

山梨県若手研究者奨励事業費 研究成果概要書

所属機関 山梨大学 大学院総合研究部医学域
生理学講座 神経生理学教室

職名・氏名

真仁田 聡



1 研究テーマ

小脳回路による運動学習機構の解明

2 研究の目的

これまでに前庭動眼反射などの反射運動と小脳の関係は詳細に研究され、プルキンエ細胞へ入力する登上線維がエラー情報を運ぶことが示されているが、より複雑な運動については明らかでない。本研究は、前肢到達運動中の神経活動を詳細に観察し、その神経回路メカニズムを明らかにするために必要な頭部固定下におけるマウスを用いた到達運動課題の開発を目的とした。

3 研究の方法

マウスは前肢を用いて目の前に配置してあるエサまで手を伸ばし、エサをつかみ、口まで運ぶことができる。この到達運動中の小脳の神経活動をホールセル記録法や二光子レーザー顕微鏡によるカルシウムイメージング法などによって観察するために、マウスの頭部固定下においてこの運動を遂行させるための実験系を確立する。まず、頭蓋骨に歯科用セメントを用いて頭部固定のための金属片を取り付ける。手術の回復を経た後、頭部固定下において訓練させることで、顕微鏡下での前肢到達運動を可能にする。

4 研究の成果

1. 自動で報酬が提示される装置の開発とその性能評価

アガー作製・提示装置（大きさ：幅 50cm × 奥行き 22cm × 高さ 40cm）を作製した。この装置によって作られるアガブロックは重さ 6mg（標準偏差）の精度で、また 1mm 以下（標準偏差）の精度で提示できることが分かった。

2. マウスに到達運動を行わせるためのトレーニング法の検討

上記のアガー作製・提示装置を用いてマウスに到達運動を行わせるために、マウスの到達運動トレーニング法を検討した。その結果、およそ一週間でマウスは頭部固定下においてもアガー作製・提示装置で作られたアガーをつかめることが分かった。

留意事項

① 3枚程度で作成してください。

② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

3. 到達運動の観察

本研究で作製したアガー作製・提示装置を用いてマウスの到達運動を観察した。アガブロックをうまくつかめず、アガブロックを落下させてしまう場合（失敗）とうまくつかめた場合（成功）を観察することができた。

4. 到達運動中の神経活動の観察

到達運動中の脳活動を観察するために、GCaMP3 というカルシウム蛍光タンパク質を発現する遺伝子改変マウスと二光子レーザー顕微鏡を用いてカルシウムイメージングを行った。その結果、マウスが到達運動を行っている際にプルキンエ細胞のカルシウム応答が観察された。さらに小脳の分子層とよばれる部位に存在するインターニューロンの活動も到達運動中に変化することが明らかになった。

5 今後の展望

- ① より詳細に到達運動中の前肢の動きを定量する。2台のカメラによって測定された前肢の連続画像から、腕や手のひらの位置、速度、加速度を求める。これらのパラメータが到達運動の成功、失敗時に規則的な違いがあるか検討する。例えば失敗時には手の速度が成功時と比べて速いといったことが予想される。また、同じ条件で到達運動を練習させ、十分成功率が高くなった後、アガブロックの大きさや固さ、提示される場所を変えると到達運動の成功率やこれらのパラメータに変化が見られるか検討する。
- ② 前肢の動きのパラメータと神経活動の相関を検討する。本研究でも示したように、到達運動中にカルシウムイメージング法により神経活動を観察することができるので、その神経活動から前肢の動きを予測できるか検討する。観察対象の神経細胞もプルキンエ細胞やインターニューロンだけでなく、小脳回路を構成する他の神経細胞にも注目する。
- ③ 大脳皮質運動野の神経活動を抑制すると運動ができなくなり、また活動を促進すると運動が誘起されることから、運動野はより直接的に筋肉へ運動情報を送っていると考えられている。さらに精密な運動には運動野や小脳との相互的な情報のやりとりが重要であると考えられている。そこで到達運動中に小脳と運動皮質の活動を同時に観察し、前肢の動きのパラメータと小脳・運動皮質の活動との相関も検討する。すでに予備的実験により同時にこれらの脳部位から神経活動を観察することに成功している。今後の研究により到達運動における小脳・運動野の神経回路メカニズムを明らかにできるよう挑戦したい。

6 研究成果の発信方法（予定を含む）

本研究は、2017年3月28日～30日に開催された第94回日本生理学会大会（アクトシティ浜松、静岡）にて発表された。

タイトル「頭部固定下におけるマウスを用いた到達把持運動課題の開発」

著者：真仁田 聡，池添 貢司，喜多村 和郎

所属：山梨大・神経生理

発表形式：ポスター発表

留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

また、本研究は2017年7月20日～23日に開催予定の第40回日本神経科学大会(幕張メッセ、千葉)にて発表される。

タイトル:「マウス到達把持運動における小脳活動の観察」

著者:真仁田 聡, 池添 貢司, 河口 大洋, 喜多村 和郎

所属:山梨大・神経生理

発表形式:ポスター発表

留意事項

- ①3枚程度で作成してください。
- ②特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。