

令和 6 年 9 月 6 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11583

研究課題名（和文）サル二足歩行における皮質脊髄路／皮質網様体路機能の投射経路選択的遮断法による解析

研究課題名（英文）Analysis of corticospinal/corticoreticular tract functions in monkey bipedal walking by tract specific genetic disruption

研究代表者

鈴木 享（Suzuki, Takashi）

岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：90582651

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究計画途中で二足歩行の訓練を長期で行っていたニホンザルが急逝してしまい、ウイルスベクターを感染させ、歩行中の運動と姿勢制御を担うと考えられる皮質脊髄路と網様体脊髄路の機能遮断を行う実験が困難になり、研究計画の大幅な修正が必要となった。上記の実験に加え、歩行中の運動と姿勢制御の神経機構を明らかにするために、四足歩行から二足歩行へ歩容を変換する際の、キネマティクス解析を行った。その結果、姿勢変換は片方の後肢の接地から始まり、その後の姿勢変換期間には下肢の主要3関節の角度の変化や前後肢および体幹の筋活動が続く二足歩行にむけて徐々に変化していくことを明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

二足歩行を成立させるシステムは複数の神経領域が統合して機能することが知られている。しかしながら、領域間を結ぶどの神経経路が、歩行に機能しているかについてはいまだ多くが不明なままである。そこで、本研究では、ヒト二足歩行時に活性化される一次運動野と脊髄を直接結ぶ皮質脊髄路と、同様に歩行時に活性化される補足運動野と内側延髄網様体を介して脊髄に投射する皮質網様体脊髄路の歩行時における機能分担をサル二足歩行モデルを用いて解明することを目指す。

研究成果の概要（英文）：Amidst this research, a monkey, which had been trained extensively for stable bipedal locomotion, unfortunately passed away. Consequently, it was very difficult to perform genetic dissection of the corticospinal tract and corticoreticular tract which was considered to contribute to movement and postural control during bipedal locomotion using the Japanese monkey bipedal model.

Concurrently with the above-mentioned experiments, we performed kinematic analysis of the transformation from quadrupedal to bipedal gait to uncover the neural mechanisms involved in movement and postural control during continuous locomotion. Our findings revealed that the transformation was started by touchdown of either hindlimb, accompanied by gradual alterations in the degrees of hip, knee, and ankle joints movements, as well as changes in muscle activities of the forelimbs, hindlimbs, and trunk toward following the bipedal locomotion.

研究分野：神経科学

キーワード：ニホンザル 四足歩行 二足歩行 姿勢変換 トレッドミル

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えつつある我国において、高齢者による歩行障害は著しく増加傾向にある。二足歩行は複数の神経機構の組み合わせにより制御される運動であり、大脳の神経疾患に起因する歩行障害は損傷範囲も様々であり多彩な症状を呈する。そのため、二足歩行制御における領域間を結ぶ神経経路に特異的な機能の解明は複雑な歩行障害の病態生理を理解する上で重要な課題である。

ヒトの二足歩行時においては糖代謝電子撮影法解析 (PET) により一次運動野、補足運動野を含む運動領野が脳幹や小脳と並んで活性化される。一次運動野には脊髄に直接投射する皮質脊髄路の起始細胞が、補足運動野には脳幹の内側延髄網様体を介して脊髄に投射する皮質網様体脊髄路の起始細胞が豊富に存在する。ヒトの脳血管障害などで、大脳皮質の前頭葉が障害されると跛行が生じたり、姿勢制御が困難になることが知られているが、二足歩行において皮質脊髄路と皮質網様体脊髄路がどのような機能分担しているのかは現在においてもほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

本申請課題の研究目的は、二足歩行時における皮質脊髄路と皮質網様体脊髄路の分担的制御機能を明らかにすることである。過去の研究から、Broadmann の皮質区分において皮質脊髄路に投射する起始神経細胞は主に 4 野の一次運動野に、網様体脊髄路に投射する起始神経細胞は主に 6 野の補足運動野と前頭前野に分布する傾向が強いことが報告されている。そこで、これらの経路が直立二足歩行の高次制御機構としてどのように機能分担しているかを明らかにするために、本研究計画ではサル二足歩行モデルを用いて、ウイルスベクターの二重遺伝子導入法を利用した Tet-on/off システムを用いて皮質脊髄路と皮質網様体投射をそれぞれ経路選択的に遮断することで二足歩行への影響を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)ニホンザルの二足歩行モデルの確立

ニホンザルを実験室内に放ち、無拘束で自由に行動させることで新しい実験環境に慣れるように順化訓練を行った。特にトレッドミルは運動解析を行う上で重要な器具なので特に警戒心が薄れるように餌などの報酬を用いて順化をうながした。順化訓練がすすみトレッドミルへの警戒心が薄れてきたら、サルがトレッドミル上にいる状態で、トレッドミルをゆっくりと動かし餌などの報酬を用いながらトレッドミル上で四足歩行を行えるよう訓練を施した。はじめはゆっくりとしたスピードで行い、安定して四足歩行を行えるようになってきたら、徐々に速度を上げていく。トレッドミルにも慣れ安定した四足歩行を行えるようになってきたら、二足歩行訓練に移した。餌などを用いて、トレッドミル上で四足歩行中に後肢の歩行運動を継続しながら体幹を持ち上げ二足歩行を行えるよう訓練を行った。訓練を進め、体幹が直立に近づき安定した二足歩行を行えるようになった後に、さらに四足歩行と二足歩行への歩容の変換を交互に円滑に行

えるよう訓練した（図1）。

(2) 歩行運動中の姿勢変換期間のキネマティクス解析

上記の実験と同時にニホンザルがトレッドミル上で四足歩行から二足歩行への歩容を変え姿勢が変換する過程を高速ビデオカメラにて過去に撮影したデータを用いて、キネマティクス解析をすすめた。画像解析ソフトウェアを用いて、姿勢変換期間の股関節、膝関節、足関節など後肢の主要3関節の解析や、歩行周期頻度などの空間的・時間的な運動学的パラメーターの変化などを詳細に解析した。

(3) 歩行運動中の姿勢変換期間の筋電図解析

さらに四足歩行から二足歩行への姿勢変換期間において、運動系にて中枢神経系の最終出力である骨格筋の活動パターンに関して筋電図での測定データを用いて解析した。過去に測定した筋電図データにたいして整流化後、加算平均処理を行い、前肢、後肢および体幹筋のそれぞれの筋活動を解析した。

4. 研究成果

(1) ニホンザルを新しい研究環境の順化させる訓練、安定してトレッドミル上で二足歩行を行うための訓練を施した。訓練の結果、トレッドミル上で安定して四足歩行と二足歩行を行い、四足歩行から二足歩行、二足歩行から四足歩行への姿勢変換を円滑に行える個体をえることができた。しかしながら、2022年度夏に3年におよぶトレーニングをつんだその個体が急逝してしまい、その結果、経路特異的なウイルスベクターの二重感染実験などが困難になり、本研究計画に大幅な修正が必要となった。

(2) 四足歩行から二足歩行への姿勢変換期間のキネマティクス解析の結果、姿勢変換期間は一側後肢の接地から始まることを明らかにした。その期間には通常の四足歩行と比較し、体幹軸は水平位からほぼ垂直位に立ち上がり、股関節と足関節は伸展位に、膝関節はわずかに屈曲位に連続して変位していくことを明らかにした。また、前肢の周期的運動パターンは離床とともに消失した。さらに加え、歩行周期頻度は姿勢変換期間では四足歩行に比べ有意に増加することを見出した。

(3) 四足歩行から二足歩行への姿勢変換期間の筋電図解析の結果、姿勢変換期間には、四足歩行時に見られていた周期性のある前肢の筋活動が消失した。また、後肢の抗重力筋の筋活動は姿勢変換期間に徐々に増加し、体幹筋は姿勢変換期間には体幹の立ち上がりの伴う筋活動の増加に加え、体幹の左右のスウェイに伴う交代制の活動があらわれるようになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 中隋 克己、日暮 泰男、鈴木 享、守田 和紀	4. 巻 72
2. 論文標題 二ホンザルの直立二足歩行における中枢制御様式	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 岩手医学雑誌	6. 最初と最後の頁 1～10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24750/iwateishi.72.1_1	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 Yokoyama Takuya, Hirakawa Masato, Mochizuki Kei, Suzuki Takashi, Nakajima Katsumi, Saino Tomoyuki	4. 巻 99
2. 論文標題 Distribution of P2X3 purinoceptor-immunoreactive sensory nerve endings in the carotid body of Japanese macaque (<i>Macaca fuscata</i>)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Anatomical Science International	6. 最初と最後の頁 68～74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12565-023-00735-5	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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木 享、守田 和紀、村田 哲、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Volitional transformation of quadrupedal locomotion into bipedal locomotion on a treadmill by Japanese monkeys: kinematic analysis
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 享、守田 和紀、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 二ホンザルにおける歩行中の姿勢変換過程の解析
3. 学会等名 第51回東北生理談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 享、守田 和紀、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Postural transformation during treadmill walking in Japanese monkeys: kinematic and EMG
3. 学会等名 第97回日本生理学会合同大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 享、望月 圭、守田 和紀、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 二ホンザルの四足歩行から二足歩行への姿勢変換過程：運動学的解析
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会/CKJ第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鶴脊勇士, 青井伸也, 中隋克己, 鈴木享, 日暮泰男, 大島裕子, 泉田啓, 土屋和雄
2. 発表標題 二ホンザルの神経筋骨格モデルに基づく倒立振子の不安定性を利用した四足歩行から二足歩行への遷移
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 鈴木 享、望月 圭、守田 和紀、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Flexible trunk control contributes to trunk-limb coordination during treadmill locomotion in Japanese monkeys: Kinematic and EMG analysis
3. 学会等名 第99回日本生理学会合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 享、望月 圭、守田 和紀、鈴木 喜郎、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Coordination pattern of trunk limbs during postural transformation in walking monkeys
3. 学会等名 NEURO2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 享、望月 圭、守田 和紀、鈴木 喜郎、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 二ホンザルの歩行姿勢の変換：キネマティクスと筋電図の解析
3. 学会等名 第54回東北生理談話会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横山 拓矢、平川 正人、望月 圭、鈴木 享、中隋 克己、齋野 朝幸
2. 発表標題 二ホンザル頸動脈小体の免疫組織学的特徴
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 享、望月 圭、守田 和紀、鈴木 喜郎、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Kinematics and EMG activity related to postural transformation during gait in Japanese macaques
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西崎 航紀、安達 真永、伊達 遼、鈴木 享、日暮 泰男、大島 裕子、中隋 克己、青井 伸也
2. 発表標題 二ホンザルの神経筋骨格モデルに基づく倒立振子の不安定性を利用した四足から二足歩行への遷移における後肢踏み出し量の影響の解析
3. 学会等名 第67回システム制御情報学会研究発表講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 享、望月 圭、守田 和紀、鈴木 喜郎、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Transformation of upright posture during monkey 's locomotion based on adaptive utilization of gravity
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 鈴木 享、望月 圭、守田 和紀、鈴木 喜郎、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Trunk movements during monkey 's locomotion based on adaptive utilization of gravity
3. 学会等名 日本生理学会第 101 回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 望月 圭、守田 和紀、鈴木 享、、稲瀬 正彦、中隋 克己
2. 発表標題 Diagonal-sequence diagonal-couplet quadrupedal gait in Japanese macaque enables flexible temporal inter-limb coordination
3. 学会等名 日本生理学会第 101 回大会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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