

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B））

研究期間：2020～2023

課題番号：20KK0226

研究課題名（和文）適応的歩行の基盤としての脊髄 小脳回路の解明：実験と計算論的モデリングによる研究

研究課題名（英文）Experimental and computational modeling studies to unravel the spinal-cerebellar circuits underlying locomotor adaptation

研究代表者

柳原 大（Yanagihara, Dai）

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：90252725

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,000,000円

研究成果の概要（和文）：歩行を円滑かつ安定に遂行するために、1つの下肢（げっ歯類では後肢）においては、股関節、膝関節、足関節の3関節が協調的に働く運動学シナジーを有していることが重要であり、さらに、後肢や前肢の左右間での肢間協調は歩行における重心の移動や直進における安定性に非常に重要な働きを持っている。本研究においては、ラットや遺伝子変異マウスを対象に、主として左右分離型ベルトトレッドミル上での歩行の適応について、生理学および運動学的解析を行うとともに、解剖データに基づいた神経筋骨格の数理モデルによる動力学シミュレーションを用いて歩行の変容について検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

身体運動の適応的制御において、小脳が重要な役割を果たしているであろうことは既に示唆されているが、その一方で、小脳の障害として、脊髄小脳失調症や小脳梗塞によりその制御動態がどのような影響を受けるのかについては、未だ詳細には解明されていなかった。本研究の研究成果は、小脳障害による歩行制御機能の減退について詳細に明らかにするとともに、神経筋骨格モデルによる動力学シミュレーションから歩行に関わる神経制御機構のメカニズムに示唆を与える重要な所見を得ることができた。これらの成果は、脊髄小脳失調症などの小脳障害に対する治療やリハビリテーションのために非常に重要な基礎的知見であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In order to perform walking smoothly and stably, it is important for a hindlimb to have kinematic synergy in which the hip, knee, and ankle joints work cooperatively, and interlimb coordination among the four limbs is very important for stability when walking straight ahead. In this study, we conducted physiological and kinematic analyses of the adaptation of locomotion on a separated left-right belt treadmill in rats and genetically mutant mice. Moreover, we examined the transformation of walking using dynamical simulations based on a mathematical model of the neuromusculoskeletal system based on anatomical data.

研究分野：運動生理学

キーワード：歩行 運動学シナジー 肢間協調 適応 小脳 脊髄小脳失調症 小脳梗塞 歩容遷移

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歩行を円滑かつ安定に遂行するために、1つの下肢(げっ歯類では後肢)においては、股関節、膝関節、足関節の3関節が協調的に働く運動学シナジー(kinematic synergy)を有していることが重要であり、また、後肢や前肢の左右間での肢間協調(interlimb coordination)は歩行における重心の移動や直進における安定性に非常に重要な働きを持っている。歩行に関わる神経機構において、小脳は肢の運動学的情報について背側脊髄小脳路を介して受けており、また、腹側脊髄小脳路を介して脊髄内の歩行周期・リズムに関わる情報を受けている。小脳からの出力は脳幹を起始とする種々の下行路を介して、脊髄内のニューロンの活動調節に重要な役割を果たしている。

2. 研究の目的

本研究においては、種々の遺伝子変異マウスやラットを用いた生理学および運動学的解析と、解剖データに基づいた神経筋骨格の数理モデルによる動力学シミュレーションを用いて検証する構成論的手法を連携させることにより、歩行における小脳の適応制御機構について統合的に解明することを目的としている。

3. 研究の方法

(1)ラットにおける左右分離型ベルトトレッドミルでの歩行実験と神経筋骨格モデルを用いた動力学シミュレーションにおける歩行パターンの変容

本研究における目的の達成のため、マウスおよびラット各々に対して専用の左右分離型ベルトトレッドミル(Split-belt treadmill)実験系を製作し、ラットにおいては後肢での2足歩行、マウスにおいては4足歩行を主たる対象とした。ところで、運動の制御や学習に関わる神経機構を調べる際、新規な環境や外乱に繰り返し暴露し、それに対する運動学および生理学的な応答を分析することが、ヒトを対象にしても、また、実験動物を対象にしても同様に用いられている。左右分離型ベルトトレッドミルでは、左右のベルト速度を同一にしたTied条件では、外乱のない通常の歩行を観察することができ、左右のベルト速度を変更したSplit-belt条件では、特に速度が速い方のベルトへの接地が外乱として定常的に加えられることになり、条件・課題特異的な適応を観測することができる。

歩行における左右の肢の時空間的な協調の動態および適応を調べるために、正常野生型ラット(Wistar系、雄性)を対象とし、左右分離型ベルトトレッドミル上での歩行運動を課した。この後肢2足での歩行課題においては、ラットの前肢はハンドルに乗せた状態で、腰部にはハーネスを装着し、カウンターウェイトを用いて体重の半分以上の力が後肢にかかるように調整したが、この課題に馴化するまでには約1か月以上の期間を必要とし、人工的な実験条件と言わざるを得ない。左右のベルト速度が同じであるTied条件、左右のベルト速度が異なるSplit-belt条件(左右の速度比1.5倍、1.75倍、2.0倍)にて歩行を行わせた。後肢の解剖学的ランドマークである左右の腸骨稜、大転子、膝、外踝、第4中足骨骨頭にマーカーをラベルし、課題中の肢運動を計測および解析した。左右肢それぞれにおいて、マ

ーカーから推定した骨盤、大腿骨、脛骨、および外踝から第4中足骨骨頭までの足部の仰角を算出し、各歩行周期の運動に対し特異値分解を行った。

次に、本研究においては、ラットの後肢2足歩行において、小脳中間部の片側吸引除去による後肢の関節間協調への影響を調べた。

さらに、ラットの解剖学的データから筋骨格モデルと、脊髄を中心とした神経制御モデルを用いて神経筋骨格モデルを新たに作成し、代表的な歩行パターンである walk 歩容と trot 歩容について動力学シミュレーションを行い、歩行パターンにおける遷移について構成論的に検証した。

(2) マウスにおける左右分離型ベルトトレッドミルでの歩行の適応および小脳障害の影響

新たにマウス用に開発した左右分離型ベルトトレッドミルを用いて、四足歩行時に左右のベルト速度を同一にした Tied 条件と左右でベルト速度の異なる Split-belt 条件での肢運動の歩容の動態について深層学習技術を適用して行った。正常野生型マウスに加えて、SCA6 モデルマウスとして MPI-118Q マウス(Unno et al., PNAS, 2012)を対象にした。また、小脳皮質における歩行機能への関与における領域特異性を病態となるべく照らし合わせることを目的として、Rose Bengal の尾静脈への注入と小脳正中虫部への緑色レーザー光照射を用いた Photothrombosis 法による小脳梗塞モデルマウスを作成し、トレッドミル歩行、水平ラダー歩行、ローターロッド歩行試験を行った。

4. 研究成果

(1) ラットにおける左右分離型ベルトトレッドミルでの歩行実験と神経筋骨格モデルを用いた動力学シミュレーションにおける歩行パターンの変容

歩行における左右の肢の時空間的な協調の動態および適応を調べるために、正常野生型ラット(Wistar 系、雄性)を対象とし、左右分離型ベルトトレッドミル上での歩行運動を課し、特異値分解による解析の結果、時空間パターンはいずれの条件においても主に 2 成分で構成されていることを寄与率が示した。時間協調パターンについてはピーク位置の左右差を Tied 条件と Split-belt 条件で比較したところ、脚軸の回転運動に対応する時間協調に有意差が検出された。ヒトにおいて、Split-belt 条件で凡そ 100 歩以上連続して歩行すると、左右のストライド長はその期間中ほぼ一定の非対称性(左右差)を示すが、その一方で、片側肢の接地からその反対側肢の離地時におけるステップ長や両脚支持相持続時間などには Split-belt 条件の初期には大きな非対称性が生じ、歩行を連続していく中でその非対称性が減じられ、さらに、Tied 条件に戻した際には後効果(after effect)が観察され、これらが歩行における適応を認める重要なパラメータとして考えられる。本実験におけるラットの後肢 2 足歩行においては、Split-belt 条件で適応を示唆するステップ長や両脚支持相持続時間などにおけるパラメータの変化および後効果は認められず、また、時間協調パターンについても変容は観察されなかった。この所見は当研究室における先行研究(Fujiki et al., 2018)の所見を確認するものであると考えられる。以上より、ラットの左右分離型ベルトトレッドミルにおける後肢 2 足歩行時においては、特異値分解による運動学シナジー解析の結果、Tied 条件と比較して Split-belt 条件では脚軸の回転運動に対応する時間協調の変化に左右差が観察されるが、歩行を継続していく過程で生じる適応的变化は観察されないことが結論付

けられる。

小脳は肢の運動学的情報について背側脊髄小脳路を介して受けており、また、腹側脊髄小脳路を介して脊髄内の歩行周期に関わる情報を受けている。小脳疾患患者は多関節間の協調に障害が認められ、歩行においては、特に傾斜面を歩行する際に、膝関節と足関節の協調性に顕著な分離が生じることが報告されている。そこで、本研究においては、ラットの後肢2足歩行において、小脳中間部の片側吸引除去による後肢の関節間協調への影響を調べた。小脳中間部の片側傷害により、遊脚相における足先の挙上は著しく高くなったが、これは我々の先行研究において小脳中間部にムシモルを注入し、床上歩行時の後肢の足先の挙上が統計的に有意に高くなった初見と同様であった(Aoki et al., 2014)。一方、遊脚相における各関節の最小角度には小脳中間部傷害前後において有意な変化が認められなかった。特異値分解による運動学シナジー解析の結果、片側の小脳中間部傷害後により、脚軸の回転運動に対応する時間協調のピークタイミングが遅れ、また、そのタイミングの変動性が大きくなった。以上より、本研究におけるラットの後肢2足歩行課題においても、小脳中間部の機能障害により遊脚相における足先の挙上等に異常は観察され、また、運動学シナジーにおいても特に時間協調に影響が観察されることから、小脳が関節間の協調の生成に寄与していることが推測される。

四足動物においては、いくつかの固有の歩行パターンをもっているが、どの歩行パターンをとるかにについては概ね歩行速度によって決まっている。歩行速度は連続的に変化するのに対して歩行パターンの変化は不連続であり、この現象自体は古くから運動学的にも示されてきたが、その神経機構については未だ十分には明らかではない。近年、歩行運動を対象にした研究において、解剖学的データに基づく筋骨格モデルと生理学的知見に基づく神経制御モデルを統合した神経筋骨格モデルを構築し、動力学シミュレーションを介してコンピュータ上で歩行運動を再現することで、生理学的研究から導かれる仮説を構成論的に検証し、その機能的役割を理解しようとするアプローチが注目されている。本研究では、ラットを対象に、解剖学的データから筋骨格モデルと、脊髄を中心とした神経制御モデルを用いてラットにおける神経筋骨格モデルを新たに作成し、代表的な歩行パターンである walk 歩容と trot 歩容について動力学シミュレーションにおいて実現し、さらに、歩行パターンにおける遷移について構成論的に検証した。身体運動においては、種々の体性感覚情報に基づいて運動のタイミングが制御されることを示す知見がしばしば得られていることから、ここでは、肢の接地情報に応じて、神経制御モデル内における神経振動子の位相をシフトし、そのリズムをリセットするフィードバック系を組み込んだ。その結果として、動力学シミュレーションにおいて、歩行速度、すなわち接地持続時間の割合を変化させると、walk 歩容から trot 歩容へ、また、trot 歩容から walk 歩容へと歩行パターンにおける遷移現象を示すことが判明し、歩行速度を上げていく際と低下させていく際には、歩容遷移が生じる速度が異なるヒステリシス様相についても観察された。

(2) マウスにおける左右分離型ベルトトレッドミルでの歩行の適応および小脳障害の影響

本研究においては、新たにマウス用に開発した左右分離型ベルトトレッドミルを用いて、四足歩行時に左右のベルト速度を同一にした Tied 条件と左右でベルト速度の異なる Split-belt 条件での肢運動の歩容の動態について深層学習技術を適用して行った。正常野生型マウスにおいては、Tied 条件から

Split-belt 条件へ移行した際の運動学的特徴は前肢と後肢とは大きく異なり、前肢の左右間での時間的協調を必要とする両脚支持相持続時間や空間的協調を必要とするステップ長には Split-belt 条件の初期には大きな非対称性が生じ、歩行を連続していく中でその非対称性が減じられ、さらに、Tied 条件に戻した際には後効果(after effect)が観察された。一方で、後肢においては、そのような適応的变化は観察されなかった。

脊髄小脳失調症は様々な原因により病態も異なる難治性疾患であり、国内には2万人程度の罹患者がいると想定されている。脊髄小脳失調症 6 型(SCA6)は、1A-カルシウムチャンネル遺伝子内の翻訳領域における3塩基 CAG リピートの異常伸長で起きるポリグルタミン病であり、小脳のプルキンエ細胞が変性・脱落する。本研究においては、SCA6 モデルマウスとして MPI-118Q マウス(Unno et al., PNAS, 2012)を対象に左右分離型ベルトトレッドミルでの歩行の適応について調べた。SCA6 モデルマウスにおいては、前肢の左右間での空間的協調を表すステップ長において、Split-belt 条件から Tied 条件に戻した際に後効果が生じなく、適応の障害が示された。

また、本研究においては、小脳皮質における歩行機能への関与における領域特異性を病態となるべく照らし合わせることを目的として、Rose Bengal の尾静脈への注入と小脳正中虫部への緑色レーザー照射を用いた Photothrombosis 法による小脳梗塞モデルマウスを作成した。結果として、この小脳梗塞モデルマウスにおいては、小脳虫部第 4-6 小葉に局限したプルキンエ細胞および小脳分子層における細胞死等を生じ、通常のトレッドミル歩行における遊脚相持続時間の短縮や、水平ラダー歩行テストにおける踏み外しの増加などが判明した。この結果から、小脳梗塞のモデルマウスとして、Photothrombosis 法の有用性が確認された。

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 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Konosu, A., Matsuki, Y., Fukuhara, K., Funato, T., Yanagihara, D.	4. 巻 14
2. 論文標題 Roles of the cerebellar vermis in predictive postural controls against external disturbances.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3162
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-53186-x	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 Inoue, K., Asaka, M., Lee, S., Ishikawa, K., Yanagihara, D.	4. 巻 13
2. 論文標題 Gait disorders induced by photothrombotic cerebellar stroke in mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15805
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-42817-4	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 Kim, Y., Aoi, S., Fujiki, S., Danner, S. M., Markin, S. N., Ausborn, J., Rybak, I. A., Yanagihara, D., Senda, K., Tsuchiya, K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Contribution of afferent feedback to adaptive hindlimb walking in cats: a neuromusculoskeletal modeling study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 825149
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fbioe.2022.825149	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 Funato, T., Sato, Y., Sato, Y., Fujiki, S., Aoi, S., Tsuchiya, K., Yanagihara, D.	4. 巻 11
2. 論文標題 Quantitative evaluation of posture control in rats with inferior olive lesions.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20362
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-99785-w	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 Konosu, A., Funato, T., Matsuki, Y., Fujita, A., Sakai, R., Yanagihara, D.	4. 巻 15
2. 論文標題 A model of predictive postural control against floor tilting in rats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Systems Neuroscience	6. 最初と最後の頁 785366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnsys.2021.785366	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18件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Yanagihara, D.
2. 発表標題 Experimental and computational modeling approaches for unravelling neuromechanical mechanisms of postural and locomotor control
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Fukuhara, K., Konosu, A., Funato, T., Yanagihara, D.
2. 発表標題 Effect of pharmacological inactivation of the cerebellum on learning function for predictive postural control in rat
3. 学会等名 34th 2023 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鴻巣 暁, 柳原 大
2. 発表標題 二足立ちラットにおける予測的姿勢制御: 小脳虫部の役割と数理シミュレーション
3. 学会等名 第73回日本体育・スポーツ・健康学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柳原 大
2. 発表標題 実験と神経筋骨格モデルによる歩行の適応メカニズムの解明
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (neuro2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上 桂輔, 浅香 明子, 李 佐知子, 石川 欽也, 柳原 大
2. 発表標題 Photothrombosis法を用いた小脳梗塞モデルマウスにおける歩行障害
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (neuro2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松 拓実, 浅香 明子, 結城 笙子, 石川 欽也, 柳原 大
2. 発表標題 マウスにおける左右分離型ベルトトレッドミルでの歩行適応
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (neuro2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鴻巣 暁, 船戸 徹郎, 松木 勇磨, 酒井 隆太郎, 柳原 大
2. 発表標題 二足立ちラットにおける予測的姿勢制御: 小脳虫部の役割と数理シミュレーション
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (neuro2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 結城 笙子, 櫻井 芳雄, 柳原 大
2. 発表標題 ラットは不確実性が高い状況下において情報希求行動を増加させる
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 (neuro2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柳原 大
2. 発表標題 転倒に関わる神経機構：主としてモデル動物の知見から
3. 学会等名 第18回姿勢と歩行研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松 拓実, 浅香 明子, 結城 笙子, 石川 欽也, 柳原 大
2. 発表標題 マウスにおける左右分離型ベルトトレッドミルでの歩行適応
3. 学会等名 第18回姿勢と歩行研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 酒井 隆太郎, 浅香 明子, 鴻巣 暁, 青井 伸也, 船戸 徹郎, 柳原 大
2. 発表標題 小脳中間部片側傷害による歩行における運動学シナジーへの影響
3. 学会等名 第18回姿勢と歩行研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上 桂輔, 浅香 明子, 李 佐知子, 石川 欽也, 柳原 大
2. 発表標題 Photothrombosis 法を用いた小脳梗塞による歩行障害
3. 学会等名 第18回姿勢と歩行研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鴻巣 暁, 船戸 徹郎, 松木 勇磨, 酒井 隆太郎, 柳原 大
2. 発表標題 予測的姿勢制御における小脳虫部の役割 ラットにおける実験課題の構築と数理シミュレーション
3. 学会等名 日本小脳学会第12回学術集会・総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤 啓輔, 酒井 隆太郎, 柳原 大, 船戸 徹郎
2. 発表標題 ラットの歩行運動制御系の解明のための筋骨格モデルの構築
3. 学会等名 第34回自律分散システム・シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村松 海渡, 結城 笙子, 郡 宏, 柳原 大
2. 発表標題 職業性局所性ジストニア発症原理に関する神経数理モデルシミュレーション
3. 学会等名 第34回自律分散システム・シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金 勇紀, 青井 伸也, 藤木 聡一朗, Danner, S. M., Ausborn, J., Markin, S. N., Rybak, I. A, 柳原 大, 泉田 啓, 土屋 和雄
2. 発表標題 ネコ後肢の神経筋骨格モデルを用いた感覚フィードバックによる歩行適応機序の解析
3. 学会等名 計測自動制御学会関西支部・システム制御情報学会シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki, S., Sakurai, Y., Yanagihara, D.
2. 発表標題 Development of a new metacognitive task for rats
3. 学会等名 日本動物心理学会第81回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Higashi, M., Okita, M., Sato, N., Asaka, M., Aoki, H., Ishii, T., Ishiguro, T., Yanagihara, D., Yokota, T., Ishikawa, K.
2. 発表標題 SCA31 transgenic mice show pathogenic features similar to human patients
3. 学会等名 17th Asian Oceanian Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 柳原 大ほか	4. 発行年 2023年
2. 出版社 市村出版	5. 総ページ数 167
3. 書名 転倒およびその予防のブレインサイエンス	

〔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
研究分担者	青井 伸也 (Aoi Shinya) (60432366)	京都大学・工学研究科・准教授 (14301)	
研究分担者	結城 笙子 (Yuki Shoko) (60828309)	東京大学・大学院総合文化研究科・助教 (12601)	
研究分担者	藤木 聡一郎 (Fujiki Soichiro) (90770173)	獨協医科大学・医学部・講師 (32203)	

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			
米国	Drexel University			