

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23650166

研究課題名(和文) リズミカルな連続運動を生成するリズミカルな神経活動

研究課題名(英文) Neural basis of rhythmical motor behavior

研究代表者

木津川 尚史(kitsukawa, takashi)

大阪大学・生命機能研究科・准教授

研究者番号：10311193

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：連続運動を行うとリズムが起きる。身体多くの部位がそれぞれ固有のリズムを持っているが、身体全体としては単一のリズムが支配する。これを統合リズムと呼ぶことにする。個々のリズムから体全体の統合リズムが形成されることは連続運動にとって非常に重要と考えられる。このことを確かめるため、マウスに複雑なステップ運動を行わせたところ、統合リズムが生まれることを確認した。この結果は、連続する複雑な運動を動物がどのように学習していくかについての新しい知見である。また、走行するマウスの脳の大脳皮質運動野と線条体から神経活動を記録して、運足に関連した神経活動を見出し、線条体に外乱を与える実験を行った。

研究成果の概要(英文)：Our behavior encompasses many rhythmic movements, exemplified by those used in running and playing musical instruments. These behaviors requires one particular basement rhythm. Such basement rhythm consist of many individual rhythms of body parts such as arms. To explore the neural processing underlying such sequential motor behavior, we developed a running wheel system that allows recording of neural activity as the mouse run in the wheel. A motor-driven wheel with a running surface made up of spatially organized pegs serving as footholds that can be arranged in ladder-like patterns controlled the stepping of mice by the experimentally adjusted patterns of the pegs. Mice were water deprived to motivate them to adjust their steps to the particular peg-pattern in order to run efficiently to reach and drink on the fly from a water spout. We recorded spike activity in the primary motor cortex and in the dorsolateral striatum, and analyzed the correlation to the motor rhythms.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：行動神経科学

1. 研究開始当初の背景

私達が連続運動を行うとき、運動は反復運動になる。車の車輪とは異なり、私達の身体の運動部位(腕、脚、口など)は、より体幹側の体部位に接続しており、体幹側を基準として、腕であれば前に行ったり後ろに行ったり、口であれば開いたり閉じたりする。したがって、連続運動は反復運動になるのである。反復運動は、それぞれ周期性を持ち、その周期性により記載される。個々の反復運動の周期性自体については、周期の一定性(バラツキの逆)がその指標となる。通常、一定性の高い周期が生まれることが多い。それでは、腕と脚と口など複数の体部位が同時に動き続ける連続運動が遂行される時、それぞれの反復運動はどのようになるだろうか。それぞれの周期は同一であるとは限らない。個々の周期が別個に独立して存在しているのであれば、運動の遂行は非常にぎこちないものになるに違いない。したがって、何らかの機構により、周期はお互いに協調しあい、統一的に共存しなければならない。単一あるいは少数の周期に総べられた状況になるはずである。この統一された周期的状態を統合リズムと呼ぶ。

しかし、実際の運動時に、個々のリズムがどのように共存するようになるのか、リズムが積極的に利用されているのか否か、など、基本的な事柄さえ解明されていない。

また、このような統合リズムがどのように脳で生成されるのかも全くわかっていない。運動を司る脳部位は大脳皮質、小脳、基底核など知られているが、リズムの統合に関わる脳部位は知られていない。

2. 研究の目的

複数の体部位が反復運動を行う連続運動を遂行している時には、それらを統べるようなリズムが生まれると考えられている。実際、走行時の運足リズムと呼吸リズムが密接に相関していることなど、多くの知見が存在する。しかし、実際の運動において、統合リズムがどのように立ち現れているのかについては、ほとんど知見がない。このことを明らかにするためには、まず、個々の体部位が持つ周期性がどのように存在し、お互い関係しあっているのかについて解析する必要がある。単純な運動システムでは、最初から統合リズムが現れてしまうことが予想されたため、やや難し目の複雑な連続運動を動物に行わせて、個々の体部位リズムがどのように関係しあうのか、統合リズムがどのように現れるのか、そして、運動の習熟に連れて、個々の体部位リズムと統合リズムはどのように変化していくのか、を解析することをリズム運動解析面での目的とした。

リズムがどのように形成されるかが明らかになれば、その特徴にあわせて神経系がどのように活動するかを解析できるようになる。具体的には、リズムの周期、位相とどの

ように関係した神経活動が脳のどこで観察されるかを探索する。探索部位は、主に大脳皮質と線条体をターゲットにした。この点は走行したマウス脳における神経活動依存的発現をする遺伝子 c-fos の発現パターンを参考にして暫定的に決定したが、その他の部位に関しても c-fos 発現解析を同時進行させている。

神経活動を記録するだけでなく、外乱を与えて、運動への影響がどのくらいあるかを解析する必要がある。刺激には、光感受性タンパク質チャンネルロドプシンを使用した。光刺激により外乱を与え、その結果、マウスの運足リズムにどのような変化が見られるか、観察することによりその部位がリズム形成にどのような影響を与えるかを解析することも目的とした。

3. 研究の方法

複雑な連続運動時にリズムの統合がどのように起こるのかを解析するために、ステップホイール装置を用いてマウスを走行させた。ステップホイール装置は申請者が作成したマウス運足制御装置である。この装置では、マウスは報酬である水を飲みながら一定のスピードで走行する。マウスの足場であるペグの配列により、マウスに指定した運足パターンで走行させることができる。左右の前足の周期と、その位相関係を算出し、学習前期と後期でどのように変化するかを調べた。

神経活動記録には、テトロード電極を用いて走行しているマウスの脳から多点同時記録を行った。記録は大脳皮質運動野と大脳基底核線条体から行った。また、脳内を光照射できるように、光ケーブルを脳内に挿入するためのヘッドステージの開発を行った。

4. 研究成果

運動面では、マウスの走行時にどのようにリズムが発生するかを解析した。簡単なペグパターンでじゅうぶんに訓練・適応したマウスを用いて、新規な複雑ペグパターン走行を行わせた。運動の評価には、ペグからペグへの移動時間(ペグーペグ移動時間)を利用した。ペグパターン変更後1日目と比較して、ペグパターン変更後9日目のマウスでは、ペグーペグ移動時間の分散(ばらつき)が有意に減少していることが確認され、訓練によりマウスが複雑パターン走行に適応していくことが明らかになった。次に、新規複雑ペグパターン訓練過程で運足にどのような変化が起きているかを、マウス運足周期と位相に焦点を当てて解析した。連続する2回の右足のペグへの接地を右足の一步として、それを右足の1周期(360度)とした。その一步(=1周期)の間に左足が1周期のどのタイミング(何度)で接地するかを、その周期での左足の位相とした。また、右足の位相についても同様に定義した。さらに、連続する2周期(2歩)で位相がどれくらい変化するかを位

相シフトと定義して、左右の位相について算出した。その結果、新規複雑ペグパターンの訓練1日目と比較すると、9日目の走行では位相シフトが有意に減少していることが確認され、マウスの運足に一步を超える適応が起きていることがわかった。このことは、マウスが連続する運足周期において左右の脚の位相関係をできるだけ保てるように複雑ペグパターンに適応していくことを示している。つまり、左右の脚の個々にリズムが崩れないように、左右の脚を協調させていると考えることができ、統合リズムが発生していると考えられる。この結果は、連続する複雑な運動を動物がどのように学習していくかについての新しい知見であり、リズムの観点から動物の運動学習に言及する新規なアプローチが誕生したと考えられる。

リズムに関連した神経活動は、周期性を持つ可能性が高いと考えられる。特に、運足やペグが特定の周期性を持つ場合に神経活動が高いのであれば、その神経活動は特定の周期性に関連していると考えられる。そこで、記録した神経活動の自己相関と運足(ペグ)に対する相互相関を解析した。その結果、大脳皮質運動野から記録した神経細胞よりも、線条体から記録した神経細胞のほうが、自己相関で周期性を示した細胞の個数が多かった。また、神経活動を基準にして左右のペグの存在を整列した相互相関解析の結果、線条体から記録した神経細胞の活動のほうが、右ペグ、左ペグ、右ペグ~などペグが特定の周期で並んでいる場合に発火している神経細胞が多く見られた。大脳皮質運動野から記録された神経細胞では、記録部位と反対側のペグに関係する細胞がほとんどであったのに対し、線条体から記録された神経細胞では、反対側のペグと同程度に同側のペグにも反応していた。以上の結果から、左右の脚のリズムから統合リズムを形成するための神経活動としては、大脳皮質運動野よりも線条体の神経細胞のほうが適していると考えられる。

そこで、線条体の神経活動に外乱を起こすような光刺激を行った。具体的には、光刺激に反応するイオンチャネルであるチャンネルロドプシンを大脳皮質に発現させ、反対側の線条体に光ファイバーを挿入して光を照射することにより、大脳皮質-線条体投射神経細胞のみを特異的に光刺激した。この実験には、ホイール内に光ファイバーを挿入し、走行中でも光ファイバーを頭蓋に安定させることが必要であるので、そのためのシステムを構築してマウスが安定して走行できることを確認した。走行中のマウス線条体に光刺激を行い、運足にどのような影響がでるかを確認してきた。まだ結果が安定していない部分もあるが、光刺激のタイミングを特定の運足タイミングにあわせて刺激するなどの実験を行っており、周期や位相に影響がでるような刺激条件を探索している。

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 4 件)

Beer Z., Chwiesko C., Kitsukawa T., Sauvage M.M. Spatial and stimulus-type tuning in the LEC, MEC, POR, PrC, CA1, and CA3 during spontaneous item recognition memory. *Hippocampus*. 査読有、23, pp1425-1438, 2013. doi: 10.1002/hipo.22195 Epub 2013 Sep 18.

Nakamura N. H., Flasbeck V., Maingret N., Kitsukawa T., Sauvage MM. Proximodistal segregation of nonspatial information in CA3: preferential recruitment of a proximal CA3-distal CA1 network in nonspatial recognition memory. *J Neurosci*. 査読有、10: 33(28), pp11506-14, 2013. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4480-12.2013.

Hirano K., Kaneko R., Izawa T., Kawaguchi M., Kitsukawa T. Yagi T. Single-neuron diversity generated by Protocadherin-b cluster in mouse central and peripheral nervous systems. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 査読有、5: 90, pp1-13, 2012. doi: 10.3389/fnmol.2012.00090. eCollection 2012.

Kitsukawa T., Nagata M., Yanagihara D., Tomioka R., Utsumi H., Kubota Y., Yagi T., Graybiel A. M., Yamamori T. A novel instrumented multipeg running wheel system, Step-Wheel, for monitoring and controlling complex sequential stepping in mice. *J Neurophysiol*. 査読有、106: pp479-487, 2011. doi: 10.1152/jn.00139.2011. Epub 2011 Apr 27.

[学会発表](計 2 件)

Kitsukawa, T., Yagi, T. Matching network: A brain micro-circuit model constructed by combinatorial connections of neurons. 41th Society for Neuroscience Annual Meeting, 2013年11月12日, San Diego.

Kitsukawa, T., Yagi, T. Combinatorial matching network, a hypothetical brain micro-circuit inspired by combinatorial expression of diversified adhesion molecules. 40th Society for Neuroscience Annual Meeting, 2012年10月14日, New Orleans.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：FEATURE EXTRACTION DEVICE,
FEATURE EXTRACTION METHOD AND
PROGRAM FOR SAME

発明者：八木健、木津川尚史、

権利者：

種類：US2013/0212053A1

番号：13/880,189

出願年月日：2011/10/18、 移行日 2013/04/18

国内外の別： 国際

取得状況(計 1 件)

名称：特徴抽出装置、特徴抽出方法、及び、その
プログラム

発明者：八木健、木津川尚史、

権利者：

種類：取下優先擬制

番号：特願 2010-234064

取得年月日：2012/01/18

国内外の別： 国内

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木津川尚史 (KITSUKAWA, Takashi)

大阪大学・大学院生命機能研究科・准教授

研究者番号：10311193

(2) 研究分担者 なし

()

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし

()

研究者番号：