

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24800018

研究課題名(和文) 歩行中の障害物回避動作における下オリーブ核 登上線維系入力 of 機能的意義

研究課題名(英文) The functional significance of the olivo-cerebellar input in obstacle avoidance during locomotion.

研究代表者

佐藤 和 (Sato, Yamato)

東京大学・総合文化研究科・助教

研究者番号：40637914

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000 円、(間接経費) 570,000 円

研究成果の概要(和文)：本研究は、歩行中の障害物回避動作における下オリーブ核 - 登上線維系破壊の影響を調査した。その結果 平面歩行において、破壊後はつま先の過度な拳上とストライドの短縮、遊脚相中の膝関節および足関節の過度な屈曲が観察された。また、破壊後の外側広筋では遊脚相後半の筋活動が観察されなくなり、大腿二頭筋では離地時の筋活動が観察されるようになった。破壊後の腓腹筋では、接地相中の筋活動休止時間および遊脚相後半の筋活動時間がそれぞれ延長した。障害物回避において、破壊後は不安定なつま先軌道を示した。その場合、回避肢の外側広筋、大腿二頭筋、前脛骨筋、腓腹筋において、破壊前とは異なる筋活動が観察された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the effect of lesions to the olivo-cerebellar pathway on obstacle avoidance during locomotion. The results are as follows. 1) The post-lesion animals showed excessive toe elevation, shortening stride length and hyper flexion of knee and ankle joints during the swing phase. 2) In post-lesion animals at normal ground locomotion, the vastus lateralis did not show muscle activity during the late swing phase. The biceps femoris showed muscle activity at lift-off. Moreover, the gastrocnemius showed prolongation of quiescent and active period during the stance phase and late swing phase, respectively. 3) In obstacle avoidance during locomotion, the post-lesion animals showed fluctuating toe trajectory. In this case, some muscle (the vastus lateralis, the biceps femoris, the tibialis anterior and the gastrocnemius) of avoiding limb showed different activity from pre-lesion animals.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学、身体教育学

キーワード：下オリーブ核 - 登上線維系 障害物回避 小脳 ラット 筋電図

1. 研究開始当初の背景

歩行中に障害物を跨ぎ越す動作は、歩行という周期的な動作に障害物を回避するための目標到達的な足先の軌道生成が付加された動作と考えられるが、障害物を回避するための正確な足先の軌道生成には、複数の関節を同時かつ協調的に制御することが重要である。ヒトの臨床神経科学的研究では、以下のことが報告されている。小脳疾患患者に上肢を用いた目標到達運動を課したところ、目標位置よりも遠くへ到達する *over shoot* 現象を示したが、肩関節を物理的に固定して肘関節のみで同様の目標到達運動を行うと到達位置の正確性が改善した(Bastian et al., 2000)。また、下肢を用いた目標到達運動課題では、小脳疾患患者は試行間で不規則な足の軌道を示して目標地点より遠くへ到達することが報告されている(Morton and Bastian, 2003)。これら先行研究の結果から、小脳は単関節ではなく多関節の制御が必要となる目標到達動作および足先の再現性ある軌道生成に重要な役割を持つことが示唆される。このように、小脳は歩行中の障害物回避動作に重要な役割を果たすことが推測されるが、現在までこの動作に対する小脳の役割について詳細に検討した研究はほとんど見当たらず、不明な点が多く残されている。

ところで、小脳皮質における神経回路の主役であり、唯一の出力細胞である小脳プルキンエ細胞に対して強力な興奮性シナプス結合を有する延髄下オリーブ核を起始とする登上線維は、プルキンエ細胞の活動に重要な役割を持つことが先行研究において報告されている(Batini et al., 1985; Cerminara et al., 2004)。外乱の無い平面歩行中において、登上線維からの入力により小脳プルキンエ細胞に生じる複雑スパイクは、1Hz 以下と非常に低頻度であり、その発火パターンも歩行の位相に非特異的なランダム活動を示す(Andersson et al., 1987; Yanagihara et al., 1994)。しかし、歩行中に外乱を加えた際には複雑スパイクの発火頻度が著しく増大することが報告されている(Andersson et al., 1987; Yanagihara et al., 1994)。また、登上線維から小脳プルキンエ細胞への興奮性シナプス入力を薬理的に阻害すると、プルキンエ細胞の自発発火が変調することも報告されている(Batini et al., 1985; Cerminara et al., 2004; Kakizawa et al., 2005)。

これらの先行研究の所見より、たとえ平面歩行時における登上線維入力が低頻度かつランダムに生じていたとしても、その入力は小脳プルキンエ細胞の発火活動に大きな影響を及ぼしていることから、歩行中の障害物回避動作における登上線維系入力の機能的意義について調べることは重要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の2点について調査し、運動学的データと対応させ検討することであった。

- (1) 下オリーブ核 - 登上線維系破壊が、歩行中の障害物回避動作における筋活動に与える影響を調べる。
- (2) 下オリーブ核 - 登上線維系破壊が、障害物回避動作中の登上線維入力による小脳プルキンエ細胞の発火活動に与える影響を調べる。

3. 研究の方法

本研究では、以下の実験を実施した。

- (1) 歩行中の障害物回避動作の基盤となる平面歩行に対する、下オリーブ核 - 登上線維系破壊の影響を行動学的および電気生理学的(筋活動調査)に調べた。
- (2) 歩行中の障害物回避動作に対する、下オリーブ核 - 登上線維系破壊の影響を行動学的および電気生理学的(筋活動調査)に調べた。
- (3) 下オリーブ核 - 登上線維系破壊を薬理的に実施したため、破壊の状況を組織化学的に調べた。

4. 研究成果

本研究によって得られた主な知見は、以下の通りである。

(1) 平面歩行

下オリーブ核破壊後は、破壊前と比較して後肢つま先の過度な拳上とストライド長の短縮が観察された(図1)。遊脚相中の膝関節及び足関節最大屈曲角度において、破壊後は破壊前と比較して有意に屈曲していた(股関節角度: $p = 0.146$, 膝関節角度: $p = 0.022$, 足関節角度: $p < 0.001$)。

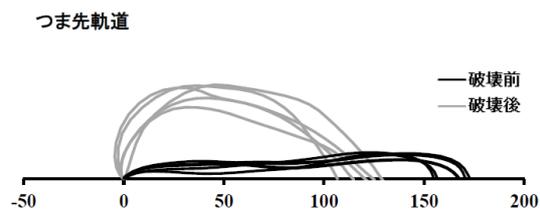


図1 平面歩行における後肢つま先軌道
*横軸の単位は mm

行動学的調査の結果を受け、電気生理学的に膝関節および足関節に関連する筋活動を調査した。その結果は、以下の通りであった。破壊後の外側広筋において、遊脚相後半の筋活動が観察されなくなった。破壊後の大腿二頭筋において、離地時の筋活動が観察されるようになった。破壊後の腓腹筋において、接地相後半では筋活動休止時間が、遊脚相後半では筋活動時間がそれぞれ延長した(図2)。

筋電図の結果を行動学的調査の結果(図1)と対応させてみると、以下のことが考えられた。遊脚相後半、破壊後の外側広筋において筋活動が観察されなくなったことはストライド長の短縮に関連し、破壊後に離地時の大腿二頭筋の筋活動が観察されたことは離地直後のつま先軌道の上昇に関連し、接地相および遊脚相それぞれの後半に関する腓腹筋の筋活動の変化はストライド長の短縮に関連するものと考えられる。

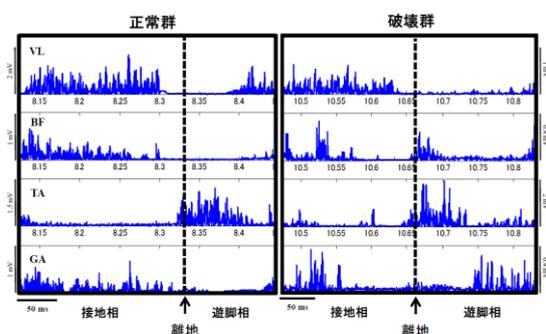


図2 平面歩行における後肢の筋活動
*左図 = 破壊前、右図 = 破壊後

上から外側広筋、大腿二頭筋、前脛骨筋、腓腹筋の筋活動を示す。点線は、離地を示し、離地から左が接地相、右が遊脚相を示す。

(2) 歩行中の障害物回避動作

下オリーブ核破壊後は、破壊前と比較して後肢つま先の不安定なつま先軌道が観察された(図3)。この結果に関して、電気生理学的に筋活動を調査したところ、回避肢の外側広筋、大腿二頭筋、前脛骨筋、腓腹筋において破壊前の正常無処置動物が示す筋活動とは異なる活動が観察された。特に、前脛骨筋は特徴的な活動を示した。回避中、破壊前の前脛骨筋は持続的な筋活動を示すが、破壊後では断続的な筋活動が観察された。

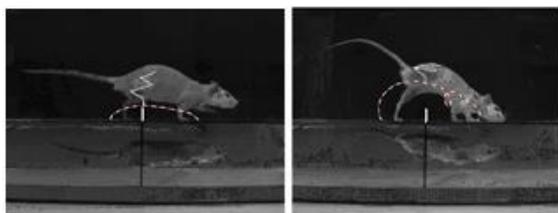


図3 下オリーブ核破壊前(左)と破壊後(右)

(3) 組織化学的検査

薬理的に下オリーブ核 - 登上線維系の起始核である下オリーブ核破壊を行ったため、還流固定を施した後にNissl染色を行い、下オリーブ核の細胞数を定量化することで下オリーブ核破壊の影響を確認した。組織化学的検査の結果、下オリーブ核の破壊が確認された(図4)。延髄下オリーブ核は、主オリーブ核、内側副オリーブ核、背側副オリーブ核に分類され、小脳皮質の虫部、中間部、外側半球部に投射している。そこで破壊の状況をより詳細に確認したところ、小脳虫部に投射する尾側の内側副オリーブ核は、比較的影響が少なかったが、その他の下オリーブ核は非常に高い割合で細胞死が確認された。小脳虫部は、姿勢制御に重要な役割を果たしていると考えられている。小脳虫部に投射する尾側の内側副オリーブ核への薬理的破壊の影響が少なかったことは、障害物回避動作という平面歩行にくらべて、より姿勢が不安定になる動作の遂行を可能にしたと考えられる。

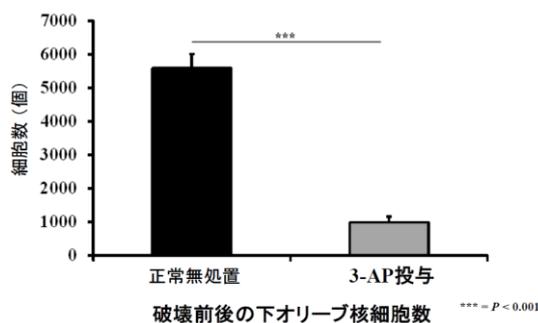


図4 下オリーブ核破壊前後の細胞数

(4) 平面歩行時および歩行中の障害物回避動作における小脳プルキンエ細胞の発火活動の検討

下オリーブ核 - 登上線維系破壊が、平面歩行および障害物回避動作中の登上線維入力による小脳プルキンエ細胞の発火活動に与える影響については課題として残された。今後の検討課題として挑戦していく予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- 1) Sho Aoki, Yamato Sato, Dai Yanagihara.
Lesion in the lateral cerebellum specifically produces overshooting of the toe trajectory in leading forelimb during obstacle avoidance in the rat. *Journal of Neurophysiology* 110(7): 1511-1524, 2013 (査読あり)
doi: 10.1152/jn.01048.2012.
- 2) Eri Takeuchi, Yamato Sato, Eriko Miura, Hiroshi Yamaura, Michisuke Yuzaki, Dai yanagihara. Characteristics of $\delta 2$ glutamate receptor mutant mice, ho15J. *PLoS One*, 7(10): e47553, 2012 (査読あり)
doi: 10.1371/journal.pone.0047553.
- 3) Sho Aoki, Yamato Sato, Dai Yanagihara. Characteristics of leading forelimb movements for obstacle avoidance during locomotion in rats. *Neuroscience Research* 74: 129-137, 2012 (査読あり)
doi: 10.1016/j.neures.2012.07.007.

[学会発表] (計 2 件)

- 1) 佐藤 和, 青木 祥, 柳原 大 (口頭発表) 平面歩行における下オリーブ核-登上線維系破壊の影響 第 68 回日本体力医学会, 2013 年 9 月 21 日(東京).
- 2) 青木 祥, 佐藤 和, 柳原 大 (口頭発表) ラットの平面歩行運動における小脳皮質中間部の薬理学的不活化の影響 68 回日本体力医学会, 2013 年 9 月 21 日(東京).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 和 (YAMATO SATO)

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号: 40637914