

令和 4 年 5 月 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19907

研究課題名（和文）固有感覚入力を受ける脊髄介在ニューロンの運動制御における役割

研究課題名（英文）The role of spinal interneurons receiving sensory input in motor control

研究代表者

中川 浩（Nakagawa, Hiroshi）

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任助教（常勤）

研究者番号：10732901

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：胸髄に位置する脊髄介在ニューロン（INs）の一部は、同側および対側の腰髄領域に神経軸索を投射していること、そしてこれら神経細胞のうち主に対象足と同側に位置している脊髄INsのみが後肢の運動機能および中枢神経損傷後の機能回復に寄与していることが明らかとなった。また、神経細胞タイプごとの軸索投射パターンを確かめた結果、同じ胸髄に位置する脊髄INsであっても腰髄への投射パターンが異なること、またこれまでの結果と同様にいずれの神経細胞タイプにおいても同側および対側の腰髄領域に神経軸索を投射していることが確かめられた。これら異なる神経細胞集団は行動学的解析においても、機能的な違いが観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

正確な動作の遂行には、運動コマンドの適切な出力と感覚情報の入力制御が重要である。脊髄INsは、この両者を担っている部分のひとつでありその神経基盤を明らかにすることは、運動の学習メカニズムのみならず中枢神経損傷後の機能回復メカニズムの解明にもつながる。これまで正常な状態では、胸髄に位置する脊髄INsは後肢の運動機能には関わっていないと考えられていた。しかし、本成果よりある種の脊髄INsは同側の後肢機能の一部を制御しており、それらは中枢神経損傷後に失われた機能の一部を代償することが明らかとなった。これらの成果は、中枢神経損傷後の機能回復を促す治療法の開発にもつながるものであると考える。

研究成果の概要（英文）：Spinal interneurons which were located in thoracic cord projected axons into ipsi- and contralateral lumbar cord. Only the spinal interneurons which were located in ipsilateral thoracic cord contributed to motor behavior and recovery of the ipsilateral hindlimb function in the intact condition and after spinal cord injury, respectively. We confirmed the projection pattern in each type of spinal interneurons. Some type of spinal interneurons projected axons into the both sides of lumbar cord. We investigated their function in the intact condition by using genetic tool. As a result, it depended on the difference of the subtype of spinal interneurons.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：脊髄介在ニューロン 神経可塑性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

運動時には、動かしている四肢から動きのスPEED、力、位置などの感覚情報が随時脳に送られており、脊髄には皮膚、筋肉、関節から触覚、痛覚、運動感覚、位置覚などの様々な感覚情報を受容する細胞が多数存在する。感覚入力システムに障害がみられると正確な動作等を行うことが難しくなるばかりでなく、新規運動の習得困難や中枢神経損傷後の運動機能回復の妨げになることもある。

脊髄介在ニューロン (INs) は、末梢からの感覚入力を受け取るとともに大脳皮質や脳幹からの運動出力も下行性神経路を介して入力している。これまで、脊髄 INs は、脳からの運動出力および末梢からの感覚入力を中継するだけの役割だと考えられていた。しかし、近年脊髄 INs はタイプごとに多岐にわたる機能が備わっていることが明らかにされつつある。

四肢からの固有感覚情報もまた脊髄 INs を介して大脳、脳幹や小脳などに送られる。一側四肢からの固有感覚情報は、脊髄 INs を介して、同側、対側の小脳および同側脳幹に送られる。同側、対側の小脳に固有感覚情報を伝える脊髄 INs の解剖学的な特徴としては、脊髄の内側中間部に位置し、対側側索方向に神経軸索を伸ばし、そのまま同側小脳 (脊髄 INs の位置からみて対側) に神経軸索を投射するタイプと同側側索に神経軸索を伸ばし、そのまま同側小脳に投射するタイプに分けられる。つまり、運動に付随し生じる一側四肢からの固有感覚情報は脊髄 INs を介して分けられ両側の小脳に送られることになる。しかしながら、分けられた固有感覚情報がどのように運動機能に影響を及ぼしているのかは不明のままである。また、感覚情報の入力を受ける脊髄 INs が運動機能に及ぼす影響についても不明な点が多い。

2. 研究の目的

中枢神経は外界からの刺激などによって常に機能的、構造的な変化 (神経可塑性) を起こしており、このような変化は中枢神経損傷後の機能回復のみならず運動学習や、記憶などにおいても重要な役割を担っている。本研究では、ウイルスベクターを利用した神経ネットワーク解析や解剖学・行動学的解析を駆使して、末梢からの感覚入力を受ける脊髄介在ニューロン (INs) が運動機能に及ぼす影響を明らかにするとともに新規運動学習および中枢神経損傷後の運動機能回復の神経基盤の確立につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

研究開始当初は、頸髄に位置しかつ固有感覚の入力を受ける脊髄 INs に焦点をあて研究を進めていたが、注入実験による影響が予想より行動学的解析に影響を及ぼしたため、ターゲット領域を胸髄に変更して解析を進めた。

(1) 脊髄 INs の神経軸索投射パターンおよび分布様式

胸髄に位置する脊髄 INs が後肢運動機能に寄与するためには、運動コマンドを直接もしくは間接的な神経回路を介して腰髄領域に伝達させる必要がある。そこで、これら脊髄 INs の神経軸索の投射パターンを確かめるために、片側の腰髄に逆行性トレーサーを微量注入し胸髄領域において逆行性トレーサーで標識された細胞数を解析した。

(2) 脊髄 INs が運動機能に及ぼす影響

胸髄 INs が後肢運動機能に直接寄与しているか否かを確かめるため、片側胸髄領域に神経細胞

死を誘導する薬剤を直接注入し、後肢機能を Locomotor Score (オープンフィールドテストのひとつであり後肢の動きをスコア化する) Ladder walk test (はしごの上を歩き、後肢がはしごを踏み外したかどうかを評価する) および Beam walk test (細い板状の上を一定距離歩き、後肢を踏み外したどうか、また何歩で歩くことができたかを評価する) を用いて検討した。

(3) タイプの異なる脊髄 INs の神経投射様式

脊髄 INs は遺伝学的にいくつかのタイプに分けられる。そこで、脊髄 INs タイプの違いによる神経軸索の投射パターンを遺伝子組換えマウスおよびウイルスベクターを用いて順行性にラベルし腰髄領域において解析した。

(4) 中枢神経損傷モデルの作製

中枢神経損傷後に胸髄に位置する胸髄 INs が運動機能回復に寄与するか否かを確認するためには、運動機能回復が見込まれるモデルかつ胸髄に位置する胸髄 INs の可塑性を観察できるモデルが必要である。そこで、胸髄 INs のうち腰髄に神経を投射しているタイプの軸索が切断される胸髄 10 領域で損傷するモデルを用いた。損傷範囲は片側の胸髄のみを損傷させ、もう片側は無傷な状態となるように作製した。脊髄損傷を行った後、後肢の運動機能を(2)と同様の行動解析を用いて評価した。

(5) 脊髄損傷後における脊髄 INs が運動機能に及ぼす影響

胸髄 INs が脊髄損傷後の後肢運動機能回復に寄与しているか否かを確認するため、脊髄損傷後自然経過に伴い機能回復が認められた後、損傷側でかつ損傷部より上位に位置する胸髄 INs に対して(2)と同様の方法を用いて注入を行った後、行動学的な解析を行った。

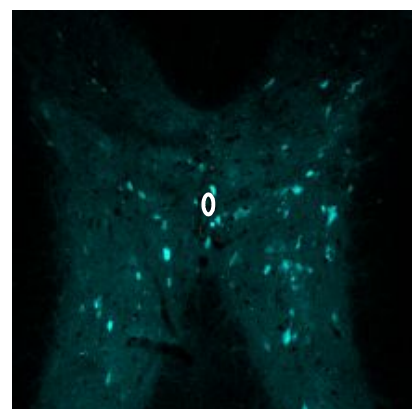
4. 研究成果

(1) 脊髄 INs の神経軸索投射パターンおよび分布様式

胸髄において逆行性トレーサー陽性細胞数を解析した結果、多くの陽性細胞を両側性に確認することができ、その割合は同側に約 56%、対側に約 44%であった(図1)。これらの結果は、胸髄に位置する脊髄 INs の中には、両側の腰髄に神経軸索を投射しているタイプが存在することを意味している。

図1. 片側腰髄領域に逆行性トレーサーを微量注入し、胸髄領域において細胞体を可視化している。逆行性トレーサーによりラベルされた細胞(水色で標識)が脊髄(胸髄)の灰白質に多数観察される。中心に位置する白丸は中心管を示す。

対側 同側



(2) 脊髄 INs が運動機能に及ぼす影響

片側胸髄 INs の細胞死を誘導する前後において、Locomotor Score に変化はみられなかった。一方、Ladder walk test における同側後肢(神経細胞死を誘導した側の後肢)のミスステップお

よび Beam walk test における歩数には有意な増加がみられた。全ての行動解析が終わった後、片側腰髄領域に微量の逆行性トレーサーを注入した結果、胸髄領域において逆行性トレーサー陽性細胞数がコントロール群に比べて減少していることが確認された。これらの結果から、胸髄 INs は主に同側後肢の運動機能を制御していることが推察された。

(3) タイプの異なる脊髄 INs の神経投射様式

今回解析したタイプの脊髄 INs においては、全てにおいて両側腰髄に神経軸索を投射していることが分かった。しかし、その割合や量についてはタイプにより異なっていることが明らかとなった。

(4) 中枢神経損傷モデルの作製

片側の胸髄 T10 損傷後より 7 週間にわたり後肢機能の経時的変化を解析した。その結果、全ての行動評価において片側脊髄損傷後著しい機能低下(主として同側の後肢)が観察されたが時間経過とともに徐々に機能回復がみられた。

(5) 脊髄損傷後における脊髄 INs が運動機能に及ぼす影響

全ての行動解析が終了した後、胸髄 INs の細胞死を誘導した結果、一度回復した運動機能が再び悪化した。(4)の結果と組み合わせると同側の胸髄 INs が脊髄損傷後の運動機能回復に寄与している可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yamanaka Hajime, Takata Yu, Nakagawa Hiroshi, Isosaka-Yamanaka Tomoko, Yamashita Toshihide, Takada Masahiko	4. 巻 16
2. 論文標題 An enhanced therapeutic effect of repetitive transcranial magnetic stimulation combined with antibody treatment in a primate model of spinal cord injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0252023
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0252023	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 該当する
1. 著者名 Suzuki Michiaki, Inoue Ken ichi, Nakagawa Hiroshi, Ishida Hiroaki, Kobayashi Kenta, Isa Tadashi, Takada Masahiko, Nishimura Yukio	4. 巻 600
2. 論文標題 A multisynaptic pathway from the ventral midbrain toward spinal motoneurons in monkeys	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 1731～1752
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1113/JP282429	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 該当する
1. 著者名 Ninomiya Taihei, Nakagawa Hiroshi, Inoue Ken-ichi, Nishimura Yukio, Oishi Takao, Yamashita Toshihide, Takada Masahiko	4. 巻 16
2. 論文標題 Origin of Multisynaptic Corticospinal Pathway to Forelimb Segments in Macaques and Its Reorganization After Spinal Cord Injury	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Neural Circuits	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/fncir.2022.847100	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 該当する
1. 著者名 Takata Yu, Nakagawa Hiroshi, Ninomiya Taihei, Yamanaka Hajime, Takada Masahiko	4. 巻 11
2. 論文標題 Morphological features of large layer V pyramidal neurons in cortical motor-related areas of macaque monkeys: analysis of basal dendrites	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83680-5	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 該当する

1. 著者名 Ueno Masaki, Nakamura Yuka, Nakagawa Hiroshi, Niehaus Jesse K, Maezawa Mari, Gu Zirong, Kumanogoh Atsushi, Takebayashi Hirohide, Lu Qing Richard, Takada Masahiko, Yoshida Yutaka	4. 巻 30
2. 論文標題 Olig2-Induced Semaphorin Expression Drives Corticospinal Axon Retraction After Spinal Cord Injury	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 5702 ~ 5716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhaa142	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪大学大学院医学系研究科 分子神経科学
<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molneu/>

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
---------	---------