

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K19937

研究課題名（和文）ドーパミン神経回路を利用した運動機能向上技術の開発

研究課題名（英文）Involvement of dopaminergic neurons in motor function

研究代表者

九里 信夫（Kunori, Nobuo）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・情報・人間工学領域・研究員

研究者番号：10761299

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）：本研究は中脳ドーパミン神経の運動中の活動様式を明らかにし、運動機能を向上させるための技術開発に資する知見を得ることを主目的とする。この目的を達成するため、ドーパミン神経を含む中脳腹側部の運動課題中の活動様式を計測した。また、中脳腹側部に刺激電極を留置し、運動課題中の電気刺激が運動機能に与える効果を検証した。その結果、中脳腹側部の神経細胞が、運動課題中に生じる外部環境の変化により一過性に活動すること、そして、電気刺激による賦活化が、運動課題成績を一時的に向上させることを示す知見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中脳ドーパミン神経は運動学習などとの関係が知られており、運動機能障害を呈する脳卒中患者等の治療標的として着目されている。しかしながら、運動課題中の活動様式は十分には明らかになっておらず、どのようなタイミングで活性化することが有効なのかは不明であった。本研究では、げっ歯類を対象とした実験により、その活動様式を明らかにしたものであり、学術的に有用であるだけでなく、ドーパミン神経を標的とした新たな脳活性化技術の開発につながる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to reveal the activity patterns of the midbrain dopaminergic neurons during exercise to obtain knowledge contributing to the technology for improving motor function. For this purpose, the activity patterns of the ventral midbrain, including dopaminergic neurons, were measured during motor tasks. In addition, we placed stimulating electrodes in the ventral midbrain and verified the effects of electrical stimulation on motor performance. The results showed that neurons in the ventral midbrain were transiently activated by changes in the external environment during the motor task. In addition, the activation by the electrical stimulation transiently improved the motor performance. These findings may lead to the development of techniques to improve motor recovery after stroke.

研究分野：神経科学

キーワード：腹側被蓋野 ファイバーフォトメトリー 神経活動 リーチング げっ歯類

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳血管障害では、損傷部位や範囲に応じて運動機能障害などが生じる。多くの場合、運動機能障害に対するリハビリテーションの効果は発症後約半年でプラトーに達し、それ以降の顕著な回復は難しいことが知られている。高齢化が進む本邦において脳血管障害の患者数は増加の一途であり、脳卒中患者に有効な運動機能回復促進技術の開発が求められている。

(2) 脳血管障害後の運動機能回復は、脳の可塑的变化による神経回路の再構築が背景にあると考えられている。そのため、運動機能に関わる脳領域における可塑的变化を加速させることができれば、運動機能回復を促進できる可能性がある。しかしながら、脳の可塑的变化を促進するための効果的な介入技術は確立されていない。

(3) 神経伝達物質のドーパミンは、運動機能向上や運動関連皮質の可塑的变化を促すことが知られている (Molina-Luna et al., 2009, PLoS One, Hosp et al., 2011, J. Neurosci.)。運動関連皮質へのドーパミン投射は中脳の腹側被蓋野から生じると考えられており、当該神経回路は、脳血管障害後の運動機能回復促進を目的とした治療的介入の標的として注目されている。しかしながら、中脳ドーパミン神経と運動機能回復との関係の詳細は明らかになっていない。

2. 研究の目的

(1) 本研究課題では、中脳ドーパミン神経と運動との関係を明らかにするため、運動課題中の腹側被蓋野の神経活動を計測し、その活動様式から、腹側被蓋野を意図的に賦活化させる際の最適なタイミングを明らかにすることを主な目的とする。また、神経活動計測によって得られた腹側被蓋野の活動様式が運動機能に影響を与えるかどうかを明らかにするため、運動課題中の腹側被蓋野の賦活化が運動成績に与える影響を検証することを第二の目的とする。

3. 研究の方法 (図1)

(1) 神経活動計測：野生型ラットの片側腹側被蓋野に蛍光カルシウムタンパク (GCaMP) 遺伝子を搭載したアデノ随伴ウイルスを 1 μ l 注入し、ドーパミン神経を含む腹側被蓋野の神経細胞に GCaMP を発現させた。投与部位より 0.5mm 上方に光ファイバーを埋め込み、ファイバーフォトメトリーの手法を用いることで、後述の運動課題の最中に神経活動に伴う GCaMP の蛍光強度変化を計測した。

(2) 運動課題：四肢の協調性や上肢の巧緻性を要する運動課題として、リーチング課題、トレッドミル課題を行った。ロータロッド課題では回転する車軸上に動物を設置後、一定速度で回転させる場合と、段階的に回転速度が変化する場合とで結果を比較した。リーチング課題では、実験者が設置したリーチング用小粒ペレットを、幅 10mm のスリットを通した把持動作により取得させた。トレッドミル課題では、一定速度と、段階的にベルト速度が増減する場合とで結果を比較した。

(3) 電気刺激実験：片側腹側被蓋野に同心円刺激電極を埋め込み、ロータロッド課題中に単一パルス刺激を与えた。刺激強度は 0.1mA とし、電気刺激のタイミングは歩行速度に合わせて設定した。

(4) 組織学実験：運動課題終了後、動物を灌流固定し、中脳を含む脳領域の連続切片をマイクロームにより作製した。ドーパミン神経のマーカーであるチロシンヒドロキシラーゼ (TH) と GCaMP の蛍光二重染色により、ドーパミン神経への GCaMP 発現を確認した。また、電気刺激に用いた動物は、ニッスル染色により電極設置部位を同定した。

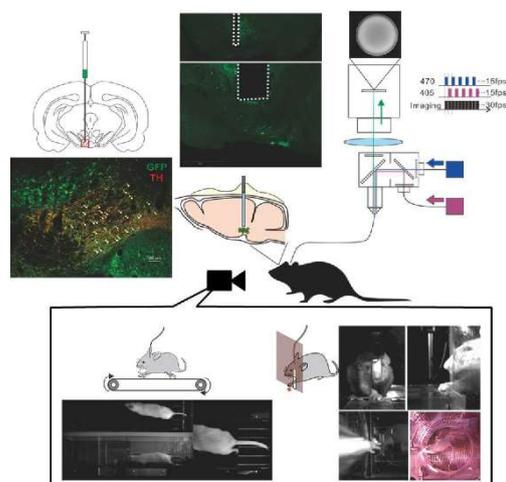


図1 研究方法の概要

4. 研究成果

(1) 神経活動計測：リーチング課題中の神経活動を計測した所、GCaMP のシグナルはスリットから上肢を伸ばした直後に増加し、ペレットを把持するタイミングの前後でピークに達していた。シグナル強度はペレットの把持が成功した場合に大きく、把持に失敗した場合には殆ど変化しなかった。ロータロッド課題、トレッドミル課題では、車軸回転速度、あるいは、走行ベルト速度が変化した直後に神経活動が一過性に増加していた。これらの活動様式から、運動遂行中に

生じる外部環境の変化に伴う感覚刺激によって腹側被蓋野が活性化している可能性が推測された。また、組織学実験の結果、TH 陽性細胞に GCaMP が発現していることが確認された。

(2) 電気刺激実験では、歩行周期に合わせた電気刺激の効果を検証した所、シヤム刺激群と比較して、刺激群では、ロータロッドの車軸から落下するまでの時間が長くなる傾向が見られた。十分な匹数での検討が今後の課題だが、歩行周期と合わせた腹側被蓋野の電気刺激には、運動機能を向上させる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kunori Nobuo, Takashima Ichiro	4. 巻 741
2. 論文標題 Cortical direct current stimulation improves signal transmission between the motor cortices of rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 135492 ~ 135492
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2020.135492	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 Kunori Nobuo, Takashima Ichiro	4. 巻 1720
2. 論文標題 Evaluation of acute anodal direct current stimulation-induced effects on somatosensory-evoked responses in the rat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Research	6. 最初と最後の頁 146318 ~ 146318
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2019.146318	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 Kunori Nobuo, Takashima Ichiro	4. 巻 10
2. 論文標題 An Implantable Cranial Window Using a Collagen Membrane for Chronic Voltage-Sensitive Dye Imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 789 ~ 789
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/mi10110789	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 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 2件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Taichi Goto, Yuji Komaki, Tomokazu Tsurugizawa, Ichiro Takashima, Nobuo Kunori
2. 発表標題 Connectome changes associated with whole-body exercise in cerebral palsy animal model
3. 学会等名 NEURO2022（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taichi Goto, Yuji Komaki, Tomokazu Tsurugizawa, Sunao Iwaki, Ichiro Takashima, Nobuo Kunori
2. 発表標題 Connectome changes relating to motor improvement in cerebral palsy
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nobuo Kunori
2. 発表標題 The effect of DC stimulation on cortico-cortical transmission
3. 学会等名 SICE LE2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taichi Goto, Ichiro Takashima, Nobuo Kunori
2. 発表標題 Neonatal hypoxic-ischemic brain injury causes motor dysfunctions
3. 学会等名 NEURO2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nobuo Kunori, Ryota Tamura, Shinnosuke Dezawa, Ichiro Takashima
2. 発表標題 Neuronal activity of the ventral tegmental area during the sensorimotor tasks
3. 学会等名 FENS2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 九里信夫
2. 発表標題 腹側被蓋野ニューロンによる運動調節機構の解明
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤太一、高島一郎、九里信夫
2. 発表標題 Neuronal activity in ventral tegmental area during reaching task in rats
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nobuo Kunori, Ichiro Takashima
2. 発表標題 An imprantable cranial window using a collagen membrane for chronic voltage-sensitive dye imaging
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2019年～2020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
---------	---------