

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25560295

研究課題名(和文)身体性作業記憶に関わる神経機構についての基礎研究

研究課題名(英文)Fundamental research for understanding the working memory during locomotion

研究代表者

柳原 大(Yanagihara, Dai)

東京大学・総合文化研究科・准教授

研究者番号：90252725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：運動を行う際に、事前に行った動作による感覚情報及び動作の生成に関わった情報を、後の動作の生成に利用すると考えられ、この身体性に関わる作業記憶が重要な役割を持つであろうと推測される。

本研究では、アルツハイマー病(AD)発症に伴う作業記憶の障害が歩行時の障害物回避動作に与える影響をAD発症に伴う神経病理学的変化との関係から明らかにするため、マウスを用いた新たな障害物回避歩行課題を構築した。3xTgマウスはAD発症により障害物回避課題を行う際に後肢の接触率が高いこと、歩行時の後肢の制御に重要な役割を果たす作業記憶を評価した結果、AD発症後の3xTgマウスにおいて顕著な作業記憶の障害が判明した。

研究成果の概要(英文)：The working memory system involving the body schema that represents the geometry of the body with respect to the external environment, for example, obstacles and/or objects close to the body, could have a key role in regulating stepping movements during locomotion. This study demonstrates the importance of memory-guided limb control for stepping over an obstacle during locomotion, and the memory-guided limb movements in stepping over an obstacle were impaired in Alzheimer's disease (AD) model mouse.

We used the triple transgenic (3xTg) mice to examine the effects of memory deficits in terms of tripping and contact with obstacles. We found that the frequency of contact of the hindlimbs during an obstacle avoidance task increased significantly in 10-13 month-old 3xTg (Old-3xTg) mice compared with control mice. Furthermore, using an interrupted obstacle avoidance task, we found that Old-3xTg mice showed severe deficits in their working memory.

研究分野：運動生理学

キーワード：作業記憶 アルツハイマー病 歩行 障害物回避動作 マウス

1. 研究開始当初の背景

(1) 素早く単発的に遂行される動作は、主として脳からのフィードフォワード制御のもとで行われる。そのような動作の反復練習あるいは学習時には、事前に行った動作に関わる種々の感覚情報および動作の生成に関わった中枢性コマンドの遠心性コピー(efference copy)などの情報(ここではそれらを身体性情報と称する)を、これから行う動作の中枢性コマンドの生成に利用するものと考えられる。この際に重要な脳機能としては、この身体性情報を一時的に保持しておく機能であり、ワーキングメモリー(working memory: 作業記憶)の一つとして考えられる。

(2) 作業記憶は、認知行動を適切に遂行するために脳内で短期に保持される能動的な記憶と考えられ、現在までにヒト、サルなどの霊長類、ラットなどのげっ歯類等において、視覚、聴覚あるいは空間的位置情報、記号や言語情報などの作業記憶に関する神経機構の解明に多くの研究が行われてきた。しかしながら、運動時に必要とされる身体性の作業記憶については、研究対象としてもほとんど取り上げられることなく、その生成と保持に関わる神経機構については未だ不明のままである。最近 Pearson らの研究により、歩行時の視覚誘導型の障害物回避歩行動作においてもその遂行に作業記憶が関わっていることが示唆され、それは実際には動作を行わないで視覚的認知のみを行わせた際よりも長期間保持されることが示された(McVea and Pearson, 2006, 2009; Whishaw et al., 2009)。我々は、ラットを用いて、歩行路の前方に設置された障害物を跨ぎ越して回避する障害物回避歩行課題を構築し(Sato et al., 2012; Aoki et al., 2012)、さらに、身体性作業記憶に関わる神経機構を調べるための実験パラダイムとして、マウスにおいて前肢が障害物を跨ぎ越した後、一時的に歩行を中断させてから後肢の跨ぎ越し動作を課す課題を構築した。

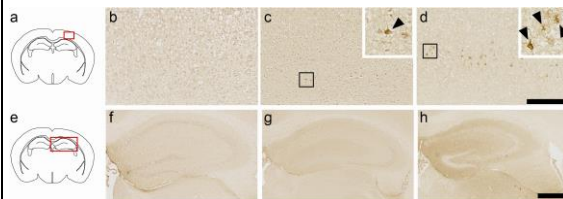
2. 研究の目的

アルツハイマー病(Alzheimer's disease: AD)患者において、歩行中などにおける転倒は健常な高齢者に比べて高い頻度で発生し、なかでも障害物を跨ぐ際に生じる下肢と障害物の衝突やそのあとの躓きが大きな割合を占めていることが疫学的研究から報告されている。また、AD患者に障害物回避歩行課題を課した研究では、障害物との接触回数が多いことが報告されている。歩行時に小石や段差などの障害物を安全かつ正確に跨ぎ越す際には、視覚情報に基づく障害物の認知、動作の視覚的制御のみならず、障害物に関する空間的情報を一時的に記憶し、その記憶に基づいて歩行動作を適切に制御することが重要である。AD患者における歩行時

の障害物との接触や転倒の原因としてはADにより生じる認知機能、注意機能、作業記憶機能の低下が予想されるが、作業記憶に関わる脳機能が関与するかどうか調べた研究はほとんどない。視覚情報を手がかりとした上肢の目標到達動作において、目標の呈示から動作開始までの時間を遅延させ、作業記憶を基にした目標到達動作をAD患者に課すとその動作が不正確になることが報告されている。このような先行研究の結果から、AD患者における作業記憶機能の障害は歩行中の障害物回避歩行時の躓きやそれにとまなう転倒に大きな影響を及ぼしている可能性が示唆される。そこで本研究は、AD発症に伴う身体性作業記憶の障害が歩行時の障害物回避動作に与える影響を加齢およびAD発症に伴う神経病理学的変化との関係から明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、AD動物モデルとして、加齢とともにヒトのAD患者の組織学的病理所見と類似した脳の変性を示す3xTgマウスを用いた(Figure 1)。3xTgマウスは4~5カ月齢からヒトのAD患者と類似した病理所見を示すので、野生型マウス、2~5カ月齢(若齢)および10~13カ月齢(高齢)の3xTgマウスの3群を設定した。なお、本研究は、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本方針(文部科学省)」、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン(日本学術会議)」、東京大学動物実験実施規則および東京大学遺伝子組換え生物等の使用等実施規則に従い、科学的な観点、動物愛護の観点、安全確保の観点、環境保全の観点から見て適切に行われた。



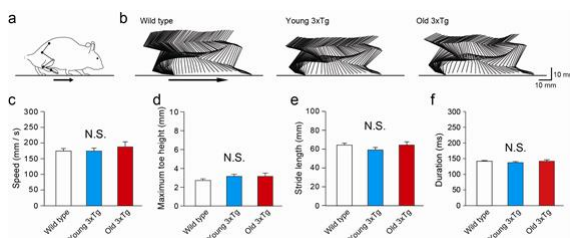
**Figure 1** Amyloid b deposition in cortex and hippocampus. Schematics of coronal mouse brain sections (a,e). Red boxes indicate the region shown in the panels showing the cortex (b-d) and hippocampus (f-h), respectively. (b,f) No Ab depositions were visible in the cortex (b) or hippocampus (f) of WT mice (8 months old). (c,g) The cortex of Young-3xTg mice (5 months old) has slightly visible amyloid plaques (c), but no plaques were observed in the hippocampus (g). (d,h) The Old-3xTg mice (13 months old) show markedly larger Ab depositions. Black boxes indicate the region shown in insets (c,d, insets) and arrow heads indicate Ab deposition. Scale bar, all images: 250 μm (b-d) and 500 μm (f-h). Original magnifications, 10x (b-d), 80x (c,d, insets), 5x (f-h).

マウスの平面歩行時と障害物回避歩行時における四肢の動作を高速度ビデオカメラにより記録・解析した。さらに、障害物回避

歩行時の後肢の制御に関わる身体性作業記憶を評価する実験パラダイムとして新たに遅延障害物回避課題を構築した。遅延障害物回避課題は、通路を前進してきたマウスが障害物を前肢が跨ぎ越した後に、予め設置してあった餌により制止させ、制止中に障害物は撤去され、その後、餌を前方に移動することで再度歩行を誘導するものである。

#### 4. 研究成果

(1) 障害物回避歩行時に障害物と最初に接触した肢の接触率を調べた結果、高齢 3xTg マウスは野生型マウスおよび若齢 3xTg マウスと比較して後肢の接触率が高かった。先行研究では、四足動物の障害物回避時の前肢の動作には視覚認知や注意機能が重要な役割を果たし、後肢の制御は前肢と比して記憶情報に依存していると考えられている。高齢 3xTg マウスの前肢の接触率には他の2群と差が認められなかったことから、AD発症による視覚認知や注意機能の低下が後肢の接触率が高い要因ではないと考えられた。高齢 3xTg マウスにおいて後肢特異的に接触率が高い原因として AD 発症による運動機能障害の影響による可能性も推測されたので、平面歩行および障害物回避歩行時の後肢の動作解析を行った。その結果、平面歩行時における歩行速度、後肢の時間的空間的パラメーター、すなわち、歩幅、遊脚相におけるつま先拳上高、遊脚相持続時間に3群間で有意な差異は観察されなかった (Figure 2)。



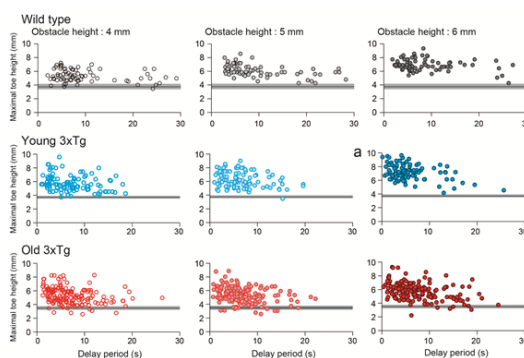
**Figure 2** Kinematic analysis of overground locomotion.

(a) Positions of the landmarks are indicated. The horizontal black arrow indicates the direction of movement. (b) Stick figures of hindlimb movements in wild-type (WT), young 3xTg, and older 3xTg mice during the step cycle. (c-f) Spatial and temporal parameters: walking speed (c), maximal toe height during overground locomotion (d), stride length (e), and swing duration (f). All averages are from 8 animals. The data were analysed by means of two-way analysis of variance, followed by individual comparison in Bonferroni post hoc tests. The results are presented as mean  $\pm$  SEM. N.S. = not significant.

また、障害物回避歩行における障害物との接触が無かった成功試行においては、高齢 3xTg マウスは野生型マウスおよび若齢 3xTg マウスと同様に障害物の高さに応じた動作の調節が可能であった。以上より、高齢 3xTg マウスにおいて後肢の接触率が高い原因として、後肢を制御する際に必要な身体性作業

記憶の障害が示唆された。

(2) そこで、障害物回避歩行時の後肢の制御に関わる身体性作業記憶を評価する実験パラダイムとして新たに遅延障害物回避課題を構築した。この遅延障害物回避課題は、通路を前進してきたマウスが障害物を前肢が跨ぎ越した後に、予め設置してあった餌により制止させ、制止中に障害物は撤去され、その後、餌を前方に移動することで再度歩行を誘導するものである。野生型マウスおよび若齢 3xTg マウスにおいては、10 秒以内の制止期間後、設置されていた障害物より後肢を高く拳上することが観察された。しかしながら、高齢 3xTg マウスは 10 秒以内であっても後肢の高さが設置されていた障害物より低下する傾向が観察された (Figure 3)。



**Figure 3** Delayed obstacle avoidance task.

Scatter plots of maximal toe heights of the first step after the delay period. These data show only the leading hindlimb. The horizontal black and shaded lines indicate the maximal toe height of the control and s.e.m., respectively. WT (n = 8), Young-3xTg (n = 8), and Old-3xTg (n = 9) mice were used in this experiment.

これらの結果から、高齢 3xTg マウスは遅延障害物回避課題においてそれらの身体性作業記憶が障害されていることが示唆された。

以上より、3xTg マウスは AD 発症により障害物回避課題を行う際に後肢の接触率が高いこと、また、遅延障害物回避課題を構築し、歩行時の後肢の制御に重要な役割を果たす身体性作業記憶を評価した結果、AD 発症後の 3xTg マウスにおいて顕著な作業記憶の障害が生じていたことが判明した。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Setogawa, S., Yamaura, H., Arasaki, T., Endo, S., and **Yanagihara, D.**: Deficits in memory-guided limb movements impair obstacle avoidance locomotion in Alzheimer's disease mouse model. *Scientific Reports* 4, 7220 (2014).

DOI: 10.1038/srep07220

〔学会発表〕（計 3 件）

① 瀬戸川 将, 山浦 洋, 遠藤昌吾, 柳原大. アルツハイマー病による作業記憶の障害が障害物回避歩行時に及ぼす影響. 第 11 回日本ワーキングメモリ学会大会. 京都大学(京都府・京都市). 2013 年 11 月 30 日.

② Setogawa, S., Yamaura, H., Endo, S., Yanagihara, D. Deficits in working memory related to obstacle avoidance during locomotion in Alzheimer's disease mutant mice. The Society for Neuroscience Annual Meeting 2013. San Diego Convention Center (San Diego, USA). 2013 年 11 月 12 日.

③ 瀬戸川 将, 山浦 洋, 遠藤昌吾, 柳原大. アルツハイマー病による障害物回避歩行時の身体情報に関わる作業記憶の障害. 第 68 回日本体力医学会大会. 日本教育会館(東京都・千代田区). 2013 年 9 月 21 日.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

柳原 大 (YANAGIHARA, Dai)  
東京大学・大学院総合文化研究科・准教授  
研究者番号：90252725

### (2) 連携研究者

石浦 章一 (ISHIURA, Shouichi)  
東京大学・大学院総合文化研究科・教授  
研究者番号：10158743