

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H01037

研究課題名（和文）運動学習を実現する広域脳ネットワーク回路可塑性の包括的研究

研究課題名（英文）Study of plasticity in wide neuronal circuits for motor learning

研究代表者

松崎 政紀（MATSUZAKI, Masanori）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・教授

研究者番号：50353438

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではマウスの運動学習中において、M2からM1への入力軸索終末の生存率は減少する一方、運動視床からM1への入力軸索終末は安定化すること、大脳基底核線条体に投射するM1の5層細胞は、運動学習によって形成された運動関連活動が運動を行わない休息後も安定して記憶されること、文脈依存的な運動を行う場合にはM2からM1へ入力する軸索とM1の2/3層細胞が文脈特異的な活動を示すとともに運動が巧緻になっていくことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で計測した運動視床細胞は主として大脳基底核からの入力を受ける細胞であり、M1の5層IT細胞は大脳基底核へ強く出力する。M1-大脳基底核-視床-M1のループとM2-M1経路の運動学習にともなう変化を見出したことは、哺乳動物が環境適応して行動するために必要な運動学習がどのような広域脳ネットワーク再編成によって実現されているか、という問いの一端を解き明かしたと言える。大脳基底核の異常はパーキンソン病を含め多くの運動疾患と関係しており、本研究結果はこれらの運動疾患の理解にも重要であり、新たな治療方法への発展も期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we found that during mouse motor learning, the survival rate of input axon terminals from M2 to M1 decreases, while the input axon terminals from the motor thalamus to M1 stabilize. We also found that L5 neurons in M1 that project to the striatum maintain stable memory of motor-related activity formed during motor learning even during periods of rest without performing the movements. Furthermore, we found that in the case of context-dependent movements, axons inputting from M2 to M1 and layer 2/3 cells of M1 come to show context-specific activity and movement becomes more skillful.

研究分野：神経科学

キーワード：運動学習 2光子イメージング 運動野 小脳

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

私たちは日常的な簡単な行動だけでなく高度な運動を行えるが、これらは学習を通じて獲得される。運動学習は、哺乳動物では大脳皮質の主たる脊髄投射領野である一次運動野 (M1) だけでなく、高次運動野 (M2)、大脳基底核など大脳皮質下領域を含む脳の広域に渡る神経ネットワークの再編 (可塑性) を引き起こす。マウスでは、M1 でのシナプス後部可塑性が運動学習と強く関連すること、M1 の細胞集団が学習を通じて強い運動関連活動を示すようになることが明らかにされ、また運動学習中での個々の脳領域での活動変化とシナプス可塑性は数多く実証されている。しかし、同一の運動学習課題でどのように、M1 への入力細胞、M1 からの出力細胞、そして M1 の各層の細胞活動の再編成が運動学習と関連するののかというメカニズムは不明である。本研究課題の核心をなす学術的「問い」は、哺乳動物が環境適応して行動するために必須である運動学習がどのような広域脳ネットワーク再編成によって実現されているか、というものである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、上記の「問い」に対して、回路・細胞レベルで答えることにある。この目的を達成するために、マウスが運動学習課題を行っているときの、M1 への入力細胞や入力軸索、M1 から皮質下領域へ投射する細胞、M1 の 2/3 層や 5 層細胞の M1 細胞の活動やシナプス形態を高空間解像度で計測し、運動学習との関連を調べた。具体的には、(1) 運動学習中のマウスの M1 への M2 入力軸索と運動視床入力軸索のシナプス前終末の形態をイメージングによって明らかにし、学習との関連を明らかにする。(2) 自発的および音誘発性のレバー前肢運動において、M2、M1 へ入力する M2 細胞軸索、M1 の 2/3 層細胞、5 層脊髄投射細胞の活動変化と運動パフォーマンスとの関連を明らかにする。(3) M1 の 5 層線条体投射 (IT) 細胞の活動を前肢運動学習終了時とその後の休息期間を経た後での運動時の活動を比較し、IT 細胞の運動関連活動が運動学習によって安定化するかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1)では、蛍光タンパク質をコードしたアデノ随伴ウイルス (AAV) をマウスの M2 または運動視床に注入した。2-3 週間後、麻酔をかけたマウスの M1 の 1 層で、蛍光標識された軸索と軸索終末を 2 光子イメージングによって可視化した。その後、7 日間の訓練期間中、マウスはロータロッド課題を行うように訓練し、訓練期間中もこれらの同一ブトン形態をイメージングし、その形態変化を解析した。(2)では、頭部固定マウスにおける内発性・外発性レバー引き課題を構築し、課題実行中に 2 光子カルシウムイメージングして、AAV 注入によって GECI を発現した各種細胞の活動を検出し、細胞活動とレバー引き運動パフォーマンスとの関連性を解析した。(3)では、頭部固定マウスにおける内発性レバー引き課題を十分行い、その後の休息期間の前後での課題実行中のマウス 5 層 IT 細胞に対して 2 光子カルシウムイメージングを行い、運動パフォーマンスとの関連性を解析した。

4. 研究成果

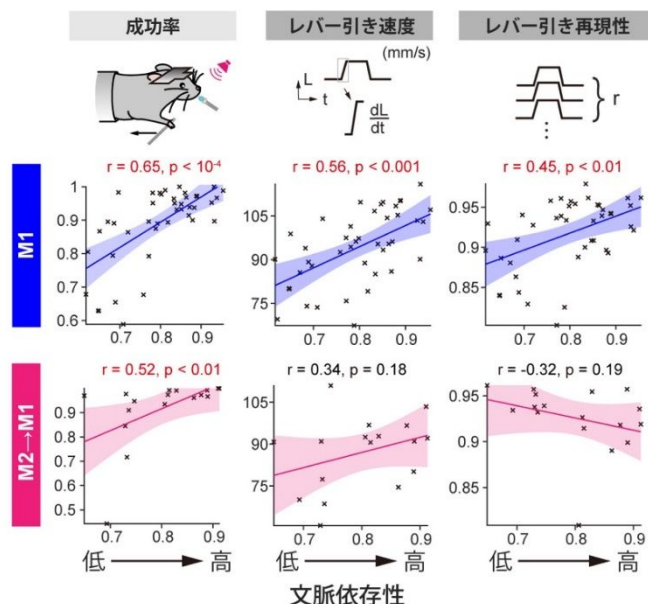
(1) 軸索終末の大きさは、M2 からの軸索終末よりも視床からの軸索終末の方が大きかった。この結果は、視床皮質軸索のシナプスが皮質 - 皮質軸索のシナプスよりも大きいという過去の研究結果と一致している。M2 および視床の軸索の総数は、訓練を受けたマウスと対照マウスの間で、すべての撮影日において同程度であった。訓練を受けたマウスでは、2 日目の視床軸索終末の大きさが、0 日目の終末の大きさと比較して、対照マウスよりもわずかに大きかった。また、7 日目の視床軸索終末と 2~7 日目の M2 軸索終末の大きさは、訓練を受けたマウスと非訓練マウスの間でほぼ同じであった。次に、学習中の M2 軸索終末の安定性と動態を調べた。学習したマウスと対照マウスの 0 日目に存在していた M2 軸索終末 (既存軸索終末) の生存率は、時間の経過とともに徐々に減少した。トレーニングを受けたマウスと対照マウスの 7 日目の M2 既存軸索終末の生存率は約 85% であった。訓練を受けたマウスと非訓練マウスの両方において、7 日目にも存在していた M2 既存軸索終末の 0 日目のサイズは、7 日目以前に消滅したものよりも大きかった。このように、大きな軸索終末は小さな軸索終末よりも安定していた。M2 軸索終末の形成率、消失率、ターンオーバー率を 0~2 日目、2~4 日目、4~7 日目で平均化すると、訓練を受けたマウスの方が対照マウスよりも M2 軸索終末の形成率が高かった。また、撮影日の間隔ごとの形成率と消失率を対照マウスと訓練を受けたマウスで比較したところ、2~4 日目の形成率のみが対照マウスよりも訓練を受けたマウスで有意に高かった。これらの結果から、M2 の軸索終末の形成は一般的に訓練日数中に増加することが示唆された。0-2 日目または 2-4 日目に新たに形成された軸索終末の生存率は、訓練を受けたマウスと対照マウスの間で同程度であった。M2 軸索終末とは対照的に、視床からの既存軸索終末の 7 日目の生存率は、訓練を受けたマウスの方が対照マウスよりも高く、0.9 を超えていた。また、M2 の動態と同様に、7 日目にも存在していた視床皮質軸索終末は、7 日目までに消滅した軸索終末よりも 0 日目のサイズが大きかった。

た。対照的に、訓練を受けたマウスでは、7日目に存在する小さな視床皮質軸索終末の生存率は、対照マウスよりも高かった。これらの結果は、運動学習中に視床からの既存軸索終末の一部が安定化したことを示唆している。M2 軸索終末とは対照的に、訓練を受けたマウスでは、訓練期間平均の視床皮質軸索終末の消失率は対照マウスよりも有意に低く、4~7日目の消失率も低かった。これらの結果から、視床皮質軸索終末の消失は、トレーニング期間中に一般的に減少することが示唆された。これらの結果は、M1 の視床皮質軸索終末の安定化が運動技能の学習に寄与していることを示唆している。

(2) 内発性・外発性運動課題訓練後のマウスにおいて、薬理学および光遺伝学により、M2、M1 どちらの領野も常に活動を抑制した場合、成功率が内発性・外発性に関わらず減少したが、運動開始後に一過的に抑制した場合、M1 への抑制のみが運動障害を引き起こした。これらの結果は、M2 も M1 も課題の遂行に必要なものの、運動を開始した後では M1 へと運動実行機能は移行しており、2 領野が階層的に情報処理を担っている可能性を示唆している。次に、M2 と M1 を同一試行において 2 光子イメージングできる方法を独自に開発し、これを用いて、M2 と M1 の 2/3 層細胞の活動を調べ、内発性・外発性という開始信号の差異に応答する神経活動の存在を見出した。運動視床から M2 へと投射する軸索、M2 から M1 へと投射する軸索、M1 の 5 層皮質脊髄路細胞のイメージングも加えて、M2 への入力から M1 の出力までの網羅的な計測を実施した。機械学習を用いたデコーディング解析によって、各構造が集団レベルで持つ、運動開始が内発性か外発性かという情報を、「文脈依存性」として定量化した。その結果、M2 の 2/3 層細胞は常に高い文脈依存性を、M1 皮質脊髄路細胞は常に低い文脈依存性をそれぞれ示すのに対し、M2 から M1 へと投射する軸索や、M1 の 2/3 層細胞の文脈依存性は実験日間や動物間で大きくばらつくことが明らかとなった。両構造における文脈依存性が高くなるほど、成功率や音への反応時間といった課題成績が良くなっており、さらに、M1 の 2/3 層細胞の文脈依存性が高くなるほど、レバーを引く速度や時間、レバー軌道の再現性など運動の巧緻性が向上していた(図1)。

図1. M1 および M1 投射 M2 軸索の文脈依存性と行動指標との関係性

外発性レバー引き課題の成功率と文脈依存性は M1 および M1 投射 M2 軸索いずれにおいても正の相関関係が見られている。一方、レバーを引く速度や、レバーの軌道が各トライアルでどの程度安定しているかというレバー引き再現性といった運動の巧緻性とは M1 のみで有意な正の相関関係が見られている。



個々の細胞レベルで見た場合、運動巧緻性が高い時には、M1 の 2/3 層では高い文脈情報と高い運動情報の両方を持つ細胞が増加しており、このことで、集団レベルでの高い文脈依存性と運動巧緻性の連動した増加が生じていたと考えられる。このような活動の再編成が M1 の 2/3 層で起きていた際にも、同時に計測を行っていた M2 の 2/3 層細胞では、集団レベルや個々の細胞レベルでも情報表現に大きな差異は生じておらず、その下流で、各文脈に特化して運動指令を生成する細胞群が再編成されることで高い運動機能が実現したと示唆された。文脈に依存した神経活動の再編成の様式と運動巧緻性との関連性が前頭葉の中でも領域や層によって大きく異なり、文脈入力と運動出力の間の神経ネットワークが動的に変化するという発見は、大脳皮質の適応力の高い情報処理能力を示すものである。

(3) Cre 系統マウスを用いて、大脳基底核線条体に投射する 5 層 IT 細胞特異的に GECI を発現させた。このマウスにおいて内発性レバー引き課題を学習させた。学習後期の 2 日間において、課題中に 2 光子カルシウムイメージングを行った。その後、一定期間の休息期間を取り、その後に 2 日間、この課題を行わせ同時にイメージングを行った。イメージング中には動物の動きをビデオ撮影し、レバー引き中や前後での両側前肢や顔の動きを抽出した。これらの多次元の運動情報と神経活動の関係性をエンコーディング・デコーディングモデルを用いて推定した。その結果、IT 細胞の一部の集団の活動は、休息前後でレバー引き運動を安定して強く表現していることを見出した。一方で、顔面運動やレバー引きに直接関係しない運動は休息期間をまたいで安定して表現されていなかった。これらの結果から、熟練学習によって獲得された運動だけが 5 層 IT 細胞によく記憶されていることが示唆された。

このように本研究によって、M2 から M1 へ、運動視床から M1 へ入力する軸索のシナプス前終末がそれぞれの入力で運動学習時期によって異なった携帯ダイナミクスを示すこと、運動が巧緻になる過程で、運動開始信号に特化した新しいアッセンブリ再構成が M2 から M1 へ入力する軸索と M1 の 2/3 層で起こること、運動学習によって形成された M1 の 5 層 IT 細胞は運動を行わない期間も安定した活動を維持することが明らかとなった。本研究で計測した運動視床細胞は主として大脳基底核からの入力を受ける細胞であり、M1 の 5 層 IT 細胞は大脳基底核へ強く出力する。大脳基底核の異常はパーキンソン病を含め多くの運動疾患と関係している。本研究成果はこれらの運動疾患の理解に重要であり、新たな治療方法への発展も期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kondo Masashi、Matsuzaki Masanori	4. 巻 34
2. 論文標題 Neuronal representations of reward-predicting cues and outcome history with movement in the frontal cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108704 ~ 108704
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2021.108704	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tanimoto Sai、Kondo Masashi、Morita Kenji、Yoshida Eriko、Matsuzaki Masanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Non-action Learning: Saving Action-Associated Cost Serves as a Covert Reward	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnbeh.2020.00141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hasegawa Ryota、Ebina Teppei、Tanaka Yasuhiro R.、Kobayashi Kenta、Matsuzaki Masanori	4. 巻 15
2. 論文標題 Structural dynamics and stability of corticocortical and thalamocortical axon terminals during motor learning	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0234930
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0234930	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ebina Teppei、Obara Keitaro、Watakabe Akiya、Masamizu Yoshito、Terada Shin-Ichiro、Matoba Ryota、Takaji Masafumi、Hatanaka Nobuhiko、Nambu Atsushi、Mizukami Hiroaki、Yamamori Tetsuo、Matsuzaki Masanori	4. 巻 116
2. 論文標題 Arm movements induced by noninvasive optogenetic stimulation of the motor cortex in the common marmoset	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 22844 ~ 22850
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1903445116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 野村 晋ノ介
2. 発表標題 自動インジェクションロボットの開発による >10,000細胞広域カルシウムイメージング
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川 亮太
2. 発表標題 運動学習過程における皮質間・視床皮質間投射軸索終末構造のダイナミクスと安定化
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Frontal cortical activity with long-range input.
3. 学会等名 SfN2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Motor information flow between the mouse motor cortices
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------