

低酸素換気応答におけるアストロサイトの役割：呼吸困難感知覚機序解明に向けた検討

福士勇人 (PT)¹⁾, 岡田泰昌 (MD)¹⁾

¹⁾ 独立行政法人国立病院機構村山医療センター臨床研究部

キーワード：アストロサイト, 低酸素, 呼吸困難感

はじめに

慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患に罹患した患者は、労作時に体内酸素レベルが低下し、呼吸困難感を感じるが、低酸素状態における呼吸困難感の知覚機序は未だ解明されていない。低酸素呼吸応答の機序は、従来、末梢化学受容器およびそこからの入力を受ける下部脳幹内にある呼吸ニューロンを中心に考えられてきたが¹⁾、未だに不明点が多い。ここで近年、従来は脳機能発現には直接関与しないと考えられていたグリア細胞が、ニューロンと積極的な情報交換を行いつつ、ニューロンとは異なる仕組みで脳機能発現に重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある²⁾³⁾。グリア細胞のなかでもアストロサイトは、低酸素呼吸応答を含む呼吸調節機構において重要な役割を果たしていることが示唆されている⁴⁻⁷⁾。研究代表者らは、マウスを用いた *in vivo* 実験から、アストロサイトが低酸素により活性化し、低酸素呼吸抑制に拮抗的に働くこと、およびアストロサイトが低酸素のセンサー細胞として働く可能性を示した⁷⁾⁸⁾。しかし、呼吸調節機構を背景とした呼吸困難感の知覚機序へのアストロサイトの関与については、ほとんど解明されていない。

そこで、本研究では、呼吸困難感の知覚機序解明のための基礎的検討として、末梢からの入力のない新生ラットの摘出脳幹-脊髄標本を用いた *in vitro* 実験を行い、低酸素呼吸応答におけるアストロサイトの役割を検証した。

対象および方法

本研究は村山医療センター動物実験委員会の承認を受けて実施した。

実験には、新生 Wistar ラット (P0-2) から作製した新生ラット摘出脳幹-脊髄標本を用いた。まず、深麻酔下で新生ラットから脳幹および脊髄を一塊として取り出し、新生ラット摘出脳幹-脊髄標本を作製し、計測チェンバーに入れ、酸素 95% - 二酸化炭素 5% で平衡させた人工脳脊髄液 (塩化ナトリウム 124 mM, 塩化カリウム 5.0 mM, リン酸二酸化カリウム 1.2 mM, 塩化カルシウム 2.4 mM, 塩化マグネシウム 1.3 mM, 炭酸水素ナトリウム 26 mM, グルコース 30 mM, pH 7.4,

26-27℃) で灌流して生存性を維持しつつ、横隔神経に連なる第 4 頸髄前根 (C4) より吸息性神経出力を記録した⁹⁾。対象をアストロサイト活性化阻害剤 arundic acid 投与群と非投与群に分け、arundic acid 非投与群 (n=5) には、ジメチルスルホキシドのみ (622 μM) を溶解させた人工脳脊髄液を、arundic acid 投与群 (n=5) には arundic acid (546 μM) およびジメチルスルホキシド (622 μM) を溶解させた人工脳脊髄液を、それぞれ灌流させた。

酸素 95% - 二酸化炭素 5% で平衡させた人工脳脊髄液 (normal 液) で 20 分間灌流した後、低酸素ガス (酸素 95% - 二酸化炭素 5%) で平衡させた人工脳脊髄液 (hypoxia 液) で 5 分間灌流し、その間の吸息神経活動を、arundic acid の投与群、非投与群それぞれで計測し、解析した。

各標本の 1 分間あたりの吸息神経のバースト数を分時呼吸数とした。Normal 液灌流時の分時呼吸数は計測開始後 19 ~ 20 分までの 1 分間あたりのバースト数で、hypoxia 液灌流時の分時呼吸数は計測開始後 22 ~ 23 分までの 1 分間あたりのバースト数で、それぞれカウントした。

Arundic acid 非投与群、および arundic acid 投与群の分時呼吸数を平均値 ± 標準偏差で表し、両群の分時呼吸数の比較には Welch の検定を用いた。有意水準は 5% とした。

結 果

Arundic acid 非投与群の normal 液灌流時の分時呼吸数は 5.8 ± 1.2 回 / 分、hypoxia 液灌流時の分時呼吸数は 7.2 ± 1.6 回 / 分であり、arundic acid 投与群の normal 液灌流時の分時呼吸数は 4.6 ± 1.0 回 / 分、hypoxia 液灌流時の分時呼吸数は 4.8 ± 0.7 回 / 分であった。Normal 液灌流時の分時呼吸数は、両群間に有意な差が認められなかった。一方、hypoxia 液灌流時には、arundic acid 投与群の分時呼吸数が、arundic acid 非投与群の分時呼吸数よりも有意に少なくなっていた ($p = 0.04$)。

考 察

視床下部より高位の脳、および末梢からの入力のない摘出脳幹-脊髄標本へのアストロサイト活性化阻害剤 arundic acid の投与は低酸素負荷時の呼吸数を減少させていた。同じ arundic acid を用いた *in vivo* 実験で、低酸素負荷時の換気量が、arundic acid 投与により抑制されることが報告されているが⁷⁾⁸⁾、今回の実験結果はそれらの報告に合致している。今回の実験結果は、延髄のアストロサイトが低酸素呼吸増強に、なんらかの役割を果たしていることを示すと考えられる。また、延髄は自律的呼吸神経出力を発するとともに、その出力のコピー情報を高位脳に投射する役割を担うことで呼吸困難感の知覚に関与していると考えられるが、今回の実験から、

延髄のアストロサイトが自律的呼吸神経出力とそのコピエ情報の投射に関与し、呼吸困難感の知覚に関与している可能性があると考えられる。

今回の実験からは、延髄のどの領域のアストロサイトが低酸素呼吸増強に貢献しているかを特定できなかったが、今後は、より詳細な領域の同定が必要になると考えられる。

結 論

延髄のアストロサイトは、低酸素負荷時に脳内の低酸素状態を感知するとともに呼吸出力を増強させる役割を担っている。

文 献

- 1) Neubauer JA, Melton JE, *et al.*: Modulation of respiration during brain hypoxia. *J Appl Physiol* (1985). 1990; 68: 441-451.
- 2) Halassa MM, Haydon PG: Integrated brain circuits: astrocytic networks modulate neuronal activity and behavior. *Annu Rev Physiol*. 2010; 72: 335-355.
- 3) Parpura V, Heneka MT, *et al.*: Glial cells in (patho) physiology. *J Neurochem*. 2012; 121: 4-27.
- 4) Tadmouri A, Champagnat J, *et al.*: Activation of microglia and astrocytes in the nucleus tractus solitarius during ventilatory acclimatization to 10% hypoxia in unanesthetized mice. *J Neurosci Res*. 2014; 92: 627-633.
- 5) Angelova PR, Kasymov V, *et al.*: Functional Oxygen Sensitivity of Astrocytes. *J Neurosci*. 2015; 35: 10460-10473.
- 6) Funk GD, Rajani V, *et al.*: Neuroglia and their roles in central respiratory control; an overview. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2015; 186: 83-95.
- 7) Fukushi I, Takeda K, *et al.*: Effects of arundic acid, an astrocytic modulator, on the cerebral and respiratory functions in severe hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol*. 2016; 226: 24-29.
- 8) Fukushi I, Takeda K, *et al.*: Blockade of astrocytic activation delays the occurrence of severe hypoxia-induced seizure and respiratory arrest in mice. *J Comp Neurol*. 2020; 528: 1257-1264.
- 9) Suzue T: Respiratory rhythm generation in the in vitro brain stem-spinal cord preparation of the neonatal rat. *J Physiol*. 1984; 354: 173-183.

発表実績

Fukushi I, Kono Y, Yokota S, Takeda K, Yazawa I, Onimaru H, Okada Y: The diencephalon augments respiration in the isolated diencephalon-lower brainstem-spinal cord preparations of newborn rats. 第6回日本呼吸理学療法学会学術大会, 2019年11月10日.