

機関番号：82611

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20300140

研究課題名（和文） 脊髄反射回路は随意運動の制御にどのように関わるか

研究課題名（英文） Function of spinal reflex circuit for regulating volitional movement.

研究代表者

関 和彦（SEKI KAZUHIKO）

（独）国立精神・神経医療研究センター・神経研究所モデル動物開発研究部・部長

研究者番号：00226630

研究成果の概要（和文）：

直接末梢入力を受けるサル頸髄介在ニューロンの随意運動時における活動を記録した結果、1) 筋力を一定に維持する事が求められる運動時に、随意的筋活動を自動的に高めるために、自原性の興奮性反射回路が使われている事、2) 関節トルクを一定に維持する事が求められる運動時には、一次求心神経へのシナプス前抑制が減衰し、主働筋からの感覚求心性情報が積極的に中枢神経系に取り込まれている事、3) 運動によって引き起こされた求心神経活動が、脊髄介在ニューロンをドライブできるほど優位な強度を持つものである事の3点が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

By recording the activity of first-order spinal interneuron from primary afferents, we found that 1) they could be used to the automatic augmentation of voluntary muscle force, 2) afferent input to them were facilitated during static phase of task, and 3) reafference signal was strong enough to drive these interneurons.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|----------|------------|-----------|------------|
| 平成 20 年度 | 6,700,000 | 2,010,000 | 8,710,000 |
| 平成 21 年度 | 4,600,000 | 1,380,000 | 5,980,000 |
| 平成 22 年度 | 3,900,000 | 1,170,000 | 5,070,000 |
| 総計 | 15,200,000 | 4,560,000 | 19,760,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経・筋肉生理学

キーワード：反射、脊髄、随意運動、霊長類、電機生理

1. 研究開始当初の背景

過去1世紀の間、脊椎動物の運動を制御する基本的な神経回路については多くの知見が得られてきた。そして特に脊髄の反射回路を構成するニューロン群については膨大な数の研究が行なわれ、その結果多くの知見がもたらされてきた。この脊髄反射回路の研究には、運動ニューロンの細胞内記録法や末梢神経への電気刺激によるニューロンの同定方法などを組み合わせた極めてエレガントな方法論が用いられ、それによって Ia 抑制性ニューロン、Ib 抑制性ニューロン、反回抑制性ニューロン、及びシナプス前抑制ニューロン

などが同定され、現在では教科書な知識として確立していた。

では、動物が日常行っている随意運動の制御において、このように多様な入出力様式を有する脊髄ニューロンは、どのような機能を持っているのであろうか？驚くべきことに、1世紀の長い研究の歴史を経てもこの単純な問題設定に対する確実な回答は存在しない。例えば、上記の Ia 抑制性ニューロンは、相反神経支配のパターンを示すことから、「拮抗筋活動を抑制することによる円滑な関節運動の遂行」に重要と考えられているが、覚醒動物が関節運動を行う際にこの Ia 抑制

性ニューロンが活動しているのか否かさえ分かっていなかった。同様に Ib 抑制性ニューロンは「過度な関節伸展時の筋断裂防御機構」、また反回性抑制ニューロン（レンショウ細胞）は「運動ニューロンの発火を規則正しく安定化させるため」と解説される場合もあるが、それらはいずれも証拠となる確実な実験データが伴わない仮説に過ぎなかった。

なぜ、1世紀以上の長い脊髄神経回路研究の歴史を経ても、随意運動の制御における脊髄反射回路の役割を明らかにすることができないか。それは、先行研究において得られた知見のほとんどが、麻酔非動物または除脳動物を用いた急性実験標本によって得られた知見だからである。つまり、脊髄神経回路を詳細に検索するためには実験対象への動物に大きな侵襲を加える事が可能な上記標本を用いる方法論的な必然性があったが、それが得られた知見を覚醒動物の運動制御に演繹する際の大きな障害となっていた。例えば麻酔下の動物によって明らかにされた神経回路が覚醒動物においてどのようなふるまいをするのか、全く不明である。特に回路を構成する抑制性ニューロンの働きは動物の覚醒レベルに依存することが知られており、覚醒時の抑制性ニューロンの活動によって当該神経回路の機能は大きく変化する。また大脳皮質においては随意運動の文脈や内容に応じて活動パターンを変化させるニューロンが数多く発見されており、それらから大脳皮質の一部が随意運動のプログラミングに関わっていることが示唆されてきたが、同様な研究は脊髄においては全く行われていないため、このような随意運動の計画や準備に脊髄の神経回路がどのような役割を持つのか、全く明らかになっていない。従って、随意運動の制御における脊髄反射回路の役割を明らかにするためには、急性実験ではなく覚醒行動下の動物において、(1)反射回路に関わる脊髄介在ニューロンをその入出力関係から同定し、(2)動物に随意運動を行わせた際、その同定された脊髄介在ニューロンの活動を直接記録する技術が必要であった。

2. 研究の目的

そこで本申請課題では、まず覚醒行動下のサルにおいて脊髄ニューロンをその入出力様式から同定方法を開発・確立することを目的とした。具体的には上肢を支配する主な末梢感覚神経への選択的な電気刺激を行うための慢性埋め込み電極の開発、さらに spike-trigger averaging 法による末梢入力、筋出力の同定法の改善などである。そして、これらの方法を用いて反射回路に属する脊髄介在ニューロンを覚醒行動下におけるサルにおいて同定し、そのニューロンの運動課題遂行に依存した変化の解析によって、それ

ぞれの反射回路やそれに属する脊髄ニューロンの随意運動制御における機能的意義を明らかにするのが本研究の目標であった。

3. 研究の方法

我々はこれまでに、皮膚神経（橈骨神経浅枝）へ長期間神経カフ電極を埋め込み、それによってサルの運動の局面に関わらず安定した刺激効果が得られることをすでに確認していた。そこで、この方法を筋神経に応用し、まずサルの運動中に筋神経を安定的に電気刺激する方法の確立を試みた。末梢神経への慢性的な電極埋め込みは電極下の神経の一部に一過性の損傷を与える可能性が指摘されているので、その損傷の影響が少なくとされる太い神経束にカフ電極を装着する必要がある。しかし、上腕、前腕部を走行し、筋神経を含む太い神経束（例えば正中神経や尺骨神経）はほとんどが皮膚と筋神経の混合神経である。さらに非侵害性の皮膚求心神経と筋紡錘由来の筋求心神経は刺激閾値が近似しているため、筋神経や皮膚神経を選択的に刺激することは困難である。そこで我々は皮膚分枝と筋分枝が存在する橈骨神経に注目して、その筋分枝（橈骨神経深枝）及び皮膚分枝（同浅枝）に慢性的に装着できるカフ電極を開発した。カフ電極はシリコンチューブの内壁に薄い白金箔を貼り付けた構造で、従来の白金線を使用した電極に比較して神経へのダメージが少なく、また神経への接触面の多さからより低電流で神経細胞を興奮させる事が可能であった。

上記のカフ電極を開発した後、マカクサルを対象に以下の行動訓練を行った。まずサルをシールドルーム内のモンキーチェアに座らせ、左腕はチェア内に、右肘はタスク制御装置に取り付けられた肘固定台にそれぞれ固定した。後述する運動課題が十分に訓練された段階で(1)頭部の動きを制限するための固定具、(2)前腕筋群の活動を記録するための筋電図電極、(3)末梢求心神経を刺激するためのカフ電極、および(4)脊髄からニューロン活動を記録するためのチェインバー、をそれぞれ外科的手術によってそれぞれ装着した。筋電図は前腕部及び手部の12以上の筋に、またカフ電極は皮膚神経（橈骨神経浅枝（SR））、筋神経（橈骨神経深枝（DR））、及び混合神経（正中神経）にそれぞれ一つずつ装着した。

サルが外科的手術から回復後、サルに後述する行動課題を繰り返し行わせ、その際の手首位置の変異量、発揮トルク、筋電図活動、および脊髄介在ニューロンの活動を同時に記録する。その際、前年度に開発した実験システムを用いて末梢感覚入力によるニューロンの同定を行う。具体的には、各試行においてサルが把握運動をおこなう直前の数秒間（安静相）に(1)それぞれのカフ電極へ

電気刺激を連続的に与え、個々のニューロンに反応が認められる場合はその閾値電流を記録、(2) 運動課題実行中の個々のニューロンの活動電位をトリガーにして全ての筋電図を加算 (Spike-triggered averaging) することによって、そのニューロンの投射先の筋の同定、の2点を行った。

次に上記によって反射回路に介入すると同定された脊髄ニューロンの、随意運動遂行時における活動様式を記録した。運動課題は手首屈曲伸展課題であった。課題開始から1-2秒後、キュー信号 (色の異なる3種類の視覚刺激) を与え、サルに行うべきタスクの種類を予告した (delay 期)。そのさらに1-2秒後、go 信号を提示しサルにすみやかに運動 (active movement 期) を行わせた。そして目標位置で2-3秒静止 (hold 期) させ、その後すみやかに把握前の位置移動させた (passive movement 期)。これら全ての局面が制限時間内に達成された場合、それを成功試行とみなして報酬を与えた。上記の運動課題のそれぞれの局面には随意運動の幾つかの異なった要素が含まれている。例えば delay 期は行うべき運動の大きさに依存して異なったプランニングを行う運動準備期、active movement 期は筋活動を伴って筋を短縮させる能動的筋収縮期、hold 期は筋長の変化の伴わない等尺性筋収縮期、passive movement 期は受動的筋弛緩がそれぞれ行われる。同定されたニューロンが上記のうちどのような局面においてその活動性を変化させるかを調べた。

4. 研究成果

a) 筋神経由来の反射回路 :

DR から短潜時入力を受けている 66 個の脊髄介在ニューロンの中、32 個が筋に対し、促進効果 (n=22)、抑制効果 (n=7) もしくは、同時に促進と抑制効果 (n=3) を及ぼした。促進効果を及ぼした介在ニューロンの大部分が (n=18)、伸筋群に対し出力した (autogenetic facilitation)。それらの発火活動は、手首を伸展方向にトルクを出す運動局面と、トルクを一定に維持する運動局面において、高まった。一方、DR から短潜時入力を受けているが、筋に対し出力効果を持っていない脊髄介在ニューロン (n=34) の発火活動は、トルクを出す運動局面で高まるが、トルクを一定に維持する運動局面においては、有意に減少した (P>0.01)。これらの結果から、筋力を一定に維持する事が求められる運動時に、随意的筋活動を自動的に高めるために、自原性の興奮性反射回路が使われている可能性が示唆された。

b) シナプス前抑制 :

課題中に Wall らが開発した興奮性テストを行い、シナプス前抑制を評価した。Wall らは、脊髄内微小電流刺激によって誘発された逆行性電位を求心性神経末梢部で記録し、そのサイズによって PAD (Primary afferent depolarization) を伴うシナプス前抑制の大きさを評価できる事を報告した。我々は、主に前腕伸筋群を支配している橈骨神経深枝 (DR) から短潜時入力を受ける脊髄ニューロンを検索し、その近傍で微小電流刺激を行い (10Hz, 1-20 μ A)、DR において誘発される電位を記録した。DR からの記録や刺激はカフ電極を慢性的に埋め込む事により安定的に行った。その結果、DR において 38 の誘発電位が記録された。しかし、DR は、求心性線維と遠心性線維が混在しているので、脊髄内微小電流刺激によって求心性の逆行性電位だけではなく、遠心性の順行性電位も誘発する可能性がある。そのため、弱い刺激電流で刺激した時 (10 μ A 以下) でさえ伸筋群の筋電図活動が見られるものは、順行性電位と判断し、解析データから除いた。その結果 28 の電位が逆行性電位として同定された。この逆行性電位のサイズは、安静時に比べて、手首伸展トルクを一定に維持する運動局面において有意に減少する事がわかった (p<0.05)。この結果は、関節トルクを一定に維持する事が求められる運動時には、一次求心神経へのシナプス前抑制が減衰し、主働筋からの感覚求心性情報が積極的に中枢神経系に取り込まれていることを示唆した。

c) 異なった求心神経由来の反射回路

133 個の介在ニューロンが記録され、それらは橈骨神経 (n=90)、正中神経 (n=37)、またはその両者 (n=37) から直接投射を受けていた。それらの 86% は運動中に発火頻度の優位な変調を示した。その変調パターンから個々のニューロンにおける Preferred direction (PD) を以下の式から算出した。

$$PD = [(PFR \text{ during flexion}) - (PFR \text{ during extension})] / [(PFR \text{ during flexion}) + (PFR \text{ during extension})]$$

橈骨神経、正中神経、またはその両者から入力を受ける介在ニューロンの PD はそれぞれ、-0.24 (± 0.60), 0.31 (± 0.55), and 0.14 (± 0.11) であった。このことは、正中神経から入力を受ける介在ニューロンは屈曲優位の活動を、一方橈骨神経から入力を受ける介在ニューロンは伸展優位の活動をしていることを示していた。この結果はそれぞれの神経の受容野の違いから解釈可能であった。つまり、正中神経は屈筋側の皮膚と筋を、一方橈骨神経は伸筋側の皮膚と筋を支配している。従って、求心神経から直接投射を受ける

脊髄介在ニューロンはその受容野への方向への運動の際に発火頻度を増加させることが明らかになった。このことは、運動によって引き起こされた求心神経活動が、脊髄介在ニューロンをドライブできるほど優位な強度を持つものであることを意味していた。

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3件)

- ① Takei T, Seki K: Spinal interneurons facilitate coactivation of hand muscles during a precision grip task in monkeys. The Journal of Neuroscience, 査読あり, 30 (50), 17041-50, 2010
- ② Seki, K., Perlmutter, S.I. & Fetz E.E., Task-dependent modulation of primary afferent depolarization in cervical spinal cord of monkeys performing an instructed delay task, J. Neurophysiol, 査読あり, 102: 85-99, 2009
- ③ Takei, T. & Seki, K., Spinomuscular coherence in monkeys performing a precision grip task, J. Neurophysiol, 査読あり, 99(4): 2012-20, 2008

[学会発表] (計9件)

- ① Seki K., E.E.Fetz, Modulation of sensory responses at spinal and cortical levels during preparation and execution of voluntary movement, The 40th annual meeting of the Society for the Neuroscience, 2010.11.15, Sandiego, USA
- ② Umeda.T, Sakatani.T, Yamashita.O, Saitoh.M, Morimoto.J, Seki K., Kawato.M, Isa.T.: How motion is encoded by sensory afferent ensembles in monkeys? The 40th annual meeting of the Society for the Neuroscience, 2010.11.14, Sandiego, USA
- ③ 関和彦、随意運動の制御における脊髄の役割: 反射や歩行を越えて、第176回つくばブレインサイエンス・セミナー、2010.10.12、筑波大学
- ④ 関和彦、随意運動と脊髄機能、第65回日本体力医学会大会、2010.9.17、千葉商科大学
- ⑤ 関和彦、随意運動の制御における脊髄ニューロン系の役割とその臨床的意義、第87回日本生理学会大、2010.5.19、いわて県民情報交流センター

- ⑥ Takei T, Seki K: Spinomuscular coherence in monkey performing a precision grip task. The 3rd International Symposium on Mobiligence, 2009.11.20, Awaji, Hyogo
- ⑦ Seki K, Spinal interneurons: A new role for controlling voluntary movements. International Symposium, New Perspectives on Neural Mechanisms of Cognition and Action, 2009.11.13, Tamagawa University, Machida
- ⑧ Takei T, Seki K: Post-spike effects of spinal interneurons on hand muscles in monkeys performing a precision grip. The 39th annual meeting of the Society for the Neuroscience, 2009.10.19, Chicago, USA
- ⑨ Seki K, A new role of spinal interneuronal networks for controlling volitional movement. The 19th Society for the neural control of movement, 2009.5.1, Hawaii, USA

[その他]

ホームページ等

http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r_model/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関 和彦 (SEKI KAZUHIKO)

(独) 国立精神・神経医療研究センター・
神経研究所モデル動物開発研究部・部長
研究者番号: 00226630