

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01854

研究課題名(和文) 大脳皮質運動野におけるベータ脳波の機能的意味を解明する

研究課題名(英文) Unveiling a functional implication of beta oscillations in the motor cortex

研究代表者

渡辺 秀典 (Watanabe, Hidenori)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00407686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ベータ波は運動に関与する12-30Hzの脳波として知られているが何を表現するのか不明な点が多い。昨今、非ヒト霊長類に導入され始めたオプトジェネティクスは特定の神経細胞に時間的に精緻に制御された活動を可能にさせる。そこでオプトジェネティクスを用いて神経活動を制御してベータ波が運動に与える作用を調査することでベータ波と運動の因果関係を明らかにする。その基盤として本研究では一次運動野への光刺激で手指運動の即時惹起が可能である程に高効率な光感受性イオンチャンネル(チャンネルロドプシン)の発現をニホンザルで成功させた。本成果はオプトジェネティクスのサル運動野への適用の普及に貢献する。

研究成果の概要(英文)：Beta oscillation is generally known as neural oscillation related to movements with a frequency range between 12 and 30 Hz. It, however, remains unclear what type of information is carried in beta oscillation. Optogenetics is capable of manipulating neural activity by targeting specific cells at millisecond precision. The proposed research will investigate if modulation of beta oscillations induced optogenetically can cause any changes in arm movement of macaque monkeys, thereby elucidating causality between beta oscillation and motor output. Our preliminary results showed a high level of expression of light-gated ion channel (ChR2) in the primary motor cortex in monkeys, and arm-movements were induced by optical stimuli. Thus, our results will be a basis to use optogenetic approaches to macaque monkeys in order to enhance our understanding of motor cortical circuits and their relation to behaviors.

研究分野：神経科学

キーワード：ベータ波 オプトジェネティクス サル 皮質運動野

### 1. 研究開始当初の背景

脳波の一つであるベータ波は霊長類の運動時に運動体性感覚野から観測される特徴的な 12-30Hz の皮質脳波であり、医療検査などでよく知られているが、神経回路レベルでの発現機構については不明な点も多い。

申請者はサル慢性実験において大規模な多次元データを収録し、サルが強い力または弱い力でレバーを引くタスクについて運動野 ECoG (Electrocorticogram, 硬膜下皮質脳波) のベータ波 (15-21Hz) を解析した。その結果、サルが上肢を動作させる直前でベータ波の特定の位相が運動野における中心溝近位に試行間を通じて常に出現すること (位相ロック) を明らかにした。この運動開始直前の位相ロックの出現は強い力を必要とする試行において再現性が高かった。この結果はベータ波の位相ロックは後に続く運動で発生する力の強弱という文脈を表現することを示唆する。一方で位相ロックを誘導する神経細胞へのどのような入力がかの強弱のような運動情報をどのようにして表現しているかは明らかではない。

### 2. 研究の目的

ベータ波発生時において時空間的に精緻に制御された刺激によるベータ波の位相ロックの修飾技法を試みる。ここでの修飾とは刺激による位相ロックの不発や発生タイミングのシフトである。刺激については特定の神経細胞の活動を高い時間精度で正確に制御できるオプトジェネティクス (光遺伝学) を適用する。ベータ波の位相ロックを修飾した場合、サルの上肢運動・筋活動の変化を分析することで、ベータ波と、運動や筋活動に因果関係があるかを解明できる。

### 3. 研究の方法

(1) サル皮質運動野においてベクタによる光感受性タンパク質の発現を本研究ではまず確認することで、非ヒト霊長類における大脳皮質光刺激の有効性を検証する。

アデノ随伴ウイルスベクターによってサル一次運動野に光感受性遺伝子 (チャンネルロドプシン) を注入し、その遺伝子によって発現される光感受性タンパク質を確認する (ニホンザル、オス 2 頭、メス 1 頭を使用)。確認は光刺激応答による神経活動を電気生理学実験で実施する。麻酔下 (キシラジン、ケタミン) におけるベクター注入部位近位にオプトロードを刺入し、光刺激時の神経活動電位を記録する。電気生理実験終了後に組織標本による光感受性タンパク質の発現を確認する。光感受性遺伝子と共に導入・発現される蛍光タンパク (GFP) を免疫染色によって細胞標識する。

(2) 高密度多点電極を使用し、サル運動課題中の皮質運動野からマルチチャンネル神経活動記録を実施し、ベータ波位相ロックの発生部位とタイミングについて詳細に調査する。

上肢到達弁別課題を訓練したサルに 256 チャンネルを慢性留置する (左運動前野 128 チャンネル・左一次運動野 128 チャンネル)。運動準備中におけるベータ波 (21-25Hz) の特定の位相が試行間を通じて有意な発生を解析する。

### 4. 研究成果

(1) 光刺激に対する神経細胞応答と筋活動を確認した。一次運動野内で足指・膝・大腿・体幹・肩・肘・手指への神経支配領域に同量のベクタを注入した。注入 4 週間において光刺激実験を実施した結果、刺激直後の神経細胞応答を記録した (Fig.1)。各体部位についての一次運動野の神経支配領域において刺激に惹起される筋活動を確認した。手指領域において光刺激に対する神経及び筋応答が最も顕著であった。

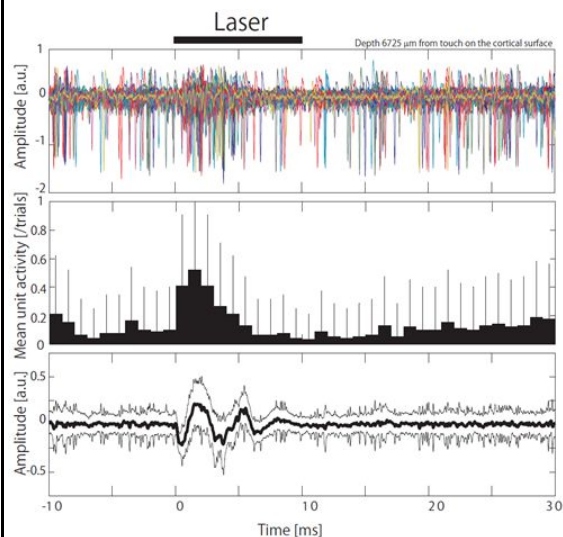


Fig.1. サル一次運動野の光刺激応答。光刺激時 (Laser) に神経発火 (上パネル) の頻度 (中パネル: 90 試行平均, SEM) が上昇した。下パネル: 局所電位 (Lowcut 60Hz)。

更に記録電極を用いた微小電流刺激による実験を同時に実施し、特定の神経細胞だけを刺激する光刺激と、刺激部位周辺の細胞や軸索を全て活性化させる従来からの電流刺激手法が本質的にどのように違うのかを調査した。電流刺激によって運動惹起される体部位の筋肉は光刺激によって活動されることを明らかにした。

刺激記録終了後 2 週間以内に組織標本を作製した。標本内に光感受性遺伝子 (チャンネルロドプシン) と共に導入される蛍光タンパクの細胞標識によって光感受性タンパクの発現を確認した (Fig.2)。

以上の結果を通じて、サル皮質運動野における光遺伝子発現を十分な確度で成功させた。サルにおけるオプトジェネティクスにおいてはウイルスベクターによる目的遺伝子の脳への注入・発現の手法が普及されているが、目的遺伝子の発現効率はベクタのコンス

トラクトや注入部位組織に大きく依存する一方でサルを使用するユーザー数はげっ歯類と比して少なく、実験数も限られ、サルに最適なコンストラクトの開発調査は不十分である。本研究成果はサルを使用したオプトジェネティクス実験技法の有効性の証となり、サルへのオプトジェネティクス適用の加速的普及に貢献する。

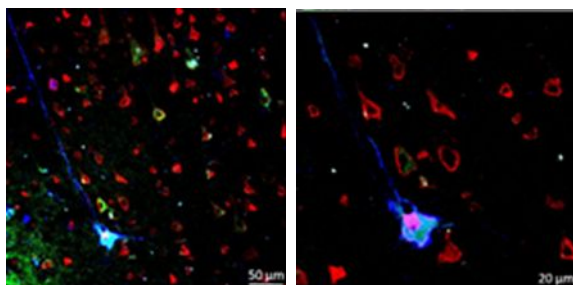


Fig.2. 免疫染色による導入遺伝子の発現の細胞。GFP 蛍光色素で標識した。サル一次運動野 V 層における錐体細胞の細胞体・先端樹状突起が右パネル(左パネルの一部拡大)の中央に表示される。

(2) 2 方向弁別課題において特定方向への指示信号の提示直後にベータ波の位相ロックが発生した(Fig.3)。位相ロックにおいては特定位相の発生頻度が急峻となる記録チャンネルは全体の 1/3 であった(78/256 チャンネル)。

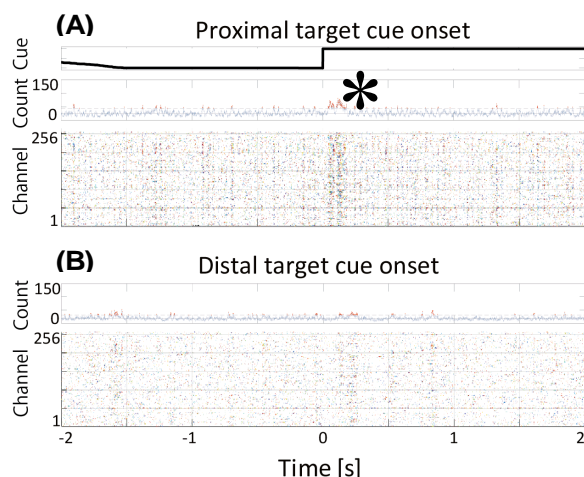


Fig.3. ベータ波位相ロックのダイナミクス。(A) 近位ターゲットへの到達指示課題。(上部パネル)視覚刺激提示(Cue)信号。(中部パネル)位相ロックは発生した記録チャンネル数の時間変遷。視覚刺激提示開始時刻前後2秒間における位相ロック平均発生数について、Cue直後は有意に大となる(\*,  $t$ -test,  $p < 0.05$ )。(下部パネル)256記録チャンネルにおける位相ロック発生タイミング。(B) 遠位ターゲットへの到達指示課題。Cue直後における位相ロックの発生頻度は小である。

この結果は皮質運動野におけるベータ波の位相ロックは課題条件指示信号の提示に応じて発生し、位相ロックの修飾は指示信号提示と同時の光刺激が効果的であることを示唆する。

今後はサル覚醒行動下における光刺激応答実験にて、ベータ波の位相ロックが運動に与える作用を明らかにする。

## 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 1 件)

Hidenori Watanabe, Kazutaka Takahashi, Tadashi Isa. Phase locking of  $\beta$  oscillation in electrocorticography (ECoG) in the monkey motor cortex at the onset of EMGs and 3D reaching movements. Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology 2015, 55-58. 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

Hidenori Watanabe, Kazutaka Takahashi, Hajime Mushiake. Phase Locking of  $\beta$  Oscillation in the Monkey Motor Cortical Areas with Chronic 3D Electrode Arrays. National Institute for Physiological Sciences, Research Meeting at Tohoku. P-12. 2017.11.24, Sakura Hall, Tohoku University, Sendai, Miyagi, Japan. Poster

Hidenori Watanabe, Hajime Mushiake, Kazutaka Takahashi. Phase Locking and Current Source Density Profiles of  $\beta$  Oscillation in the Monkey Motor Cortical Areas with Chronic 3D Electrode Arrays. International symposium Neural Oscillation Conference 2017, 'Problems of Consciousness and Neuropsychiatric Disorders as Network Diseases'. 2017.6.17. Tetsumon Memorial Auditorium, Univ. Tokyo, Tokyo, Japan

Ryosuke Hosaka, Hidenori Watanabe, Toshi Nakajima, Hajime Mushiake. Increased LFP theta power in primate motor areas reflects memorization of movement. The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. ACT CITY Hamamatsu, Shizuoka, Japan. 2017.3.30.

渡辺秀典. 霊長類(サル)における多点電極記録とその解析. 機械学習・情報理論・神経科学ワークショップ. 知識科学棟, 北陸先端科学技術大学院大学, 石川

県, 日本. 2017.3.21.

渡辺秀典. 大脳皮質運動野におけるベータ脳波の位相ロック. 第5回超異分野学会, 日本橋ライフサイエンスハブ, 日本橋, 東京, 日本. 2016. 3. 13. Poster

Hidenori Watanabe. Amplitude and phase of beta oscillation in electrocorticography in the monkey motor cortex at the onset of reaching movements. NTNU - Tohoku Univ. Brain Science Meeting. Life Science Project Research Building, Tohoku University Katahira Campus, Sendai, Japan. 2015 11.26. 筆頭口頭

Hidenori Watanabe, Kazutaka Takahashi, Tadashi Isa. Phase locking of  $\beta$  oscillation in electrocorticography (ECoG) in the monkey motor cortex at the onset of EMGs and 3D reaching movements. The 37th Annual International Conference of IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. MiCo - Milano Conference Center - Milan, Italy. 2015.8.25. 筆頭口頭

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.neurophysiology.med.tohoku.ac.jp/image/watanabehm/Functional%20roles%20of%20beta%20oscillations-j.jpg>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渡辺 秀典 (WATANABE, Hidenori)  
東北大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号: 00407686

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

虫明 元 (MUSHIAKE, Hajime)  
東北大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 80219849

高橋 和貴 (TAKAHASHI, Kazutaka)  
東北大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号: 90797945

梶田 裕貴 (KAJITA, Yuki)

東北大学・大学院医学系研究科・助手  
研究者番号: 00791849

南部 篤 (Nambu, Atsushi)  
生理学研究所・システム脳科学研究領域・教授  
研究者番号: 80180553

知見 聡美 (CHIKEN, Satomi)  
生理学研究所・システム脳科学研究領域・助教  
研究者番号: 30396262

佐野 裕美 (SANO, Hiromi)  
生理学研究所・システム脳科学研究領域・助教  
研究者番号: 00363755

小林 憲太 (KOBAYASHI, Kenta)  
生理学研究所・ウイルスベクター開発室・准教授  
研究者番号: 70315662

保坂 亮介 (HOSAKA, Ryosuke)  
福岡大学・理学部・助教  
研究者番号: 80569210

(4) 研究協力者  
なし