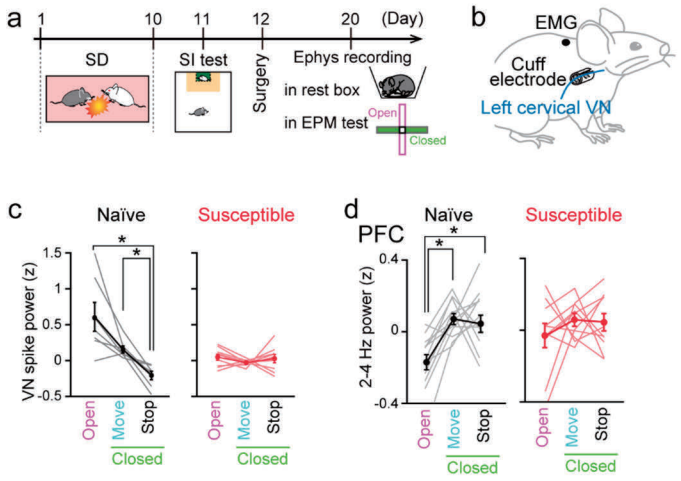
94　迷走神経の情報伝達と精神機能への影響の解明	佐々木　拓哉

【目的】迷走神経は、末梢臓器と脳の相互作用において重要な役割を果たす。近年、迷走神経を介した内受容感覚は、脳の情動や意思決定の機能に大きな影響を与える可能性が示唆されており、情動を維持するための基礎生理学的な基盤として重要であると考えられる。しかし、迷走神経の活動がどのように外部環境に応答して不安状態を表現しているか、あるいは迷走神経によるそのような生理メカニズムが精神疾患などの病的状態において、どのように変化するかは解明されていない。そこで本研究では、ストレス負荷を与えたマウス、迷走神経を切断したマウスにおいて、迷走神経活動や脳波信号を同時に記録することにより、これらの生理学的課題に取り組んだ。また、迷走神経刺激は精神障害の効果的な治療戦略であるが、実際の生理学的メカニズムと作用部位はほとんど知られていない。本研究では、迷走神経刺激がストレス感受性マウスの不安行動や不安に関連した脳活動パターンをどのように回復できるか調べた。

【方法】マウス（C57Bl/6J）に社会的敗北ストレスを負荷するために、攻撃的で体格が大きい CD-1 マウスから 10 分間の社会的敗北ストレスを 10 日間負荷した。ストレス後のマウスのストレス感受性は、社会相互作用テストを使用して評価した。ストレス感受性を特定した後、マウスの左迷走神経にカフ型電極、および前頭前皮質、扁桃体に脳波（局所場電位）計測電極を埋め込み、これらのマウスの活動を高架式十字迷路において記録した。

【結果】ストレスを負荷していないマウスは、ストレス感受性マウスよりも高い迷走神経スパイク頻度を示した。この結果は、ストレス後の迷走神経活性がストレス感受性マウスで特異的に減少したことを示している。前頭前皮質－扁桃体の局所場電位パワーと迷走神経活動の相関を調べたところ、2～4 Hz または 20～30 Hz のパワーとの相関を見出した。そこで、高架式十字迷路における変化を解析したところ、2～4 Hz の前頭前皮質パワーはクローズアームよりもオープンアームの方が有意に低く、20～30 Hz 前頭前皮質パワーはクローズアームよりもオープンアームの方がそれぞれ有意に高かった。これらの結果は、前頭前皮質の 2～4 Hz および 20～30 Hz の局所場電位パワーが、不安行動によって動的に変化することを示唆している。一方で、こうした迷走神経と脳の活動の協調が、ストレス感受性マウスにおいてどのように変化するか調べたところ。オープンアームとクローズアームの間で、前頭前皮質－扁桃体において 2～4 Hz または 20～30 Hz の両方のパワーにおいて、有意差は観察されなかった。これらの結果は、迷走神経スパイクと不安関連の前頭前皮質－扁桃体回路の活動の相関関係が、ストレス感受性マウスでは破壊されたことを示している。さらに、迷走神経を物理的に切断し（迷走神経切除術）、前頭前皮質の信号を記録したところ、ストレス感受性マウスと同様に、迷走神経切断マウスでは、オープンアームとクローズアームの間で、前頭前皮質－扁桃体において 2～4 Hz または 20～30 Hz の両方のパワーにおいて、有意差は観察されなかった。これらの結果は、不安環境で前頭前皮質の局所場電位パワーに動的な変化をもたらすには、迷走神経の活動が必要であることを示唆している。

ストレス感受性にかかわる迷走神経活動・脳波パターンの解析



94. 迷走神経の情報伝達と精神機能への影響の解明

佐々木　拓哉

東北大学 大学院薬学研究科 薬理学分野

Key words：迷走神経，不安，ストレス，前頭前皮質，脳波

緒　言

迷走神経は、末梢臓器と脳の相互作用において重要な役割を果たす。特に、求心性迷走神経は、内臓の生理状態に関する情報（内受容感覚）を中枢神経系に伝達する［1，2］。近年、迷走神経を介した内受容感覚は、脳の情動や意思決定の機能に大きな影響を与える可能性が示唆されている［3］。例えば、腸内細菌の組成や迷走神経活動の変化が、不安やうつ様行動を引き起こすことが知られている。一方で、迷走神経刺激により迷走神経活動信号を適切に調整することで、ヒトにおいて治療抵抗性うつ病を改善する効果があること、げっ歯動物の抗不安効果および抗うつ効果を誘発できることなどが報告されている。これらの研究は、迷走神経を介した内受容感覚の信号が、情動を維持するための基礎生理学的な基盤として重要であることを示唆している。

このように情動における迷走神経と脳の相互作用の重要性は広く認識されつつあるが、迷走神経の活動がどのように外部環境に応答して不安状態を表現しているか、あるいは迷走神経によるそのような生理メカニズムが精神疾患などの病的状態において、どのように変化するかは解明されていない。さらには、迷走神経の活動に起因した不安や精神障害と連動するような脳の神経生理学的メカニズムは、ほとんど解明されていない。前頭前皮質（PFC）と扁桃体（AMY）は、不安を発現する主要な脳領域として示唆されており、こうした脳領域の間でニューロン集団が協調することで、不安行動を調節することがわかっている［4］。このような知見から、不安における迷走神経の重要性は、迷走神経活動とこうした脳領域活動と連動する可能性が示唆される。そこで本研究では、ストレス負荷を与えたマウス、迷走神経を切断したマウスにおいて、迷走神経活動や脳局所場電位（LFP）信号を同時に記録することにより、これらの生理学的課題に取り組んだ。

また、迷走神経刺激はヒトと動物モデルの両方において、精神障害の効果的な治療戦略であるが［5］、実際の生理学的メカニズムと作用部位はほとんど知られていない。本研究では、迷走神経刺激がストレス感受性マウスの不安行動や不安に関連した前頭前皮質－扁桃体回路の活動パターンをどのように回復できるか調べた。

その結果、本研究では不安行動に応じて頸部迷走神経のスパイク頻度が変化し、これらの変化は不安が変化したストレス感受性マウスで消失することを明らかにした。さらに、こうした迷走神経のスパイク率は、前頭前皮質と扁桃体において、それぞれ 2～4 Hz および 20～30 Hz の局所場電位振動のパワーと負および正の相関を見出した。これらの変化はストレス感受性マウスや迷走神経切断マウスでは観察されなくなった。さらに、慢性的な迷走神経刺激によって、こうしたストレス感受性マウスにおける不安行動の回復と不安関連の局所場電位振動が回復した。以上の結果をまとめると、これらの生理学的洞察は、迷走神経と脳の相互作用に基づく不安や精神障害の根底にあるメカニズムの一端であると推察される。

方法および結果

1. ストレス感受性マウスにおける迷走神経スパイクの減少

マウス（C57Bl/6J）に社会的敗北ストレスを負荷するために、攻撃的で体格が大きい CD-1 マウスから 10 分間の社会的敗北ストレスを 10 日間負荷した（図 1a）。ストレス後のマウスのストレス感受性は、社会相互作用テストを使用

して評価した（図 1b）。ストレス感受性を特定した後、マウスの左迷走神経にカフ型電極、および前頭前皮質、扁桃体に脳波計測電極を埋め込んだ（図 1c、d）[6]。手術からの回復後、静止期間中に、ストレスを負荷していないマウスは、ストレス感受性マウスよりも高い迷走神経スパイク頻度を示した（図 1e；n=6、n=7、P=0.042 [Mann-Whitney U 検定]）。ストレス抵抗性マウスではそのような変化は観察されなかった。この結果は、ストレス後の迷走神経活性がストレス感受性マウスで特異的に減少したことを示している。

次に、これらのマウスの活動を高架式十字迷路において記録した（図 1f）。ナイーブマウスでは、オープンアームおよびクローズアームでの移動状態中の迷走神経スパイクは、クローズアームでの停止状態よりも有意に高かった（図 1g 左；n=7；F（2,14）=62.78、P=4.4×10^{-7}、t_6=3.91、P=0.024）。ストレス抵抗性マウスも同様の傾向を示した（図 1g 中央；n=6；F（2,17）=10.71、P=0.0013、t_5=3.96、P=0.032）。一方で、ストレス感受性マウスはこのような変化を生じなかった（図 1g 右；n=9；F（2,26）=0.83、P=0.45）。これらの結果は、ストレス感受性マウスにおいては不安レベルの変化に応じて、迷走神経のスパイクパターンが適切に調整されなかったことを示唆するものである。

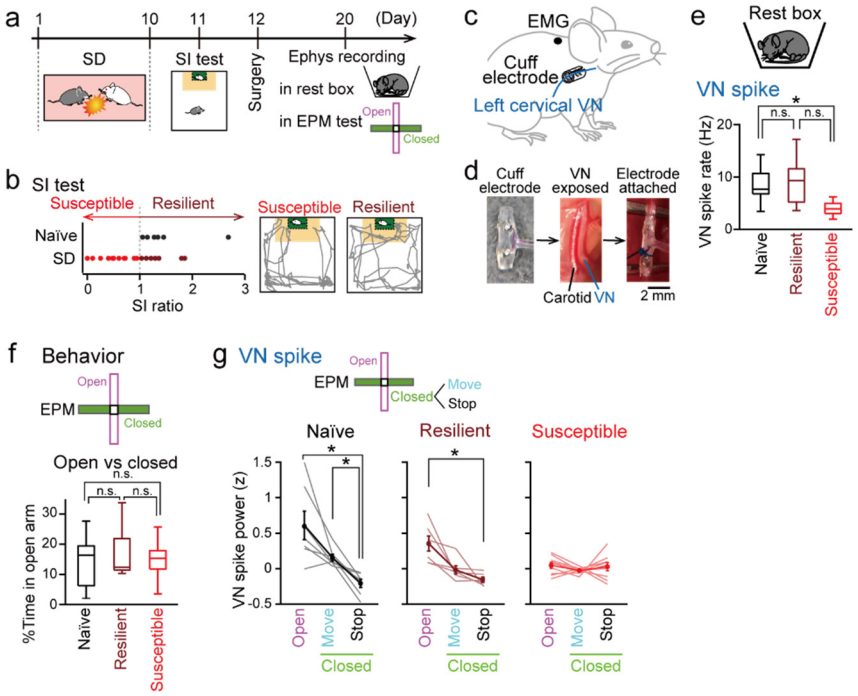


図 1. 不安様行動における迷走神経活動

a, b） 実験のタイムコース。社会相互作用試験により、ストレス感受性を評価した。

c, d） マウスに迷走神経計測用のカフ電極を埋め込んだ。

e） 静止時の迷走神経の発火頻度の比較（*P<0.05, 対応のある t 検定）。

f） 高架式十字迷路におけるオープンアームの滞在割合（P>0.05, 対応のある t 検定）。

g） 高架式十字迷路における迷走神経の発火頻度の比較（*P>0.05, 対応のある t 検定）。

2. 迷走神経スパイクパターンは前頭前皮質－扁桃体の活動と相関する

次に、不安関連の脳領域が 迷走神経活動の影響を受けるかどうかを調べた（図 2a）。前頭前皮質－扁桃体の局所場電位パワーと迷走神経活動の相関を調べたところ、2～4 Hz または 20～30 Hz のパワーとの相関を見出した。そこで、高架式十字迷路における変化を解析したところ、2～4 Hz の前頭前皮質パワーはクローズアームよりもオープンアームの方が有意に低く、20～30 Hz 前頭前皮質パワーはクローズアームよりもオープンアームの方がそれぞれ有意に高かった（図 2b；n=12；2～4 Hz：F（2,35）=8.42、P=0.0011、t_{11}=5.27、P=7.9×10^{-4}；20～30 Hz：F（2,35）=

22.77、P=6.1×10^{-7}、t_{11}=3.93、P=0.0071)。扁桃体においては、20～30 Hz のパワーのみ同様の変化が観察された（図 2c)。これらの結果は、前頭前皮質の 2～4 Hz および 20～30 Hz の局所場電位パワーが、不安行動によって動的に変化することを示唆している。

次に、こうした迷走神経と脳の活動の協調が、ストレス感受性マウスにおいてどのように変化するか調べた。オープンアームとクローズアームの間で、前頭前皮質－扁桃体において 2～4 Hz または 20～30 Hz の両方のパワーにおいて、有意差は観察されなかった（図 2d ; n=10、P>0.05)。これらの結果は、迷走神経スパイクと不安関連の前頭前皮質－扁桃体回路の活動の相関関係が、ストレス感受性マウスでは破壊されたことを示している。

また、こうした連動は迷走神経がストレス感受性の発現に重要であることを示唆している。この仮説を検証するために、迷走神経を物理的に切断し（迷走神経切除術)、前頭前皮質の信号を記録した。ストレス感受性マウスと同様に、迷走神経切断マウスでは、オープンアームとクローズアームの間で、前頭前皮質－扁桃体において 2～4 Hz または 20～30 Hz の両方のパワーにおいて、有意差は観察されなかった（図 2e ; n=6、P>0.05)。これらの結果は、不安環境で前頭前皮質の 2～4 Hz および 20～30 Hz の局所場電位パワーに動的な変化をもたらすには、迷走神経の活動が必要であることを示唆している。

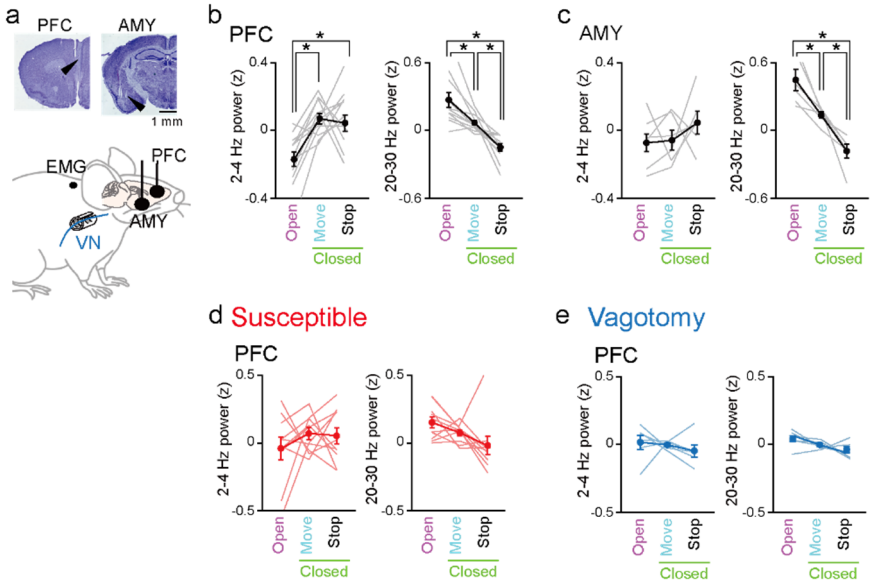


図 2. 不安様行動における脳波パワーの変動

a）前頭前皮質と扁桃体から脳波を計測した。

b, c）高架式十字迷路における各領域の脳波パワーの比較 (*P<0.05, 対応のある t 検定)。

d, e）ストレス感受性マウスおよび迷走神経切除マウスでの解析（P>0.05, 対応のある t 検定）。

3. 迷走神経刺激は前頭前皮質－扁桃体パワーを回復する

ストレス感受性の表現型を示すマウスをストレス後に選別し (図 3a)、迷走神経用の電極 (刺激と記録の両方に使用)、を埋め込んだ。手術からの回復後、1～2 週間、迷走神経刺激を与えた。その翌日、電気生理学的記録と行動試験を行った。迷走神経刺激により、社会相互作用は刺激前に比べて、有意に高かった（n=13、P=2.3×10^{-4})。こうしたマウスでは、オープンアームおよびクローズアームの移動中の迷走神経スパイクは、クローズアームの停止状態中よりも有意に高かった（図 3b ; n=5 ; F（2,14）=29.53、P=2.3×10^{-5}、t_4=4.62、P=0.030)。さらに、オープンアームの前頭前皮質の 20～30 Hz パワーは、クローズアームよりも有意に高かった（図 3c ; n=6 ; F（2,17）=14.53、P=3.0×10^{-4}、t_5=5.42、P=0.0087)。以上の結果は、ストレス感受性マウスに適用された迷走神経刺激が、迷走神経スパイクと前頭前皮質の 20～30 Hz パワーの動的変化を回復したことを示している。

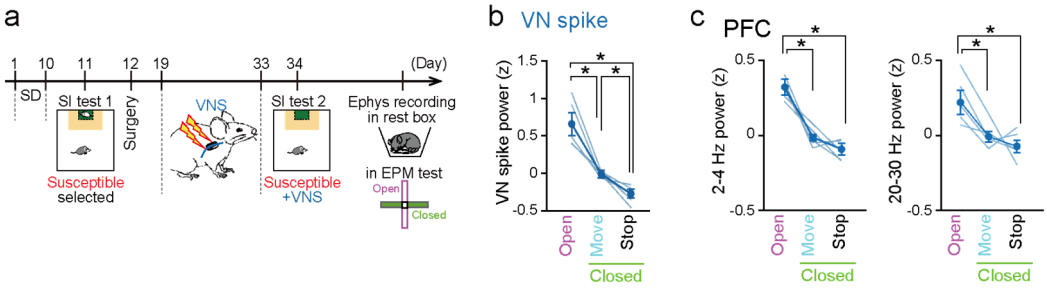


図3. 迷走神経刺激による効果

a) 実験のタイムコース。ストレス感受性マウスにおいて迷走神経刺激を与えた。

b) 迷走神経刺激マウスにおける静止時の迷走神経の発火頻度の比較（*P＜0.05、対応のあるt検定）。

c) 迷走神経刺激マウスにおける高架式十字迷路における各領域の脳波パワーの比較（*P＜0.05、対応のあるt検定）。

考　察

不安の増大は、ストレス誘発性の精神障害および認知障害の顕著な特徴である。本研究では、ストレス感受性マウスにおいて迷走神経束から記録されたスパイク活動が減弱することを見出した。こうした病態生理学的変化は、末梢器官から迷走神経へのシグナル伝達の減少、または迷走神経を活性化する末梢臓器機能の減少など、複雑なメカニズムの統合によって説明できると考えられる。特に、消化器系は迷走神経と密につながっているため、重要な候補と考えられる。実際に、精神状態の調節における迷走神経を介した腸と脳のコミュニケーションの重要性は、腸内細菌の組成変化と腸細胞活動の外部操作が抗不安作用と抗うつ作用を発揮するという観察によって示唆されている。今後は、個々の末梢器官を支配する迷走神経枝を記録および操作したり、迷走神経サブタイプを遺伝子的に同定したりするなど、さらに高度な技術を開発することで、詳細な生理メカニズムの解明が期待される。

前頭前皮質の 2～4 Hz のパワーは迷走神経活動と負の相関があり、オープンな環境では減少し、こうした変化は、ストレス感受性マウスや迷走神経を切断されたマウスでは消失することを見出した。この周波数帯域は、不安行動に関連する前頭前皮質のシータ波帯（4～10 Hz）や社会的行動に関連する前頭前皮質の 4～7 Hz 帯よりもわずかに低い周波数である［7］。さまざまな研究で報告されているこれらの振動が、共通の生理学的メカニズムによって形成されている可能性がある。また、前頭前皮質の介在ニューロンの関与は、介在ニューロンの選択的活性化が 4 Hz の振動を再現できるという観察によっても示唆される［8］。対照的に、前頭前皮質の 20～30 Hz のパワーは、迷走神経活動と正の相関があり、オープンな環境で上昇した。これらの結果は、この周波数帯域での前頭前皮質の活動が、脳への求心性迷走神経活動の入力量を表現し、迷走神経と脳の相互作用によって、不安行動が発現するための重要な生理学的メカニズムであることを示唆している。

迷走神経刺激は、治療抵抗性うつ病などの精神疾患の治療に臨床的に適用されている［5］。また、げっ歯類の研究では、迷走神経活動の操作が脳の電気的活動を変化させ、情動および抗不安反応を引き起こす可能性があることが示唆されている［9］。本研究では、刺激間隔が 1 分、1 日あたりの合計刺激持続時間が 3 時間の迷走神経刺激プロトコルが効果的であることを示したが、迷走神経刺激のより適切なパラメーター（例えば、刺激持続時間と間隔）を最適化するにはさらなる研究が必要である。

以上、本研究では、ストレスによる不安に関連する前頭前皮質－扁桃体回路と迷走神経の連関を見出した。脳と迷走神経の相互作用に関するこれらの生理学的洞察を蓄積することで、うつ病などの精神疾患における迷走神経の寄与の解明に貢献できるものと期待する。

共同研究者・謝辞

本研究は、東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室および東北大学大学院薬学研究科薬理学分野の 2 名の大学院生の協力を得て行った。

文　献

1） Garfinkel SN, Critchley HD. Threat and the body: how the heart supports fear processing. Trends in Cognitive Sciences. 2016 Jan;20(1):34-46. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26628111 DOI: 10.1016/j.tics.2015.10.005

2） Pfeifer G, Garfinkel SN, van Praag CD, Sahota K, Betka S, Critchley HD. Feedback from the heart: Emotional learning and memory is controlled by cardiac cycle, interoceptive accuracy and personality. Biological Psychology. 2017 May;126:19-29. Epub 2017 Apr 3. PMID: 28385627 DOI: 10.1016/j.biopsycho.2017.04.001

3） Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J, Cryan JF. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Sep 20;108(38):16050-5. Epub 2011 Aug 29. PMID: 21876150 DOI: 10.1073/pnas.1102999108

4） Craske MG, Stein MB, Eley TC, Milad MR, Holmes A, Rapee RM, Wittchen HU. Anxiety disorders. Nat Rev Dis Primers. 2017 May 4;3:17024. PMID: 28470168 DOI: 10.1038/nrdp.2017.24

5） Nemeroff CB, Mayberg HS, Krahl SE, McNamara J, Frazer A, Henry TR, George MS, Charney DS, Brannan SK. VNS therapy in treatment-resistant depression: clinical evidence and putative neurobiological mechanisms. Neuropsychopharmacology. 2006 Jul;31(7):1345-55. Epub 2006 Apr 19. PMID: 16641939 DOI: 10.1038/sj.npp.1301082

6） Shikano Y, Nishimura Y, Okonogi T, Ikegaya Y, Sasaki T. Vagus nerve spiking activity associated with locomotion and cortical arousal states in a freely moving rat. Eur J Neurosci. 2019 May;49(10):1298-1312. Epub 2018 Dec 8. PMID: 30450796 DOI: 10.1111/ejn.14275

7） Likhtik E, Stujenske JM, Topiwala MA, Harris AZ, Gordon JA. Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. Nat Neurosci. 2014 Jan;17(1):106-13. doi: 10.1038/nn.3582. Epub 2013 Nov 17. PMID: 24241397 DOI: 10.1038/nn.3582

8） Kuga N, Abe R, Takano K, Ikegaya Y, Sasaki T. Prefrontal-amygdalar oscillations related to social behavior in mice. Elife. 2022 May 17;11:e78428. PMID: 35580019 DOI: 10.7554/eLife.78428

9） Usami K, Kano R, Kawai K, Noda T, Ishiramatsu T, Saito N, Takahashi H. Modulation of Cortical Synchrony by Vagus Nerve Stimulation in Adult Rats. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc. 2013;2013:5348-51. PMID: 24110944 DOI: 10.1109/EMBC.2013.6610757