

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15927

研究課題名（和文）自発的な運動開始に関与する皮質－皮質下ネットワークの解明

研究課題名（英文）Elucidation of Cortico-Subcortical Network Interactions Involved in the Initiation of Spontaneous Movements

研究代表者

寺田 晋一郎 (Terada, Shin-ichiro)

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：40847274

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：適切なタイミングで運動を開始することは、生物が時事刻々と変化する環境に適応し生存するために重要である。本研究では、自発的な運動開始における脳内の運動情報処理機能について、大脳皮質の活動や機能と、その大脳基底核との関係性について調べた。1光子および2光子カルシウムイメージングを用いて神経活動を計測することで、運動開始に関与する運動皮質の一次領域と高次領域における機能的な分化と階層的な運動情報処理メカニズムについて明らかとした。また、それら機能の大脳基底核との関連性を解明するために、ドーパミンの生体内での光計測に取り組んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大脳皮質と大脳基底核の相互作用は、運動制御の基本的なプロセスの一部であると広く認識されているが、その詳細なメカニズムはまだ完全には解明されていない。本研究は、回路レベルでの詳細な研究が可能なマウスでこれら脳領域間の相互作用を調べる新たな実験系を構築したものであり、今後、運動開始におけるその役割についてさらなる知見の発見が期待される。また、本研究は運動制御に関連する神経疾患の理解を深めることに役立つ可能性が考えられる。特に、パーキンソン病や運動失調症など、大脳基底核の異常が関与していると考えられる疾患の理解と治療法の開発に対する影響は大きいと期待される。

研究成果の概要（英文）：Starting appropriate movements at the right time is crucial for organisms to adapt to the constantly changing environment and survive. In this study, we have focused on the activity and function of the cerebral cortex in spontaneous movement initiation, using a rodent model. By observing neuronal activity using single-photon calcium imaging and two-photon calcium imaging, it was suggested that there is a functional differentiation and hierarchical movement information processing mechanism in the primary and higher areas of the motor cortex involved in movement initiation. Furthermore, to elucidate the association with the basal ganglia, we have worked on in vivo photometry of dopamine.

研究分野：脳神経科学

キーワード：運動制御 脳科学 カルシウムイメージング

1. 研究開始当初の背景

適切なタイミングで適切な運動を開始することは、生物が時事刻々と変化する環境に適応し、生存するために重要である。自発的な運動の開始に先行して起きる脳活動は準備電位と呼ばれ、古くより人における自由意志との関連なども含めた広範な研究がなされてきたが、その機構については未だに不明な点が多い。運動の開始の制御は、大脳皮質運動野と大脳基底核の適切な連携が重要であると考えられている。これら二つの領域は、大脳皮質から大脳基底核へ、そして視床を介して再び大脳皮質へと戻るループ構造(大脳皮質-大脳基底核ループ)を形成している。自発的運動開始における大脳皮質-大脳基底核ループが果たす役割については、霊長類において古くより研究がなされてきたが、近年、齧歯類においてその構成要素である大脳基底核線条体からの大規模細胞活動計測や、ドーパミンの直接的計測が可能となって来たことで、その回路像全体での理解を進める機運が高まりつつある。しかし、運動の開始時における大脳基底核の活動やドーパミンの放出、そしてこれらと準備電位を含む広範な皮質活動との関係性についてはまだ十分に理解されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、自発的な運動開始における大脳皮質活動とその機能について明らかとし、それら活動や機能と、大脳基底核との関係性を解明することである。これにより、自発的な運動の開始がどのように脳内で調整されるのかを理解することができ、運動制御に関する新たな理解をもたらすことを目指す。

3. 研究の方法

自発的な運動開始に伴う大脳皮質活動について明らかとするため、運動課題を行っている際のマウスの大脳皮質にてカルシウムイメージングを実施する。その差異、単一細胞解像度を持つ2光子カルシウムイメージングと、個々の活動は分解できないが広い範囲からの取得が可能な広域1光子カルシウムイメージングという、マルチスケールでの神経活動計測を行い、その責任領域とダイナミクスについて明らかとする。そして、同定された責任部位について光遺伝学を用いた介入を行うことで、その因果的な機能について同定する。これら実験によって明らかにされた知見に基づき、課題遂行時における大脳基底核との相互作用について調べるため、上記実験を、大脳基底核におけるファイバーフォトメトリーや、カニューラを介した深部脳光刺激による光遺伝学と組み合わせる。大脳基底核への摂動に対する大脳皮質活動応答について広域1光子および2光子イメージングを用い取得しマクロスケール、ミクロスケールの影響について計測することで、本研究の目的である自発的な運動開始の脳内の調整機構について明らかとする。

4. 研究成果

頭部固定を行ったマウスにレバーを引くことで報酬が得られる運動課題について学習させた。その際、自らのタイミングで運動を開始する自発的条件、および音に反応して運動を開始する外発的条件という2条件を課すことで、自発的と外発的な運動開始の比較を可能とし、自発的な運動開始に特異的な活動や機能の同定を行った。

自発的な運動開始に伴う大脳皮質の神経活動について特徴づけるため、運動開始に伴う大脳皮質神経活動の広域1光子カルシウムイメージングを行った。本目的を遂行するため、大脳皮質の興奮性細胞において広く赤色変異型カルシウムプローブ(R-CaMP)を発現するトリプルトランスジェニックマウス(Emx1-cre; CaMKII-tTA; TIGRE-R-CaMP1.07)の機能評価から開始した。トリプルトランスジェニックマウスの頭蓋骨はレジンセメントにて半透明化し、経頭蓋骨でR-CaMPの蛍光を取得可能とした。上記状態とし、頭部固定を行ったマウスの背側大脳皮質全体を、広い視野(10 mm × 10 mm)を持つ蛍光マクロ顕微鏡を用いて蛍光観察することで、前頭連合野・運動野・体性感覚野、頭頂連合野、視覚野、背側側聴覚野という主要な大脳皮質領域の神経活動を同時取得可能とした。実際に生理的な神経活動をこの蛍光シグナルが反映しているかを明らかにするため、左右前肢それぞれに対して振動モーターを用いることで、感覚刺激を与え、その際の蛍光変化について評価したところ、左右前肢関連体性感覚領域における特異的な蛍光輝度変化が観察され、本実験系の妥当性を確認した。本研究で用いたトリプルトランスジェニックマウスのプローブの発現は十分に高く、30分程度の連続的なイメージング時において褪色は観察されなかった。運動課題遂行時のイメージングの結果、外発性運動開始時には聴覚野周辺での選択性の高い活動が観察された。一方で、自発的な運動開始における神経活動は大脳皮質広範における先行した活動上昇として観察され、強い領域特異性は見出されなかった。

次に単一細胞レベルでの情報表現について明らかにするため、2光子カルシウムイメージング

による単一細胞レベルでの活動計測を実施した。その結果、運動野の高次領域に相当する二次運動野(M2)が運動開始信号の差異を強くコードすることを発見した。この点についてさらに追求するため、薬理学と光遺伝学を用いて神経活動の抑制を行い、マウスの M2 および一次運動野(M1)の課題への関与を詳細に調べた。光遺伝学の実験ではアデノ随伴ウイルスによってアニオン透過型のチャンネルロドプシンを M2 および M1 へと発現させ、ガルバノスキヤナを用いた光照射システムを構築することで、高い時空間的分解能を持った実験系を確立した。その結果、M2 および M1 の両領域の活動を常に抑制した場合、自発的および外発的な運動開始両方において成功数が減少した。一方、刺激タイミングを制御した光遺伝学的抑制によって運動開始後に一過的に活動を抑制した場合、M2 への抑制では影響が見られず、M1 への抑制のみにおいて自発的および外発的な運動開始両方における運動障害が引き起こされることが明らかとなった。M2 における神経活動は自発的・外発的両方向に対する強い選択性を持っており、これらの結果は M2 の両方向の選択性と一致していた。また、運動開始後は M1 においてのみ機能障害が見られた結果は、M2 と M1 という二つの運動野における階層的な運動情報処理機構の存在を示唆しており、両脳領域を介した運動開始信号の処理機構の一端が明らかとなった。

次に大脳基底核の関与について明らかとするため、大脳基底核の中でも特に線条体において重要な役割を果たすと考えられているドーパミンについて生体内で光計測する系の立ち上げを行った。遺伝学的にコードされたドーパミンセンサーとしては GPCR をベースとした dLight についてアデノ随伴ウイルスを用いて神経細胞への発現を確認した。実際に行動中の個体においてその輝度変化が確認されたが、カルシウムセンサーと比較し、その変化量は小さいため、特に運動中の個体を対象とする場合、体動もしくはヘモダイナミクスによる変化によるアーチファクトとの区別が重要となることが明らかとなった。また、dLight の励起に用いられる青色の光は、脳内において広い蛍光範囲を持つ自家蛍光を生じさせ、特に微弱な蛍光を対象とする 2 光子カルシウムイメージングとの組み合わせにおいては検出器を飽和させてしまうことが明らかとなった。今後、プローブの選択や、イメージングの高い時間確度での制御の改良を進めることが、大脳皮質と大脳基底核の相互作用を解明していく上で重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takahisa Inoue, Shin-Ichiro Terada, Masanori Matsuzaki & Jun Izawa	4. 巻 35
2. 論文標題 A small-scale robotic manipulandum for motor control study with rodents	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advanced Robotics	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/01691864.2021.1912637	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 Terada Shin-Ichiro, Matsuzaki Masanori	4. 巻 11
2. 論文標題 Silent microscopy to explore a brain that hears butterflies' wings	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Light: Science & Applications	6. 最初と最後の頁 140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41377-022-00843-3	査読の有無 無
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 Terada Shin-Ichiro, Kobayashi Kenta, Matsuzaki Masanori	4. 巻 41
2. 論文標題 Transition of distinct context-dependent ensembles from secondary to primary motor cortex in skilled motor performance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 111494 ~ 111494
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2022.111494	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 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野村 晋ノ介、寺田 晋一郎、松崎 政紀
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 小原 慶太郎、蝦名 鉄平、正水 芳人、寺田 晋一郎、宇賀 貴紀、小松 三佐子、一戸 紀孝、渡我部 昭哉、水上 浩明、山森 哲雄、笠井 清登、松崎 政紀
2. 発表標題 カルシウムイメージングによるマーマセット聴覚野からのミスマッチ陰性電位記録
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 寺田 晋一郎、松崎 政紀
2. 発表標題 Transition of distinct context-dependent ensembles from secondary to primary motor cortex facilitates skilled motor performance
3. 学会等名 第45回 日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 寺田晋一郎
2. 発表標題 多領野2光子カルシウムイメージングによる高次運動野から一次運動野への文脈依存的な集団神経活動の遷移過程の解明
3. 学会等名 第21回 東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>プレスリリース:運動が上達する際に脳内で上流から下流へと情報が引き継がれるようになることを発見 https://www.m.u-tokyo.ac.jp/news/PR/2022/release_20221019.pdf</p>

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