

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03536

研究課題名(和文) 学習による小脳構造マクロ可塑性の神経生物学的機構の解明研究

研究課題名(英文) Neurobiological mechanisms of cerebellar macroneuroplasticity associated with learning

研究代表者

花川 隆 (Hanakawa, Takashi)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：30359830

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：プログラミング学習における小脳灰白質容積の変化など、経験や訓練の基盤となるヒト脳の神経可塑的变化が、MRIで測定可能なマクロ構造指標として測定できることが明らかとなってきた。しかしこの現象の背景となる神経細胞、分子メカニズムは未だ不明である。我々は、ラットのオペラント学習に伴う小脳マクロ可塑性が生じることを発見した。この実験系を用いて、組織学的検討とAMPA受容体PETによる可塑性イメージングによりAMPA受容体を発現するシナプスの変化が脳構造マクロ可塑性に寄与しているという仮説を検証した。8匹のオペラント学習後ラットと対照ラットからAMPA受容体PET画像を得て解析を行なっている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳構造マクロ可塑性の背景となる分子メカニズムはほとんど解明されていない。今後の解析により学習を支える脳構造マクロ可塑性の分子メカニズムが明らかになれば、ギャップの大きい分子レベルの神経科学的知見とMRIなど神経回路レベルの神経科学的知見が連結する契機となる。また、この知見は、学習障害の病態解明、神経損傷回復からのリハビリテーションによる促進、学習を促進するための創薬など幅広い社会応用の道筋が開けると期待される。

研究成果の概要(英文)：It is increasingly clearer that we are able to observe neuroplastic changes in the brain associated with experiences and learning. Indeed, we have used MRI and found neuroplastic changes in the cerebellum associated with programming learning in humans and with operant conditioning in rodents. Here we intended to combine histological methodology and AMPA PET to elucidate neurobiological mechanisms underlying cerebellar neuroplasticity associated with learning in rats. We obtained PET data from 8 rats before and after operant learning and a control condition. We also acquired specimen after second PET scanning from both learning and control groups. We have developed methodology for histological methodology to measure cerebellar gray matter areas. We also developed methodology to assess changes in AMPA ligand uptake before and after learning. The statistical analysis is still underway.

研究分野：神経科学

キーワード：学習

1. 研究開始当初の背景

ヒトと非ヒト哺乳類の間で脳の基本構築には大きな不連続性はない。では、ヒト脳のどのような特性がヒトの知性のベースとなったのか？その候補は記憶容量の増大である。ヒトの脳は全種の中でも最多の860億個の神経細胞を有する。過剰な神経回路が張り巡らされた状態で出生し、生後に経験依存的にシナプス刈り込みが行なわれる。つまり、ヒトは巨大な潜在記憶領域を持って生まれ、生後の社会経験によって何が書き込まれるかが決まる。この能力のため、幼少期であれば、ヒトはヒトが創ったおよそどのような言語・文化体系にも適応できる。即ち、ヒトの知性の基盤は、経験に応じた巨大な潜在記憶領域への自在な書き込みと運用の能力である。この能力を支える神経生物学的メカニズムは神経可塑性と呼ばれている。

神経可塑性は、長年シナプスの長期増強やスパイン変化など機能的・微視的視点から研究されてきた。ところが神経イメージング技術の発達と普及により、MRIで測定できる灰白質容積や皮質厚や白質異方性など脳構造の特徴量が、学習の前後で変化することが明らかになった。つまり、経験や訓練による脳機能解剖の再構築は、従来考えられていたよりもマクロなレベルでも生じる。この現象を脳構造マクロ可塑性と呼ぶことにする。われわれは、MRIによる脳構造マクロ特徴量が、ヒトの様々な能力と関連し、さらに様々な認知・運動学習に伴って変化することを明らかにしてきた。さらに最近、高齢者の脳卒中後の片麻痺からの回復過程において、小脳におけるマクロ可塑性を見出した(投稿準備中)。すなわち、脳構造マクロ可塑性は発達期だけでなく、成人期、高齢期など人生の様々なステージで、学習や損傷からの回復に重要な役割を果たしている可能性がある。

脳構造マクロ可塑性の神経生物学的実体についてはいくつかの仮説が提唱されている(Zattore et al. 2013 Nat Rev Neurosci)。それは、1)神経突起(シナプス)の増加、2)グリアの増加、3)血管床の増加である。しかしその検証実験はほとんど存在しない。つまり脳構造マクロ可塑性の細胞・分子メカニズムは未解明である。この大問題にアプローチするためには出発点が必要であるが、われわれはラットのオペラント学習で、脳糖代謝の上昇部位(Hori et al. 2019 Neuroimage)に一致して小脳に構造マクロ可塑性が生じることを発見した(投稿準備中)。そこでまず「学習による小脳マクロ可塑性の組織・細胞学的実態は何か？」を問いとする。学習に伴う神経可塑性にシナプスのAMPA型グルタミン酸受容体(AMPA)が重要な役割を果たしていることは多くの研究で示されている。そこで第二の問いとして「脳構造マクロ可塑性に、シナプス新生、特にAMPAを介した過程がどの程度関わっているか？」を設定する。この問いには、最近開発されたAMPAに親和性の高いトレーサーと、細胞組織学的検討を併用して答えを出すことを目指す。

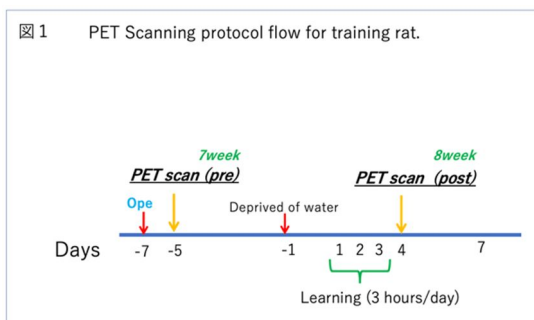
2. 研究の目的

本研究では、脳構造マクロ可塑性の背景となる細胞・分子メカニズムを二つの方向から解明する。まず、ラットオペラント学習に伴う小脳構造マクロ可塑性の細胞組織レベルでの観察を進め、神経突起を中心に、グリア細胞や血管などの候補のうち、どの成分がどの程度増加しているのかを細胞組織学的に明らかにすることを目指す。また、ラットオペラント学習実験系に、AMPAのPETを応用し、学習に伴い脳構造マクロ可塑性が生じる部位や脳代謝が増加する部位と、AMPAが増加する部位を全脳で比較する。MRIを用いてヒトで小脳の構造可塑性を誘導できる認知・運動学習課題を開発する。

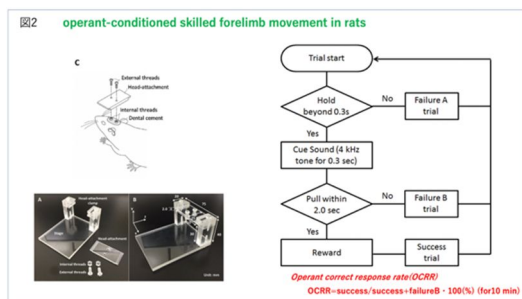
3. 研究の方法

(1) 組織学実験: 組織学的手法を用いて学習により増加する小脳の部位を特定し、その増加に寄与する細胞種および細胞成分を同定することを目的とする。コントロール群(学習なし)および学習あり群のラットから小脳組織切片を作製し、クレシルバイオレットを用いたニッスル染色を行った。MRI 画像解析から学習前後で体積の増加が認められた第 V および Via 小葉付近を中心に、小脳皮質全体および各層(分子層・顆粒細胞層・白質層)ごとの面積の比較定量を試みた。

(2) AMPA PET 実験: Long-Evans 種ラット(7 週齢、雄)の頭部に、PET 撮像時固定、及びオペラント学習頭部固定のための装置を取り付けた。その 2 日後に学習前条件として、 $[^{11}\text{C}]$ K-2 PET (Miyazaki et al. 2020 Nature Med)を用いた AMPA 受容体 PET 撮像(90 分)を行うと同時に頭部 CT 撮像も行った。撮像 5 日後に絶水を行いその 2 日後に 3 時間のオペラント学習を 3 日間行った。そして学習完了翌日に学習後条件として AMPA 受容体 PET 撮像と CT 撮像を行った(図1)。



オペラント学習は学習装置にラットの頭部を固定し、口元右側にあるレバーを右手で引くことにより一滴の水を舐めることが可能になるようセッティングした。また学習は刺激音提示の 2 秒以内にレバーを引くと報酬(水)が得られるというルールで行った(図2)。



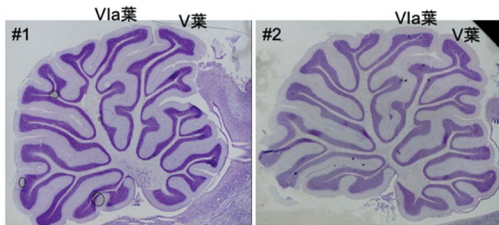
学習定着の指標として operant correct response rate (OCRR) = 成功回数/成功回数+不成功 B 回数 X100 を 10 分間隔で算出し、これが 85% を超えた個体を学習成立個体とした。またコントロールとしては頭部手術、及び絶水条件を同様に行った。

(3) ヒト認知技能学習実験: プログラミング授業を受講した大学生 36 名と授業を受講していない同学年の大学生 31 名を対象に学習前後で T1 強調 MRI を撮像した。T1 強調 MRI の voxel-based morphometry 解析により、脳構造マクロ可塑性の指標として灰白質容積(GMV)変化を示した部位を全脳で探索した。

4. 研究成果

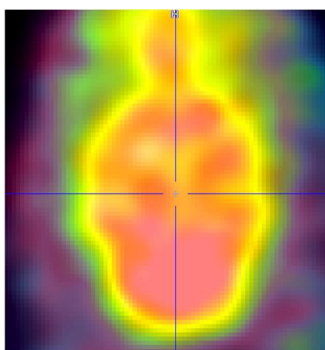
(1) 組織学実験: コントロールおよび学習あり群の複数個体から小脳組織切片を作成して観察したところ、本研究で用いる Long-Evans 種の小脳は学習の有無にかかわらず、小葉の構造が個体によって大きく異なり(図)、コントロール個体間でも小葉の面積にばらつきがあることが判明した。そこでまず、野生型ラットを用いて、個体差が極力少ない小脳領域の選定を行った。その結果、小脳虫部の正中線付近では個体差による面積のばらつきが比較的小さいことが明らかになった。さらに、当領域で小脳皮質の

各層の面積を定量したところ、野生型の個体間で、分子層及び顆粒細胞層のばらつきは約5%、白質層では約16%のばらつきを示した。今後はこの解析結果を元に、学習有無個体で比較定量を行う予定である。本解析によって学習により体積増加した層をまず同定し、さらに、その層に局在する細胞種から、体積増加に寄与した細胞成分(細胞体、軸索・樹状突起長や突起幅、あるいは樹状突起スパインの体積など)を、組織免疫染色法を用いて同定していく予定である。



(2)AMPA PET 実験:学習個体 8 匹、コントロール個体 8 匹の PET データ (前後) および CT データを得た。先行研究(Miyazaki et al. 2020 Nature Med)の $[^{11}\text{C}]$ K-2 PET 画像解析方法に基づき解析をお行なったが、結果が安定せず、先行研究と同一手法での一様な解析を本研究が目的とする学習による $[^{11}\text{C}]$ K-2 取り込み変化の時系列解析に単純に適応することは困難であることが判明した。具体的には脳外の $[^{11}\text{C}]$ K-2 高集積部位の解剖学的検証や学習前後での脳座標系の位置合わせに関して方法論の開発が必要となった。

まず本研究に使用した PET 画像と CT 画像は同室にある別装置であるために、互いの画像データの位置合わせを行う必要があった。そのため頭部固定装置を用いて撮像を行う事で最小限の線形変換で修正を行う技術開発を行なった。また PET 撮像前半の時間帯(1 - 6 分)で平均画像を作成し、この全脳の形状がはっきりした血流画像(CBF)で更に位置合わせを正確に行った。さらに、これら各画像データ(CBF/CT)をラット標準テンプレートに合わせこむ技術を検討しているところである。この手法が完成後、学習群と対照群の間で前後の $[^{11}\text{C}]$ K-2 取り込みが異なるか否かを、小脳を含めた全脳で統計解析する予定である。



(3)対照群と比較し、プログラミング学習群において前頭極、淡蒼球、小脳に GMV の優位な変化を認めた(論文投稿準備中)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Wakasugi Noritaka, Togo Hiroki, Mukai Yohei, Nishikawa Noriko, Sakamoto Takashi, Murata Miho, Takahashi Yuji, Matsuda Hiroshi, Hanakawa Takashi	4. 巻 85
2. 論文標題 Prefrontal network dysfunctions in rapid eye movement sleep behavior disorder	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 72 ~ 77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parkreldis.2021.03.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tu Liu, Niu Meiqi, Pan Ximin, Hanakawa Takashi, Liu Xiaojin, Lu Zhi, Gao Wei, Ouyang Dan, Zhang Meng, Li Shiya, Wang Junjing, Jiang Bo, Huang Ruiwang	4. 巻 NA
2. 論文標題 Age of Acquisition of Mandarin Modulates Cortical Thickness in High-Proficient Cantonese?Mandarin Bidialectals	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Psycholinguistic Research	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10936-020-09716-5	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 Hosoda Chihiro, Tsujimoto Satoshi, Tatekawa Masaru, Honda Manabu, Osu Rieko, Hanakawa Takashi	4. 巻 3
2. 論文標題 Plastic frontal pole cortex structure related to individual persistence for goal achievement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-0930-4	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 Yoshinaga Kenji, Matsubashi Masao, Mima Tatsuya, Fukuyama Hidenao, Takahashi Ryosuke, Hanakawa Takashi, Ikeda Akio	4. 巻 14
2. 論文標題 Comparison of Phase Synchronization Measures for Identifying Stimulus-Induced Functional Connectivity in Human Magnetoencephalographic and Simulated Data	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2020.00648	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 Nishida Daisuke, Mizuno Katsuhiko, Yamada Emi, Hanakawa Takashi, Liu Meigen, Tsuji Tetsuya	4. 巻 84
2. 論文標題 The neural correlates of gait improvement by rhythmic sound stimulation in adults with Parkinson's disease ? A functional magnetic resonance imaging study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 91 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parkreldis.2021.02.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Tomoko, Isomura Yoshikazu, Kobayashi Kazuto, Hanakawa Takashi, Tanaka Satoshi, Honda Manabu	4. 巻 14
2. 論文標題 Electrophysiological Effects of Transcranial Direct Current Stimulation on Neural Activity in the Rat Motor Cortex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2020.00495	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 Arimura Nariko, Okada Mako, Taya Shinichiro, Dewa Ken-ichi, Tsuzuki Akiko, Uetake Hiroto, Miyashita Satoshi, Hashizume Koichi, Shimaoka Kazumi, Egusa Saki, Nishioka Tomoki, Yanagawa Yuchio, Yamakawa Kazuhiko, Inoue Yukiko U., Inoue Takayoshi, Kaibuchi Kozo, Hoshino Mikio	4. 巻 6
2. 論文標題 DSCAM regulates delamination of neurons in the developing midbrain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaba1693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aba1693	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 Hori K, Yamashiro K, Nagai T, Shan W, Egusa Saki F., Shimaoka K, Kuniishi H, Sekiguchi M, Go Y, Tatsumoto S, Yamada M, Shiraishi R, Kanno K, Miyashita S, Sakamoto A, Abe M, Sakimura K, Sone M, Sohya K, Kunugi H, Wada K, Yamada M, Yamada K, Hoshino M	4. 巻 23
2. 論文標題 AUTS2 Regulation of Synapses for Proper Synaptic Inputs and Social Communication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101183 ~ 101183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101183	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 Yamashita Mariko, Owa Tomoo, Shiraiishi Ryo, Adachi Toma, Ichijo Kentaro, Taya Shinichiro, Miyashita Satoshi, Hoshino Mikio	4. 巻 25
2. 論文標題 The role of SCF Skp2 and SCF TrCP1/2 in the cerebellar granule cell precursors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 796 ~ 810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12813	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashiro Kunihiko, Hori Kei, Lai Esther S.K., Aoki Ryo, Shimaoka Kazumi, Arimura Nariko, Egusa Saki F., Sakamoto Asami, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Watanabe Takaki, Uesaka Naofumi, Kano Masanobu, Hoshino Mikio	4. 巻 23
2. 論文標題 AUTS2 Governs Cerebellar Development, Purkinje Cell Maturation, Motor Function and Social Communication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101820 ~ 101820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101820	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 MIYAZAKI Tomoyuki, ABE Hiroki, UCHIDA Hiroyuki, TAKAHASHI Takuya	4. 巻 97
2. 論文標題 Translational medicine of the glutamate AMPA receptor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Series B	6. 最初と最後の頁 1 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2183/pjab.97.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosoda Chihiro, Tsujimoto Satoshi, Tatekawa Masaru, Honda Manabu, Osu Rieko, Hanakawa Takashi	4. 巻 3
2. 論文標題 Plastic frontal pole cortex structure related to individual persistence for goal achievement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-0930-4	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 Bando Kyota, Honda Takeru, Ishikawa Kinya, Takahashi Yuji, Mizusawa Hidehiro, Hanakawa Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Impaired Adaptive Motor Learning Is Correlated With Cerebellar Hemispheric Gray Matter Atrophy in Spinocerebellar Ataxia Patients: A Voxel-Based Morphometry Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 1183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2019.01183	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 Kita Kahori, Osu Rieko, Hosoda Chihiro, Honda Manabu, Hanakawa Takashi, Izawa Jun	4. 巻 13
2. 論文標題 Neuroanatomical Basis of Individuality in Muscle Tuning Function: Neural Correlates of Muscle Tuning	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2019.00028	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 Hori Kei, Yamashiro Kunihiko, Nagai Taku, et al.	4. 巻 23
2. 論文標題 AUTS2 Regulation of Synapses for Proper Synaptic Inputs and Social Communication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101183 ~ 101183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101183	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5件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Hoshino M, Hori K
2. 発表標題 Neuronal progenitors and synapses in psychiatric disease mouse model
3. 学会等名 第43回日本神経科学学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 花川 隆
2. 発表標題 AIとBMIを支える機械学習技術の現状と脳神経内科臨床応用への展望
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 花川 隆
2. 発表標題 マルチモーダルイメージングによる神経疾患の病態解明
3. 学会等名 第22回日本ヒト脳機能マッピング学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroki Abe, Susumu Jitsuki, Waki Nakajima, Yumi Murata, Aoi Jituski-Takahashi, Tomoyuki Miyazaki, Hirobumi Tada, Akane Sano, Kumiko Suyama, Nobuyuki Mochizuki, Takashi Komori, Hitoshi Masuyama, Tomohiro Okuda, Yoshio Goshima, Noriyuki Higo, Takuya Takahashi
2. 発表標題 Molecular imaging of functional recovery process aiming for a development of rehabilitation accelerating agent
3. 学会等名 第42回日本神経科学会NEURO2019
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Sugai C, Hori Y, Hanakawa T
2. 発表標題 Cerebellar macroneuroplasticity following operant conditioning learning in rats as studied by MRI.
3. 学会等名 第42回日本神経科学会NEURO2019
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

マクロ神経可塑性研究
https://www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/doctoral_course/r-017/
脳統合イメージング
http://www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/doctoral_course/r-017/

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	阿部 弘基 (Abe Hiroki) (40737409)	横浜市立大学・医学部・助教 (22701)	
研究分担者	阿部 十也 (Abe Mitsunari) (60588515)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・脳病態統合イメージングセンター・部長 (82611)	
研究分担者	星野 幹雄 (Hoshino Mikio) (70301273)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 病態生化学研究部・部長 (82611)	

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