

令和 2 年 5 月 14 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19950

研究課題名（和文）がん組織等の自律神経線維終末動態のMEMS神経マシン・2光子蛍光イメージング解析

研究課題名（英文）A development of MEMS autonomic neural recording device and two-photon neural imaging

研究代表者

神谷 厚範（KAMIYA, ATSUNORI）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：30324370

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：自律神経は、脳と全身の内臓をつなぐケーブルであり、脳から内臓へ向かって命令信号を電気信号として送って、臓器機能を調節します。本研究では、従来の方法では計測が困難であった、神経線維の活動の臓器別に電氣的に記録する方法や、顕微鏡イメージングとして目で見る方法の開発に取り組みました。また、がんにも自律神経が分布することを発見し、その神経の活動をも、記録しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自律神経系は、全身の臓器に分布し、身体各所の生体情報を感知して脳に送り（求心路）、各臓器の機能を調節します（遠心路）。自律神経系は、健康時においては、生体恒常性や生命を維持する役割を担いますので、一方、病態とも深く関わっています。従って、本研究で開発した、自律神経線維の活動を解析する方法は、健康時における、各臓器に分布する自律神経の働きを理解したり、がんを含む様々な病気の仕組み（病態生理）を解明する上においても、役に立つように期待されます。

研究成果の概要（英文）：The autonomic nerves are cables, that connect the brain with organs. They transmit command signals to the organ and regulate its function. In the present study, we have developed a new method to record individual nerve fiber activities between organs that are difficult to be examined by existing methods, and also a new one to microscopic image the neural activities (seeing). In addition, by using these methods, we have recorded sympathetic nerve activity that innervates the breast cancer tissue.

研究分野：自律神経

キーワード：自律神経

## 1. 研究開始当初の背景

自律神経系は、全身の臓器に分布し、身体各所の生体情報を感知して脳に送り(求心路)各臓器の機能を調節する(遠心路)生体恒常性や生命を維持する要のひとつである。自律神経系は、閉ループのフィードバック制御系として機能する。例えば、循環調節においては、身体局所の動脈(頸動脈、大動脈弓など左右で4か所)に圧反射求心性神経が分布して、血圧受容器として、血圧血圧をメカノ刺激として感知する。圧反射求心性神経は、感知した血圧情報を、神経電気信号として、脳に送り、入力する。脳は、その血圧情報を受けて他情報と併せて処理し、自律神経(交感神経と副交感神経)を命令心房として出力し、循環系臓器(心臓、腎臓、血管等)に送る。循環系臓器(心臓、腎臓、血管等)は、その命令信号に対して応答し、臓器機能を変化させる。例えば、交感神経が増加すると、心臓は心拍数を増して、心ポンプ機能を高める。腎臓は、レニンを分泌し、尿量を減らして体液量を増やす。血管は収縮して、血管抵抗を増やす。これらの末梢臓器の応答によって、体血圧が定まり、その体血圧が、再び、局所動脈に位置する血圧受容器で感知され、閉ループのフィードバック制御系が働き続ける。

ところが、自律神経系の神経線維の活動を計測することは容易ではない。自律神経を含む末梢神経は、複数の臓器に分布する、複数の神経種(交感・迷走・求心性等)の線維から成る線維の束である。このため、神経束の全体に、汎用のワイヤ電極を装着すると、神経束の内部の神経線維活動の総和のような活動が記録されてしまい、特定の臓器に分布する特定の種類の神経活動(例、交感神経活動)を記録することは、一部の例外を除いては出来ない。この一部の例外とは、例えば、腎臓神経の場合、神経束をほぼ交感神経線維が構成しているために、神経束の全体に電極を装着しても、交感神経を記録できたり、また、電極装着部分の末梢側で神経を切断することによって求心性活動を消失させることによって、交感神経を記録できる。しかしながら、このような状況は、全身の末梢神経ではむしろ例外的なものであって、多くの臓器においては、その臓器に分布する交感神経の活動を、神経束の全体にワイヤ電極を装着する方法では記録することが困難である。また、副交感神経の記録は、交感神経の記録よりも、さらに困難とされている。このように、従来の神経活動の電気的な計測方法は、神経束の全体記録等であるため、神経線維の個々の活動は分かり得ない。

またさらに、上記のような従来法による神経の記録は、神経軸索に電極を装着させるため、臓器の外における記録であって、臓器の内部における記録ではない。また、他方法として、自律神経を体外で培養し、その活動を記録する方法があるが、これも、臓器の内部における記録ではない。このため、自律神経が、その分布する臓器や組織の内部において、神経が、実際にどのように細胞機能を調節するのかは、計測技術の未発達のために、ほとんど理解されていない。

自律神経系は、健康時においては、生体恒常性や生命を維持する役割を担うため、病態とも深く関わっている。従って、各臓器に分布する自律神経の線維活動動態を理解することは、病態生理を解明する上においても、重要な課題である。

## 2. 研究の目的

本研究は、自律神経の個々の線維の動態や、組織内部における神経終末の動態を測定するための神経計測技術を開発し、それを用いて神経動態を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

次の2つの方法で、研究を実施した。

(1) MEMS 神経マイクロマシンによる、自律神経線維別電気活動動態の解明

(2) 生動物2光子神経イメージングによる、自律神経終末Ca動態の解明

## 4. 研究成果

(1) MEMS 神経マイクロマシンによる、自律神経線維別電気活動動態の解明

末梢神経は、複数の臓器に分布する、複数の神経種(交感・迷走・求心性等)の線維から成る線維の束であるが、従来の神経計測方法は、神経束の全体記録等であるため、神

経線維の個々の活動は分かり得ない。そこで、世界最小ピッチタングステン微小電極針アレイによる MEMS 神経マイクロマシンを試作し、実際に神経束内の神経線維個々の電気活動を同時記録した（麻酔下、ラット）。従来法では極めて計測が困難な、心臓迷走神経活動を記録した。心臓迷走神経活動は、毎心拍・動脈圧に応答するように活動（発火）し、血圧が低下すると減少し、血圧が増加すると増加した。さらに、生理的な自発性活動に加えて、各種の刺激（低酸素や pH 変化等の物理化学的的刺激、各種生理活性物質他）に対する神経線維の応答をも計測した。例えば、心臓迷走神経活動は、低酸素刺激によって増加し、心拍数を減らした。

## （２）生動物 2 光子神経イメージングによる、自律神経終末 Ca 動態の解明

従来の自律神経の計測は、臓器外や体外培養下における記録に留まっており、自律神経が分布する組織の内部において、神経が、実際にどのように活動するのか、計測技術の未発達のために、ほとんど理解されていない。そこで、従来の電氣的な計測ではなく、光学的なイメージングによって、組織内部の神経活動を記録する技術の開発に取り組んだ。まず、自律神経 Ca 活動が光るラット（交感神経の活動が緑色に光るラット DBH-Cre/GCaMP6fflox, 迷走神経の活動が緑色に光るラット ChAT-Cre/GCaMP6fflox）を開発した。次に、これら動物に麻酔をかけた上で、生きたままの状態、組織内部（体表臓器、また、開腹して腹部臓器など）を、2 光子顕微鏡で観察し、組織内部の神経の動態をリアルタイムに計測することが出来た（おそらく、世界初）。

また、自律神経系は、正常組織だけでなく、がん組織にも分布することを発見した。乳がんを対象として、乳がん組織に分布する交感神経の活動を、同様の生動物 2 光子神経イメージング技術によって、リアルタイムに計測することが出来た（おそらく、世界初）。この、がん組織にも分布する交感神経の活動は、がんの増大や転移などにも影響するなど、がん病態に深く関わる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kamiya A, Hayama Y, Kato S, Shimomura A, Shimomura T, Irie K, Kaneko R, Yanagawa Y, Kobayashi K, Ochiya T.	4. 巻 22
2. 論文標題 Genetic manipulation of autonomic nerve fiber innervation and activity and its effect on breast cancer progression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1289-1305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1038/s41593-019-0430-3	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2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kamiya Atsunori
2. 発表標題 In vivo two-photon imaging of thermo-sensing at the skin of living rats
3. 学会等名 FAOPS 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神谷厚範
2. 発表標題 2光子顕微イメージングによる自律神経 - 循環バイオロジー
3. 学会等名 第57回日本生体医工学会（招待講演）
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----