



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マウス運動野における運動準備の神経メカニズムの研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	長谷川, 征史
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(文学)
Dissertation Number	乙第7042号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70414
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Masashi_Hasegawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（文学）

氏名：長谷川 征史

学位論文題名

マウス運動野における運動準備の神経メカニズムの研究

【本論文の観点と方法】

私たちが何らかの動作を行う際、次に行う動作をあらかじめ準備することで、円滑に素早く、その動作を開始することができる。例えば陸上競技で、「位置について」、「用意」、「ドン」という一連の号令で走り出す際、「用意」で走り出す準備をすることにより、続く「ドン」の合図とともに素早く走り出すことができる。このように、何らかの動作を実行する前にその動作の準備をすることで、効率的に次の動作を開始することが可能となる。本研究は、運動準備状態における大脳皮質運動野の神経細胞集団の活動を解析することにより、運動準備状態の脳内神経メカニズムを解明することを目的として行われたものである。

この研究目的を達成するため、長谷川氏は実験用マウスの頭部を固定し、運動準備状態を観察できる行動課題実験を開発した。「用意」の合図で手をホールドバーに置き、「ドン」の合図で手を伸ばしてターゲットバーに触れるというリーチング課題である。さらに、手を用いた運動を行う上で、大脳皮質の前肢運動野が必要であることを同部位の不活化実験により明らかにした。その上で、2光子カルシウムイメージングという神経科学の手法を導入し、手を伸ばすリーチング運動の準備状態にあるマウスから、前肢運動野にある神経細胞集団の神経活動を記録した。本学位申請論文は、これら神経細胞集団の活動を解析することにより、運動準備状態が形成される脳内神経メカニズムを解明したものである。

【本論文の内容】

第1章「序論」では、運動準備の神経メカニズムに関する先行研究が概観されており、大脳皮質運動野の神経活動が重要な役割を担っていることがレビューされている。しかし近年、個々の神経細胞活動ではなく、神経細胞集団という新たな枠組みで運動準備の神経メカニズムを捉えようとする試みが盛んになり、神経細胞集団の活動を記録できる技術として、2光子カルシウムイメージング法を提案している。長谷川氏は2光子カルシウムイメージング法のメリットを紹介し、本研究への導入理由を述べている。

第2章「運動準備課題の開発と実験妥当性の検証」では、頭部を固定した実験用マウスを対象にした運動準備を必要とする行動課題について述べている。この課題では、マウスが手前にあるホールドバーに手で触れると、「用意」を意味する音刺激が提示された。マウスはホールドバーに触れたまま待ち続け、音刺激の音圧が上昇する「ドン」の合図とともにホールドバーを放し、直ちに遠くにあるターゲットバーに触れることが求められた。「用意」を示す音刺激が提示されてから、その音圧が急に上昇する「ドン」の合図までが運動準備期間となる。さらに、この課題の遂行に大脳皮質前肢運動野が必要であるのかどうかを検討するため、神経活動を抑制する薬剤ムシモールを同部位に投与した。その結果、マウスは「ドン」の合図があってもホールドバーから手を放そうとしなかった。これらのことから、大脳皮質前肢運動野がリーチング課題の遂行を制御していることを実験的に証明したと述べている。

第3章「2光子カルシウムイメージング法を用いた運動準備の神経メカニズムの検討」では、第2章で開発した行動課題の遂行中に2光子カルシウムイメージングを行い、マウスの前肢運動野の神経細胞集団がどのように活動することで運動準備が形成されるのかを実験的に検討している。

「2光子カルシウムイメージング法」では、まずマウスの大脳皮質運動野に、カルシウム感受性蛍光タンパク質の遺伝子を持ったウイルスを注入し、神経細胞にカルシウム感受性蛍光タンパク質を発現させた。この蛍光タンパク質は、ある波長の光を吸収するとエネルギーの高い状態になり、蛍光を発して光ようになる。通常、蛍光物質は1つの光子（フォトン）のエネルギーを吸収して光を発する。しかし1個のフォトンが持つエネルギーより弱いエネルギーを持ったフォトンで2回照射することでも、蛍光物質は十分なエネルギーを吸収し光を発することができる。この場合、2本の光が交差する部分にピンポイントでエネルギーを集中し、特定の神経細胞の活動を記録することができるのである。もしカルシウム感受性蛍光タンパク質を発現した神経細胞が運動準備中に活動すると、大量のカルシウムが神経細胞内に流入し、この蛍光タンパク質と結合してより強い蛍光を発して光ようになる。すなわち、神経細胞の活動によって生じる細胞内カルシウム濃度の上昇を、明るさの変化として捉え神経細胞の活動を記録することができるようになる。

その結果、神経細胞は運動準備中の活動パターンによって3種類、すなわち活動増強型（build-up）神経細胞、指示反応型（instruction-responsive）神経細胞、およびその他の神経細胞に分類できた。このうち活動増強型神経細胞は、運動準備状態が十分か不十分かに関わらず神経活動が増加した。残りの指示反応型神経細胞とその他の神経細胞は、運動準備が十分な場合に神経活動が抑制された。この活動抑制により、前肢運動野の神経細胞集団で再現性の高い神経活動パターンが形成された。

以上のことから長谷川氏は、活動増強型神経細胞の活動が増加するだけでなく、指示反応型神経細胞とその他の神経細胞の活動が抑制されることによって、次の運動を行うための効果的な準備状態が形成されると述べている。

第4章「総合考察」では、第2章および第3章の実験結果をまとめ、本研究の結論が次のように述べられている。

1. 前肢運動野には、運動の準備状態に依存せず運動開始に向けて徐々にその活動が増加する活動増強型神経細胞と、運動準備が十分なされているときにその活動が抑制される指示反応型神経細胞とその他の神経細胞が存在する。
2. 運動準備が十分な状態では、指示反応型神経細胞とその他の神経細胞の活動が抑制されることで、前肢運動野の神経細胞集団で再現性の高い神経活動パターンが形成される。
3. 運動の準備状態が最適化されるには、指示反応型神経細胞とその他の神経細胞の活動が選択的に抑制されることこそが重要である。

最後に本研究の問題点に触れ、今後の展望が次のように述べられている。

1. 今回は大脳皮質運動野の2層、3層、および5a層のイメージングを行ったが、今後は脊髄への出力細胞がある5b層のイメージングが必要である。
2. 観察された神経活動パターンから、活動増強型神経細胞、指示反応型神経細胞およびその他の神経細胞に分類したが、今後これらの神経細胞の解剖学的および遺伝学的特徴の検討を行う必要がある。
3. 観察された神経活動が、あらゆる運動の準備状態に普遍的に生じるものなのかを解明する必要がある。