらの現象は、閾値下のノイズが存在することにより、入力に対する出力が増強される(前庭系の感度が増加する)確率共振で説明できると考えられている。

2. 研究の目的

重力環境変化に伴う前庭機能の可塑的变化に起因する身体的問題である起立性低血圧、平衡機能障害、筋・骨量減少は地上の活動量が低下した高齢者にもみられる問題である。本研究の目的は、これらの前庭機能低下に起因する身体的問題に対する感知閾値以下の微小電流GVSによる改善効果とその機序を解明することである。

3. 研究の方法

前庭系可塑的变化の中枢機序

過重力負荷に対する前庭系可塑的变化の中枢機能を調べるため、光遺伝学的ツールを用い、前庭神経核のCAMK2発現ニューロン刺激に対する応答性を2g負荷前後で調べた。ウイルスベクターAV2-CaMK2a-hChR2(H134R)-mCherry, AAV2-CaMK2a-eArchT3.0-EYFP, AAV2-CaMK2a-mCherryをラットの片側前庭神経核に投与後、光ファイバーを挿入した。さらに、血圧測定用カテーテルと腎交感神経活動測定用電極を埋め込み、術後の回復期間の後、意識下のラットを用いて実験を行った(図1)。



図1. CAMK2プロモーター下でChR2を発現させた前庭神経核ニューロンを光刺激して、腎交感神経と血圧の応答を2g負荷開始前、開始1日後、3日後、5日後に検討。

過重力負荷による平衡機能障害に対する前庭刺激の効果

過重力環境下でラットを飼育すると、1g環境に戻した時に平衡機能障害が起こることが知られている。この平衡機能障害が微小電流GVSにより予防できるかどうかを検討した。刺激電極

を経外耳道的に前庭窓に埋め込み、小型刺激装置を肩甲骨間に固定した。この刺激装置を用いて、10 μ A、1 Hz の刺激を1分間、9分休止後また1分間を3g飼育期間中(2週間)繰り返した。3g負荷前後でロータロッドテストを実施し、ロッド上での滞在時間を測定して平衡機能を評価した。

宇宙飛行後の前庭機能評価と微小電流 GVS の効果

宇宙滞在(6か月間)後の低下した平衡機能が微小電流 GVS で改善するかどうかを、宇宙飛行士において検討した。平衡機能検査として重心動揺検査、球形嚢機能検査として cervical vestibular evoked myogenic potential (cVEMP)、卵形嚢機能として ocular vestibular evoked potential (oVEMP)、半規管機能として air caloric test を実施した。

過重力負荷により変化する筋-骨連関関連遺伝子の探索

過重力に反応して筋肉と骨を結ぶ液性因子を明らかにするために、3g環境で4週間飼育したマウスの DNA マイクロアレイ分析を実施した。

4. 研究成果

前庭可塑的变化の中枢機序

片側の前庭核複合体における CAMK2 発現ニューロンの興奮性光刺激は反対側、抑制性光刺激は同側への身体傾斜を誘発した。吻側延髄腹外側野に投射する前庭神経核光刺激は、交感神経興奮、昇圧反応を示した。この応答は、2g負荷開始1日後から減少し、5日目には $22.4 \pm 3\%$ まで減少した(図2)。以上の結果から、過重力負荷に対する前庭系を介する調節機能の可塑的变化に少なくとも前庭神経核 吻側延髄腹外側野の応答性低下が関与していることが分かった。

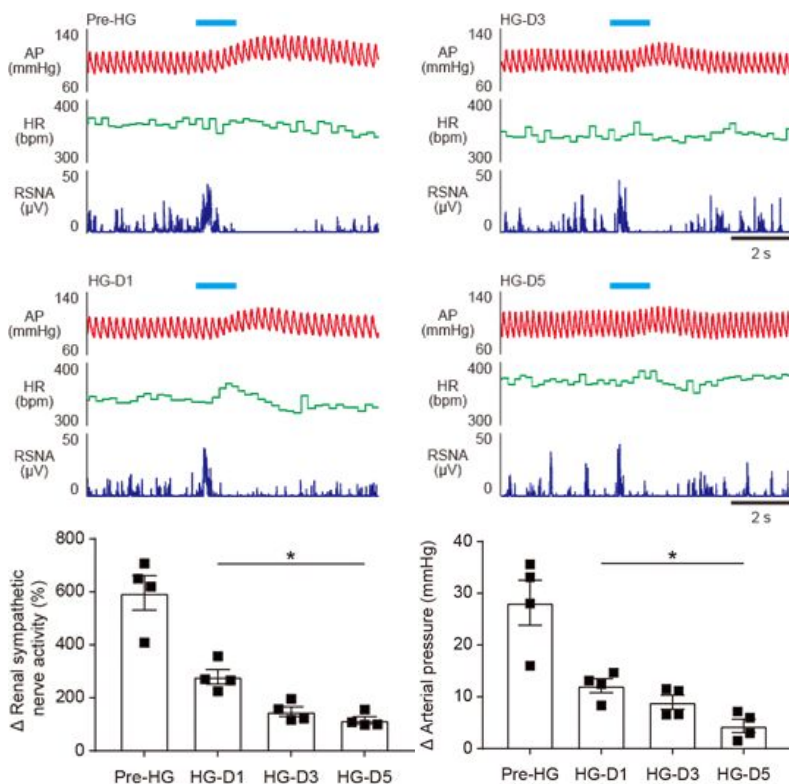


図2. 前庭神経核光刺激(青線)に対する動脈血圧(AP)、心拍数(HR)、腎交感神経活動(RSNA)の応答。刺激によりRSNAが増加してAPが上昇する。2g負荷前(Pre-HG)に比べ、負荷開始1日後(HG-D1)、3日後(HG-D3)、5日後(HG-D5)はRSNAとAPの応答が有意に低下する。

過重力負荷による平衡機能障害に対する前庭刺激の効果

微小電流 GVS を行わないラットでは、ロータロッド滞在時間が3g負荷前 256 ± 19 s から負荷後 32 ± 13 s へと有意に減少したが、GVS を行ったラットでは、有意な減少は見られなかった(図3)。この結果は、平衡機能障害対策としての微小電流 GVS の有効性を示唆する。

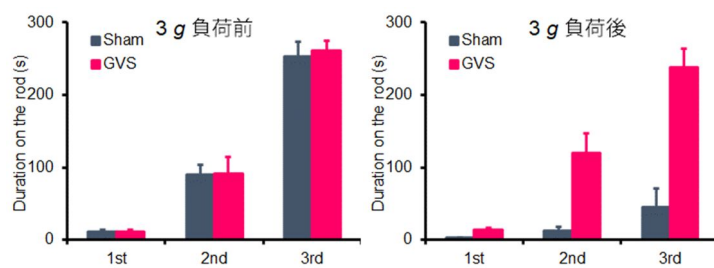


図3. 3g環境下で2週間飼育前後に実施したロータロッドテストでのロッド上滞在時間。3g負荷前後とも1,2,3回目の試行に従い、ロッド上の滞在時間は長くなる。また、Shamラットでは、負荷前に比べ負荷後に有意に滞在時間が短縮するのに対して、3g飼育中に微小電流 GVS を行ったラットでは、滞在時間の短縮はみられなかった。

宇宙飛行後の前庭機能評価と微小電流 GVS の効果

宇宙から帰還 1 - 3 日後、球形嚢機能は低下したが、卵形嚢と半規管の機能は保たれていた。これに伴い、閉眼時の重心動揺が悪化した。この悪化は微小電流 GVS により改善した。これらの変化は、帰還後 2 週間で飛行前の状態に回復した。これらの結果は、微小重力環境により半規管系は影響を受けないが、耳石系、特に垂直に配置されている球形嚢の機能が低下することが分かった。この機能低下に伴い平衡機能も低下し、その低下は微小電流 GVS により改善される可能性が示唆された。

過重力負荷より変化する筋 - 骨連関関連遺伝子の探索

過重力負荷によりヒラメ筋において olfactomedin 1 (OLFM1) の発現が増加し、前庭破壊マウスでは、OLFM1 発現増加と血清 OLFM1 増加が抑制された。また、OLFM1 はマウス骨髄細胞からの破骨細胞形成を阻害し、マウス骨芽細胞における RANKL 発現を抑制した。血清 OLFM1 濃度は、ヒラメ筋の OLFM1 mRNA 量および骨梁ミネラル密度と正に相関した。以上の結果から、過重力負荷によりヒラメ筋での発現が増加する OLFM1 は、破骨細胞形成と RANKL 発現を抑制することにより、骨量増加にも貢献していることが示唆された。今後、OLFM1 を指標として微小電流 GVS の効果を検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kawao Naoyuki, Morita Hironobu, Iemura Shunki, Ishida Masayoshi, Kaji Hiroshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Roles of Dkk2 in the Linkage from Muscle to Bone during Mechanical Unloading in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2547 ~ 2547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21072547	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 Chikara, Yamaoka Yusuke, Maejima Yui, Mikami Tomoe, Yokota Shigefumi, Yamanaka Akihiro, Morita Hironobu	4. 巻 3
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 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 13
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 Shimoide Takeshi, Kawao Naoyuki, Morita Hironobu, Ishida Masayoshi, Takafuji Yoshimasa, Kaji Hiroshi	4. 巻 107
2. 論文標題 Roles of Olfactomedin 1 in Muscle and Bone Alterations Induced by Gravity Change in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Calcified Tissue International	6. 最初と最後の頁 180 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00223-020-00710-6	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 Morita H, Kaji H, Ueta Y, Abe C	4. 巻 70
2. 論文標題 Understanding vestibular-related physiological functions could provide clues on adapting to a new gravitational environment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 17 (2020)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-020-00744-3	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 Ohira T, Ino Y, Nakai Y, Morita H, Kimura A, Kurata Y, Kagawa H, Kimura M, Egashira K, Moriya S, Hiramatsu K, Kawakita M, Kimura Y, Hirano H	4. 巻 217
2. 論文標題 Proteomic analysis revealed different responses to hypergravity of soleus and extensor digitorum longus muscles in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Proteomics	6. 最初と最後の頁 103686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jprot.2020.103686	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 Kawao N, Takafuji Y, Ishida M, Okumoto K, Morita H, Muratani M, Kaji H	4. 巻 15
2. 論文標題 Roles of the vestibular system in obesity and impaired glucose metabolism in high-fat diet-fed mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0228685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0228685	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
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 Journal of Physiological Sciences	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 Kawao Naoyuki, Morita Hironobu, Nishida Kazuaki, Obata Koji, Tatsumi Kohei, Kaji Hiroshi	4. 巻 68
2. 論文標題 Effects of hypergravity on gene levels in anti-gravity muscle and bone through the vestibular system in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 609 ~ 616
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12576-017-0566-4	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6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 森田啓之, 安部力, 村谷匡史, 高橋智, 芝大
2. 発表標題 重力センサー耳石前庭系に対する微小重力の影響
3. 学会等名 日本薬物動態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田啓之
2. 発表標題 重力生理学：動物実験から被験者実験へ
3. 学会等名 日本実験動物技術者協会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田啓之
2. 発表標題 宇宙で快適に生きるために：前庭系の可塑的变化
3. 学会等名 日本自律神経学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田啓之, 安部力, 村谷匡史
2. 発表標題 長期宇宙滞在による耳石器の可塑的变化
3. 学会等名 宇宙生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田啓之, 安部力, 村谷匡史
2. 発表標題 長期宇宙滞在により引き起こされる前庭系の可塑的变化
3. 学会等名 日本医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Morita Hironobu
2. 発表標題 Impact of long-term stay in micro-gravity on vestibular function
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies (国際学会)
4. 発表年 2019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	安部 力 (Abe Chikara) (10585235)	岐阜大学・大学院医学系研究科・准教授 (13701)	

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