

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12780

研究課題名(和文) 運動学習における腹側被蓋野の役割解明と同領域の賦活化による運動機能調節の試み

研究課題名(英文) Functional role of ventral tegmental area in motor learning and an attempt to improve motor skill performance by electrical activation of this brain region

研究代表者

高島 一郎 (Takashima, Ichiro)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・情報・人間工学領域・研究グループ長

研究者番号：90357351

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：中脳のドーパミン神経核(腹側被蓋野)から運動野皮質への神経投射の役割解明を試みた。一次運動野皮質の神経活動を膜電位イメージング法で解析した結果、腹側被蓋野が一次運動野皮質の神経応答を数十ミリ秒の時間窓で制御していることが明らかになった。また、腹側被蓋野は高次運動野の神経活動も直接・間接的に調節している可能性が示された。さらに、運動学習中の腹側被蓋野に電気刺激を与えることにより、歩行の運動パフォーマンスが改善される可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The motor cortex receives dopaminergic projections from the ventral tegmental area (VTA) in the midbrain. In the present study, we attempted to reveal the functional role of this projection in motor skill learning. Using voltage-sensitive dye imaging, it was uncovered that VTA modulated primary motor cortex excitability in a time-dependent manner with a window of several tens of milliseconds. The possibility was also suggested that VTA directly or indirectly affects the neural processing in the higher-order motor areas. Moreover, rats given electrical stimulation to VTA exhibited better motor performance in the ladder rung walking task, suggesting that the projection from VTA to motor cortices could mediate and facilitate the learning of motor skills.

研究分野：脳機能イメージング、ニューロモジュレーション

キーワード：腹側被蓋野 一次運動野 膜電位イメージング 運動学習 脳電気刺激

## 1. 研究開始当初の背景

腹側被蓋野は、ドーパミンを脳内に放出する起始核としてよく研究され、その神経活動は、報酬に関わる情報をコードすることがよく知られている(Schultz, 1998 など)。しかし、従来の研究では、認知機能やモチベーションの観点から、腹側被蓋野の投射先として前頭前野皮質や辺縁系皮質を対象にすることが多く、「腹側被蓋野から一次運動野への神経投射」に着目した報告は皆無に近かった。ところがその後、腹側被蓋野から一次運動野へのドーパミン神経伝達を阻害すると、ラットの運動学習に障害が起きることが報告(Molina-Luna et al., 2009, Hosp et al., 2011)され、本神経投射と運動機能との関係が注目され始めた。一次運動野に放出されたドーパミンが可塑性の調節に関わっているのだらうと推測はされたが、運動(学習)中のどのタイミングで腹側被蓋野ドーパミン細胞が活動し一次運動野にどのような情報を送っているのかは、全く不明であった。

研究開始当初、我々は麻酔下ラットにおいて、腹側被蓋野に電気刺激を与え、一次運動野皮質における神経活動の膜電位イメージングを試みており、腹側被蓋野のドーパミン神経細胞を賦活化すると、一次運動野皮質がわずかに数十ミリ秒間だけ興奮し、その後、数百ミリ秒間、神経活動が抑制される現象を発見していた(Kunori et al., 2014)。さらに、一次運動野皮質への直接電気刺激で上腕の筋活動を誘導する実験に、腹側被蓋野の電気刺激を組み合わせる操作を行うと、両刺激のタイミングによって、筋活動が亢進あるいは抑制される現象を見出した(Kunori et al., 2014)。これらの結果は、腹側被蓋野が早いシグナル伝達を用いて直接、筋活動を調節している可能性を示唆し、従来から想定されていたドーパミンによる“遅い”神経調節機構では説明できないものである。我々は、腹側被蓋野から一次運動野投射系における“早い”情報伝達の仕組みが、モチベーション・ドライブの運動学習に関わっているのではないか?という仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、腹側被蓋野と一次運動野の活動相関を調べ、腹側被蓋野の賦活化が一次運動野皮質の神経活動をどのような時間タイミングで調節しているのかを明らかにする。そして、運動学習中の腹側被蓋野に適切なタイミングで電気刺激を行う介入操作により、運動学習効果に改善が見られるかどうかを検証することを目的とする。

また、研究を進める中で、一次運動野のみならず二次運動野を包含した運動調節機構の重要性や、腹側被蓋野に加えマイネルト基底核も運動調節に関わる可能性が見えてきたため、運動野皮質領域間での神経活動ダイ

ナミクスの解析と、マイネルト基底核賦活化による運動野皮質の神経活動解析を本研究の目的に追加した。

## 3. 研究の方法

### (1) 腹側被蓋野と一次運動野皮質間の神経活動の関係

麻酔下ラットの腹側被蓋野と一次運動野皮質に2本の電極を刺入した。単一パルス刺激を腹側被蓋野(Duration 0.3ms、Current 0.15mA)と一次運動野皮質(Duration 0.2ms、Current 0.05- 0.15mA)に与える際、刺激間の時間差を30-350msで変化させたとき、一次運動野皮質の神経活動がどのように変化するかを膜電位イメージングにより解析した。

### (2) 一次運動野と二次運動野皮質における神経活動のイメージング

腹側被蓋野の電気刺激による神経興奮が一次運動野だけでなく、ときには二次運動野にまで広がる様子がイメージングにより捉えられた。そこで、運動野皮質を大きく露出し、一次運動野から二次運動野に伝搬する神経活動をイメージングにより解析した。主に四肢への電気刺激を脳活動の惹起に利用し、皮質の部分切除や薬剤による不活性化実験、電流源密度解析などの手法を用いた。

### (3) マイネルト基底核の電気刺激と運動野皮質応答のイメージング

麻酔下ラットのマイネルト基底核に電極を刺入し、露出した前頭皮質から局所フィールド電位(LFP)を記録した。電極先端がターゲット神経核に置かれていることは、100Hzのバースト刺激により、皮質LFPに脱同期化が起こることで確認した。前頭皮質を膜電位感受性色素(RH-795)で染色した後、単一パルス刺激(Duration 0.3ms、Current 0.15mA)に対する皮質神経応答を記録した。

### (4) 歩行運動課題と腹側被蓋野への電気刺激

ラットの腹側被蓋野に同心円電極を留置し、5日間の水平ラダー歩行運動課題を行わせた。水平ラダーは高さ30cm、全長1mで、ラング間隔は1cm間隔に配置した初期状態から、ラングを抜く連続本数(0~2本)を乱数により決定し、ラング間隔は毎日変更した。歩行運動課題では、10分間の歩行中にラングを踏み外す動作をビデオ撮影し、ラダー歩行の運動パフォーマンス解析を行った。踏み外し動作は3段階(0: Total Miss/1: Deep Slip/2: Light Slip)で評価し、運動パフォーマンスのスコアを解析した。腹側被蓋野への電気刺激は歩行運動中に0.2Hzおよび2Hzで与えた(単一パルス刺激: Duration 0.6ms、Biphasic 50%、Current 0.3mA)。

#### 4. 研究成果

##### (1) 腹側被蓋野と一次運動野のペア刺激が運動野皮質に惹起する神経活動の解析

ペア刺激部位ならびにイメージング領域を図 1A に示す。一次運動野の刺激に対し、腹側被蓋野刺激を 30-350ms 先行して与えた場合、一次運動野刺激部位の近傍における光シグナルのピーク値がどのように変化したかを図 1B に示す。一次運動野のみの単独刺激に対し、腹側被蓋野刺激が 30-50ms 先行した場合は抑制作用、100-350ms 先行した場合は亢進作用を示すことが明らかになった。図 1C は、一次運動野の単独刺激に対して惹起された神経活動のイメージング結果である。一方、[250ms の時間差でペア刺激を行ったデータ] から [一次運動野の単独刺激を行ったデータ] の減算を行った結果が図 1D である。ペア刺激の間隔が 250ms のとき、一次運動野皮質の活動が大きく亢進される様子が捉えられた。以上の結果は、腹側被蓋野が数十ミリ秒の時間窓で一次運動野皮質の応答を興奮/抑制の両方向に調節し得ることを示している。

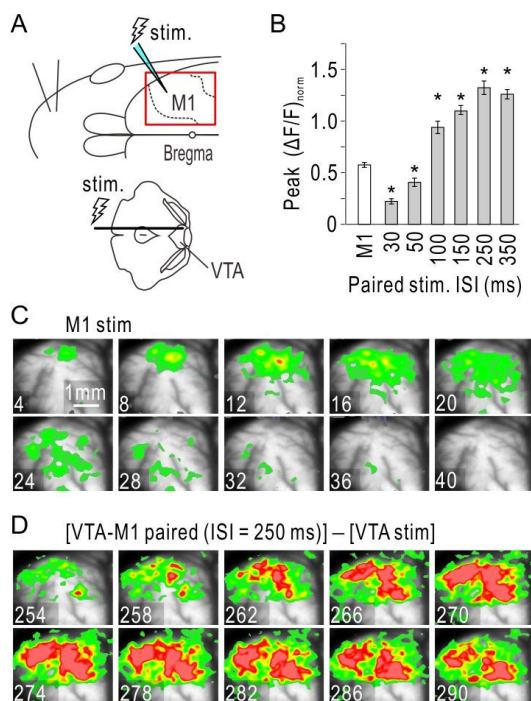


図 1 腹側被蓋野と一次運動野へのペア刺激の効果。(A)実験セットアップ、(B)ペア刺激の時間差(ISI)と一次運動野に惹起された神経応答の関係、(C)一次運動野の単独刺激時に対する神経活動、(D) ペア刺激(ISI=250ms)の応答から、一次運動野の単独刺激の応答を減算した結果を示す。フレーム中の数字は、一次運動野(C)および腹側被蓋野(D)への刺激時刻からの経過時間(ミリ秒)。M1:一次運動野、VTA: 腹側被蓋野。

##### (2) 一次運動野と二次運動野皮質間の神経情報伝達

一次および二次運動野皮質を含む脳領域を対象に、前肢刺激に対する神経活動をイメージングした(図 2A)。図 2B は神経興奮が、一次運動野から始まり、吻側内側方向にある二次運動野に伝播する様子を捉えたものである。脳内微小電気刺激を用いた観測領域の運動マップを図 2C に示す。この後、(a)神経活動を不活化する薬剤を一次運動野に投与、(b)一次/二次運動野領域間の皮質切除、(c)視床の神経活動の不活化、の何れの実験操作によっても二次運動野の応答が消失すること、しかし、(d)視床の不活化後も、一次運動野の直接刺激によって二次運動野への神経伝搬が見られること等が明らかになった。以上の結果から、腹側被蓋野による運動機能の調節は、一次運動野のみならず、直接/間接的に二次運動野も動員し、より大規模な運動関連皮質ネットワークの活動を制御することで実現されている可能性が示唆された。

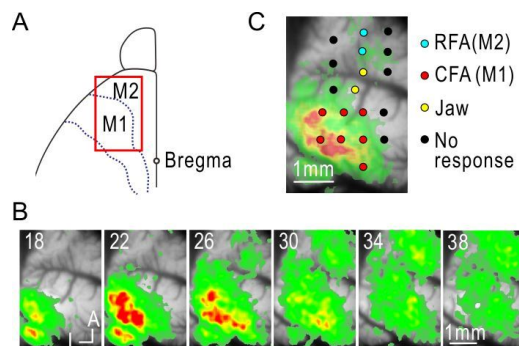


図 2 一次運動野から二次運動野に伝播する神経興奮のイメージング。(A)イメージングを行った脳領域、(B)前肢刺激後に観測された神経活動のイメージング結果、(C) 脳内微小電気刺激による観測脳領域での運動マップを示す。フレーム中の数字は、前肢刺激後の経過時間(ミリ秒)。M1: 一次運動野、M2:二次運動野、CFA(RFA):一次(二次)運動野内の前肢部位、Jaw:顎部位。

##### (3) マイネルト基底核への電気刺激が運動野皮質に惹起する神経活動の解析

マイネルト基底核への単発電気刺激が前頭皮質に惹起する神経活動のイメージング結果を図 3 に示す。刺激後、神経興奮が前頭前皮質から一次運動野皮質にかけて伝播する様子が捉えられた。ラットのマイネルト核は小さな神経核であるが、より後方部位(脳座標中心:Bregmaより、Anterior-Posterior  $-2.2 \pm 0.5$ mm, Medial-Lateral  $3.6 \pm 0.4$ mm, Depth  $7.0 \pm 0.8$ mm)の電気刺激において、運動関連皮質に神経興奮が見られることが明らかとなった。この結果は、腹側被蓋野のみならず、マイネルト基底核が新たな運動機能調節ターゲットとなり得る可能性を示唆するものと考えられる。

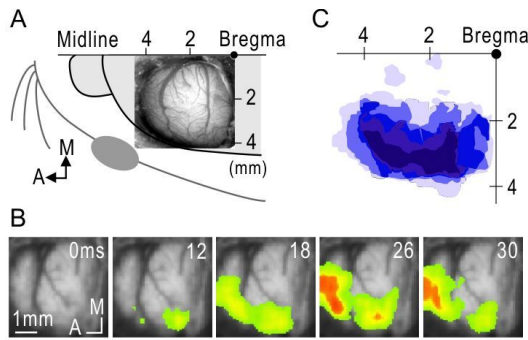


図3 マイネルト核の電気刺激が運動野皮質に惹起する神経活動。(A)イメージング領域、(B)刺激後0~30msにおける神経興奮の時空間パターン例、(C)複数個体における最大応答領域を重畳した結果を示す。

#### (4) 歩行運動課題中の腹側被蓋野への電気刺激の効果

運動学習中に0.2Hzで電気刺激を与えた群はコントロール群(シャム刺激群)に対し、5日間の全日において、高スコアの運動パフォーマンスを示す傾向が見られた。そこで、電気刺激の周波数を2Hzとして実験を行ったところ、よりその効果が顕著に見られた。図4は、代表的な1日における実験結果を示す。電気刺激群/コントロール群の間で10分間におけるラダーの往復距離に差異はないが(図4A)、電気刺激群では移動距離当たりの踏み外し回数が大きく減少していた(図4B)。更なるデータの蓄積が必要ではあるが、腹側被蓋野への電気刺激が歩行運動学習のパフォーマンスに有効に作用している可能性が示唆された。

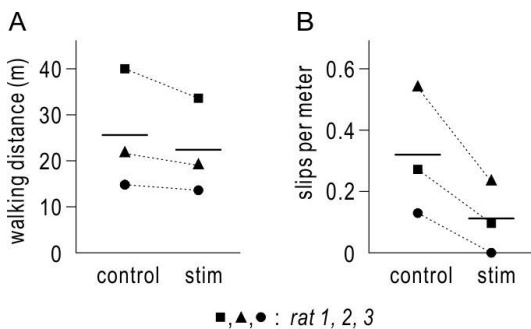


図4 腹側被蓋野への電気刺激が歩行運動に及ぼす効果。電気刺激の有無による動物の歩行距離(A)とラング踏み外し頻度(B)の変化を示す。

本研究により、腹側被蓋野が数十ミリ秒の時間窓で一次運動野の神経活動を制御していること、その制御対象には二次運動野も含まれること、そして、歩行運動課題中の腹側被蓋野への電気刺激が運動パフォーマンスを改善する可能性が示された。さらに、マイネルト基底核が新たな運動機能調節ターゲットとなり得るといふ補足知見が示された。

## 5. 主な発表論文等

### [雑誌論文](計5件)

N. Kunori, R. Kajiwara, I. Takashima (2016) The ventral tegmental area modulates intracortical microstimulation (ICMS)-evoked M1 activity in a time-dependent manner. *Neuroscience Letters*, 616, 38-42  
doi: 10.1016/j.neulet.2016.01.047

N. Kunori, I. Takashima (2016) High-order motor cortex in rats receives somatosensory inputs from the primary motor cortex via cortico-cortical pathways. *European Journal of Neuroscience*, 44(11), 2925-2934  
doi: 10.1111/ejn.13427

K. Nagasaka, Y. Watanabe, I. Takashima (2017) Topographical projections from the nucleus basalis magnocellularis (Meynert) to the frontal cortex: A voltage-sensitive dye imaging study in rats. *Brain Stimulation*, 10(5), 977-980  
doi: 10.1016/j.brs.2017.06.008

NAR. Nik-Mohd-Afizan, Y. Watanabe, I. Takashima (2017) Safety of anodal transcranial direct current stimulation with respect to blood-brain barrier permeability in the rat. *Current Neurobiology*, 8, 34-39

Y. Watanabe, NAR. Nik-Mohd-Afizan, I. Takashima (2017) Blood-brain barrier derangement after electrical brain stimulation. *Journal of Neurology and Neuromedicine*, 2, 1-5  
doi: 10.29245/2572.942X/2017/10.1162

### [学会発表](計8件)

K. Nagasaka, Y. Watanabe, N. Kunori, R. Kajiwara, I. Takashima, Voltage-sensitive dye imaging of rat frontal neuronal activity evoked by stimulation of the basal forebrain. 第38回日本神経科学大会, 2015年7月28-31日, 神戸

H. Takei, Y. Watanabe, N. Kunori, I. Takashima, Assessment of brain stimulations using the novel object recognition task in rats. SICE Life Engineering Symposium 2016 (LE2016), 2016年11月3-5日, 大阪

Y. Watanabe, H. Takei, I. Takashima,

Assessment of transcranial electrical stimulation using object recognition tasks.

第 94 回 日本生理学会大会, 2017 年 3 月 28-30 日, 浜松

渡辺由美子, 出澤真乃介, 長坂和明, 高島一郎, ラットマイネルト基底核への電気刺激が誘発する前頭皮質神経活動の解析.

Symposium on Human Informatics (SHI) 2017, 2017 年 9 月 26 日, 東京

S. Kamata, S. Negishi, I. Takashima, H. Kudou, R. Kajiwara, Real time monitoring system for lactic acid released from Ex vivo preparation. Neuroscience 2017, 2017 年 11 月 11-15 日, Washington DC

H. Takei, Y. Watanabe, I. Takashima, Modulating neural plasticity with transcranial direct current stimulation.

SICE Life Engineering Symposium 2017 (LE2017), 2017 年 9 月 4-6 日, 岐阜

S. Dezawa, K. Nagasaka, Y. Watanabe, I. Takashima, Analysis of neural responses in rat frontal cortex evoked by single or burst stimulation of the nucleus basalis of Meynert.

第 40 回 日本神経科学大会, 2017 年 7 月 20-23 日, 幕張

N. Kunori, I. Takashima, The modulation of the sensory responses of rat S1 by cortical direct current stimulation. 第 95 回 日本生理学会大会, 2018 年 3 月 28-30 日, 高松

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 脳表を局所的に損傷させる方法

発明者: 仲田真理子、長坂和明、下田将之、高島一郎、山本慎也

権利者: 国立研究開発法人産業技術総合研究所

種類: 特許

番号: 特願 2017-212091

出願年月日: 2017 年 11 月 1 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高島 一郎 (TAKASHIMA ICHIRO)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・人間情報研究部門・システム脳科学研究グループ長

研究者番号: 90357351