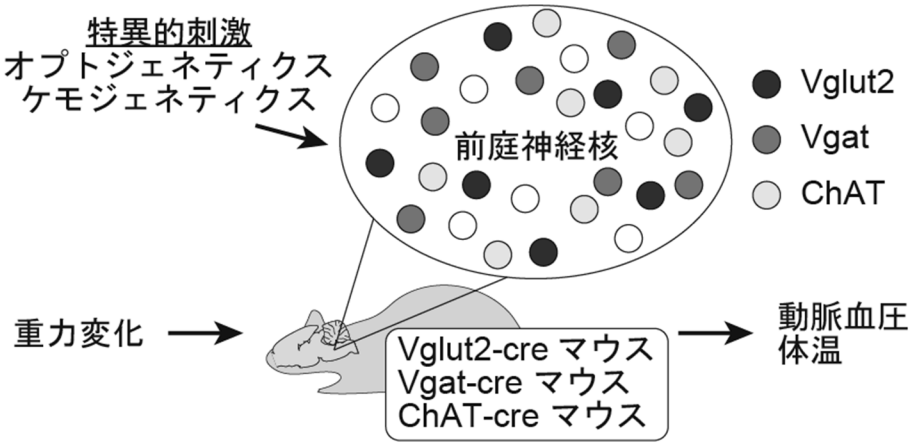
129　前庭系可塑による自律神経応答低下のメカニズム解明	安部　力

【目的】前庭系は特殊感覚のひとつである平衡感覚に必要なシステムである。末梢から中枢に送られた情報に応じて、眼球運動（前庭ー動眼反射）や骨格筋運動（前庭ー脊髄反射）の制御量が決まり、適切な姿勢維持や歩行移動を行うことができる。我々はこれまで、これらの反射に加え、前庭系が自律神経応答のひとつである動脈血圧調節に重要な役割を担っていることを報告してきた（前庭ー動脈血圧反射）。また、重力環境の変化によって前庭ー動脈血圧反射のゲインが低下することがわかってきた。しかしながら、この可塑のメカニズムは不明である。本研究では、橋・延髄領域の前庭神経核を対象に、自律神経応答（体温調節）に重要なニューロン群の同定とその可塑のメカニズムを明らかにすることを目的とする。

【方法】末梢前庭器からの情報は、前庭神経を介して橋・延髄領域の前庭神経核に投射される。前庭神経核には、少なくともグルタミン酸作動性ニューロン、GABA 作動性ニューロンとコリン作動性ニューロンが存在する。これらのニューロンが姿勢制御や自律神経応答に関与しているかどうかを調べるために、Vglut2-cre マウス、Vgat-cre マウスと ChAT-cre マウスを用い、ウイルスベクターにて片側前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロン、GABA 作動性ニューロンとコリン作動性ニューロンに光受容体（ChR2）および化学受容体（hM3Dq）を発現させた。光もしくは化学刺激時の姿勢はハイスピードカメラにより、自律神経応答は深部体温測定により定量的評価を行った。

【結果】光刺激を行うと、Vglut2-cre マウスは刺激同側に、Vgat-cre マウスは反対側に身体が傾斜した。一方、ChAT-cre マウスでは光刺激の影響がみられなかった。このことから、前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンと GABA 作動性ニューロンが姿勢制御に関与していることがわかった。また、Clozapine-N-Oxide（CNO）による化学刺激により、Vglut2-cre マウスでは体温の低下がみられた。一方、Vgat-cre マウスでは体温の変化がみられなかった。また、サーモグラフィーによる撮影では、グルタミン酸作動性ニューロンの興奮により褐色脂肪細胞相当部の温度が低下した。さらに、ウイルスベクターにて前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンを特異的に除去し過重力刺激を与えると、体温低下が有意に抑えられた。これらの結果から、過重力曝露による体温の低下には前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンが関与していることがわかった。

前庭系可塑に関わるニューロンの探索



129. 前庭系可塑による自律神経応答低下のメカニズム解明

安部　力

岐阜大学 大学院医学系研究科 神経統御学講座 生理学分野

Key words：前庭器，交感神経，体温，グルタミン酸作動性ニューロン，GABA 作動性ニューロン

緒　言

前庭系は特殊感覚のひとつである平衡感覚に必要なシステムである［1］。加速や回転の入力に応じ内耳骨迷路内にある耳石器や三半規管の有毛細胞が刺激され、それらの入力が前庭神経を介して中枢へ送られる［2］。中枢で統合された入力によって眼球運動（前庭ー動眼反射）や骨格筋運動（前庭ー脊髄反射）の制御量が決まり、適切な姿勢維持や歩行移動を行うことができる［3］。我々はこれまで、これらの反射に加え、前庭系が自律神経応答のひとつである動脈血圧調節に重要な役割を担っていることを報告してきた（前庭ー動脈血圧反射）［4〜6］。臥位から立位への姿勢変化時における動脈血圧の維持には、圧受容器反射と前庭ー動脈血圧反射の相互作用が重要であり、この関係の破綻によってヒトや動物では起立性低血圧の発症リスクが上昇する。さらに、姿勢制御や循環制御だけではなく、筋・骨代謝、免疫や体温調節への前庭系の関与も明らかになり始めており、これらには自律神経の関与が示唆されている。

前庭系は非常に可塑性の強い器官であり、微小重力環境や長期臥床など通常とは異なる重力環境・状態では前庭系の応答性が変化する。過重力や微小重力などの重力環境変化および行動抑制環境に動物を曝露すると、前庭系を介する運動機能や動脈血圧応答の調節力が低下する。また、宇宙から地球に帰還した宇宙飛行士では平衡機能障害がみられ、さらに彼らの起立性低血圧発症の一部にも前庭系の可塑が関わっている［7］。前庭系の可塑には、重力の変化入力が減少することで生じる使用依存的可塑（use-dependent plasticity）が一部関与していると考えられている。実際、動物実験では、末梢前庭器電気刺激にて前庭系への入力を補うことで、前庭系の可塑による生理機能低下を防ぐことができる。前庭系可塑のメカニズムはいまだ不明な点が多く、特に宇宙医学の領域では、国内外で宇宙飛行士の効果的な前庭系可塑予防法や前庭リハビリテーション法の探索が行われている。

我々は前庭系可塑の起こる場として橋・延髄領域の前庭神経核を考えている。この部位は興奮性ニューロンと抑制性ニューロンが混在しており、重力変化によってそれらの性質が変化すると考えられている。しかしこれまでの電気刺激法や薬液投与法では特異性がないため、重力変化に対する各ニューロンの役割を調べることができなかった。最近我々は、前庭神経核ニューロンを特異的に操作するオプトジェネティクス法やケモジェネティクス法を用いて、マウスやラットの姿勢制御や自律神経応答の観察に成功した。そこで本研究では、前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロン、GABA 作動性ニューロン、コリン作動性ニューロンに注目し、前庭ー自律神経応答のひとつである体温調節に関与するニューロン群を同定することを目的とした。さらに、前庭系可塑によって引き起こされる自律神経応答の低下が、前庭神経核のどのニューロンによるものかを調べた。

方法および結果

1. 過重力応答性体温低下の末梢メカニズム

過重力曝露による低体温応答が末梢前庭器を介するものかどうかを調べるために、末梢前庭器を破壊した C57BL/6 マウス（VL）とその偽手術マウス（Sham）を用いて実験を行った。24 時間の 2 G 曝露により、Sham マウスでは 36.5±0.1℃から 33.4±0.2℃に低下したのに対し、VL マウスではその低下が有意に抑えられた（36.3±0.1℃から 35±0.2℃）。体温低下中のマウスをサーモグラフィーで撮影すると、褐色脂肪細胞相当部の温度低下がみられた。そこで、褐色脂肪の温度を直接測定すると、36±0.1℃から 30±0.3℃にまで有意に低下した（図 1）。このことから、過重力曝

露による体温低下には、褐色脂肪細胞からの発熱量低下が示唆された。褐色脂肪細胞の発熱量は、交感神経や循環中のカテコラミンの影響を受ける。そこで、過重力曝露中のマウスに採血を行い、血中カテコラミン量の測定を試みた。過重力曝露 30 分後、血中ノルアドレナリンおよびアドレナリンは有意に低下していた。このことから、過重力曝露による血中カテコラミン量の減少により褐色脂肪細胞からの発熱量が抑えられ、その結果体温が低下することがわかった。

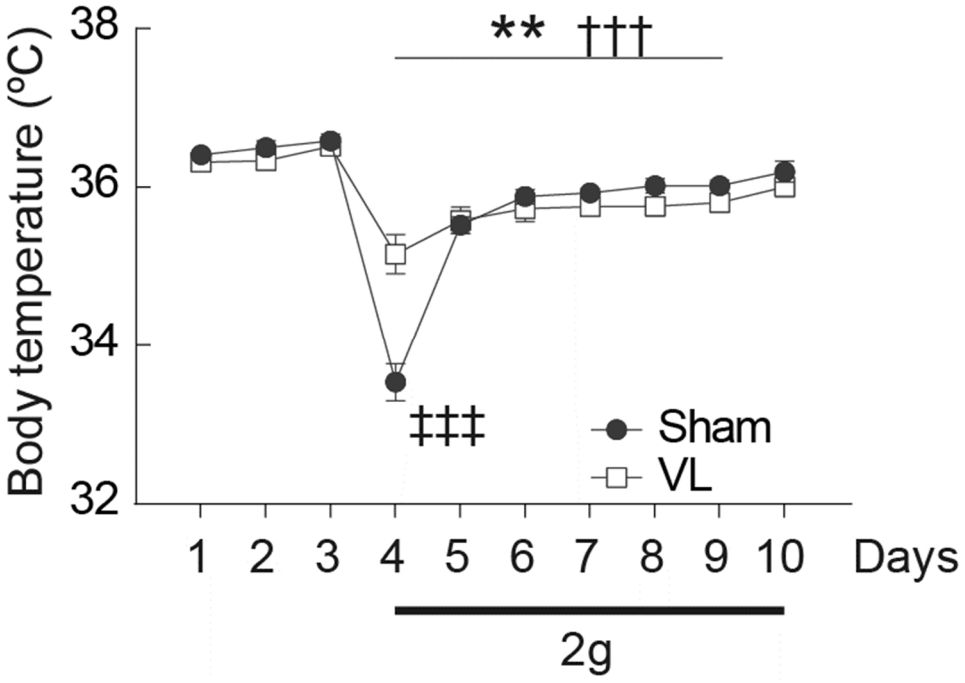


図 1. 過重力曝露による体温低下

過重力曝露による体温低下は前庭破壊（VL）により抑えられた。Sham は VL の偽手術群。* もしくは †:Sham もしくは VL マウスにおける曝露前平均値との比較。統計処理は 2 元配置分散分析を行った後、Tukey's post-hoc test を行った。‡ : VL との比較。** : P < 0.01、†††、 ‡‡‡ : P < 0.001

2. 過重力応答性体温低下の中枢メカニズム

末梢前庭器からの情報は、前庭神経を介して橋・延髄領域の前庭神経核に投射される。前庭神経核には、少なくともグルタミン酸作動性ニューロン、GABA 作動性ニューロンとコリン作動性ニューロンが存在する。はじめに、これらのニューロンが姿勢制御に関与しているかどうかを調べた。Vglut2-cre マウス、Vgat-cre マウスと ChAT-cre マウスを用い、ウイルスベクターにて片側前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロン、GABA 作動性ニューロンとコリン作動性ニューロンに光受容体（ChR2）を発現させた。光刺激を行うと、Vglut2-cre マウスは刺激同側に、Vgat-cre マウスは反対側に身体が傾斜した。一方、ChAT-cre マウスでは光刺激の影響がみられなかった。このことから、前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンと GABA 作動性ニューロンが姿勢制御に関与していることがわかった。

次に、これらのニューロンにおける体温調節への関与を調べるために、Vglut2-cre マウスと Vgat-cre マウスを用い、両側前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンと GABA 作動性ニューロンに化学受容器（hM3Dq）を発現させた。Clozapine-N-Oxide（CNO）にて各ニューロンを興奮させると、Vglut2-cre マウスでは体温の低下がみられた（図 2）。一方、Vgat-cre マウスでは体温の変化がみられなかった。また、サーモグラフィーによる撮影では、グルタミン酸作動性ニューロンの興奮により褐色脂肪細胞相当部の温度が低下した。さらに、ウイルスベクターにて前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンを特異的に除去し過重力刺激を与えると、体温低下が有意に抑えられた。これらの結果から、過重力曝露による体温の低下には前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンが関与していることがわかった。

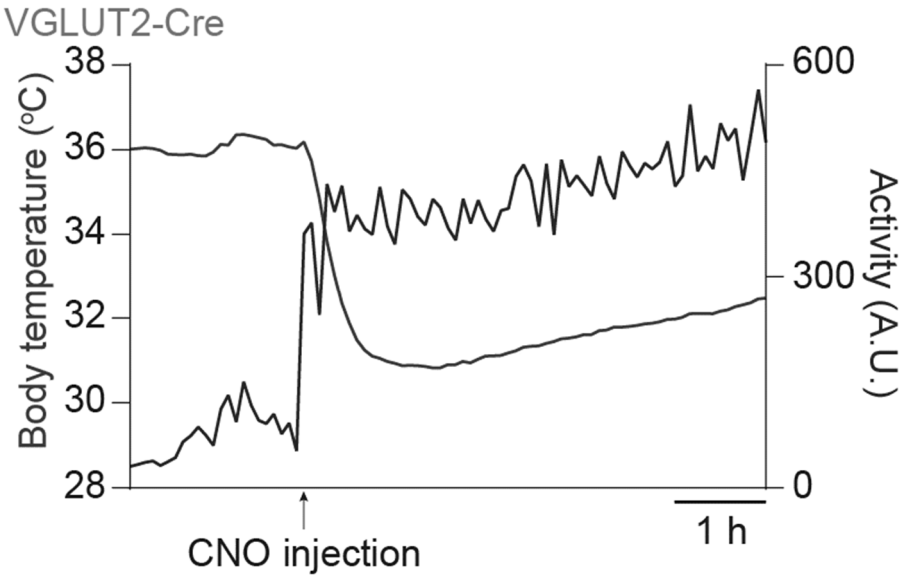


図 2. 前庭神経核 Vglut2 陽性ニューロン刺激時の体温と活動量の変化
前庭神経核の Vglut2 陽性ニューロンに化学受容器（hM3Dq）を発現させ、Clozapine-N-Oxide（CNO）にてニューロンを興奮させると、体温低下と活動量の増加が生じた。

考　察

本研究では、前庭－自律神経応答に前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンが関与していることがわかった。微小重力環境や長期臥床など通常とは異なる重力環境・状態が続くことでこのニューロンの特性が変化し、前庭－自律神経応答のゲインが低下する可能性が考えられる。この状態を防ぐために、前庭トレーニングの必要性が示唆される。しかしながら宇宙飛行士や高齢者では、運動などによる前庭トレーニングを行うことができないことから、非侵襲前庭電気刺激法などを用いて前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンを効果的に活性化するような方法が求められる。現在までの予備実験では、慢性的な過重力曝露によって前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンの応答性が低下することが示唆されている。今後は、可塑防止に必要な前庭電気刺激法のパラメータを模索し、動物やヒトに対して前庭神経核のグルタミン酸作動性ニューロンを対象にした前庭トレーニング法を模索していく予定である。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、名古屋大学環境医学研究所ストレス受容・応答研究部門神経系分野Ⅱ山中章弘研究室の山中章弘教授、島根大学医学部解剖学講座神経科学の横田茂文准教授である。

文　献

1) Angelaki DE, Cullen KE. Vestibular system: the many facets of a multimodal sense. Annu Rev Neurosci. 2008;31:125-50. doi: 10.1146/annurev.neuro.31.060407.125555.

2) Highstein SM, Holstein GR. The anatomy of the vestibular nuclei. Prog Brain Res. 2006;151:157-203. doi: 10.1016/S0079-6123(05)51006-9

3) Cullen, K.E. The vestibular system: multimodal integration and encoding of self-motion for motor control. Trends Neurosci. 2012 Mar;35(3):185-96. doi: 10.1016/j.tins.2011.12.001. Epub 2012 Jan 12.

4) Abe C, Tanaka K, Awazu C, Chen H, Morita H. Plastic alteration of vestibulo-cardiovascular reflex induced by 2 weeks of 3-G load in conscious rats. Exp Brain Res. 2007 Aug;181(4):639-46. Epub 2007 May 10. doi: 10.1007/s00221-007-0961-9

5) Tanaka K, Abe C, Awazu C, Morita H. Vestibular system plays a significant role in arterial pressure control during head-up tilt in young subjects. Auton Neurosci. 2009 Jun 15;148(1-2):90-6. doi: 10.1016/j.autneu.2009.03.007. Epub 2009 Apr 16.

6) Abe C, Kawada T, Sugimachi M, Morita H.Interaction between vestibulo-cardiovascular reflex and arterial baroreflex during postural change in rats. J Appl Physiol (1985). 2011 Dec;111(6):1614-21. doi: 10.1152/japplphysiol.00501.2011. Epub 2011 Sep 15.

7) Morita H, Abe C, Tanaka K. Long-term exposure to microgravity impairs vestibulo-cardiovascular reflex. Sci Rep. 2016 Sep 16;6:33405. doi: 10.1038/srep33405.