

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名：最先鋭技術で探る運動皮質回路の時空間表現と光制御

2. 研究代表者：松崎 政紀（自然科学研究機構基礎生物学研究所 教授）

3. 研究概要

本研究の目的は、随意運動が発動される際の、大脳皮質高次運動野、一次運動野および小脳皮質における運動関連ニューロン群の運動表現が、脳内神経回路においてどのように形成・維持・実行されるかを、ニューロン活動のイメージング、電気生理学的計測、および光遺伝学的実験法により解明することである。このために、小動物(ラットとマウス)を対象として、(1)適度に複雑な自発運動課題を覚醒・頭部固定状態で行わせる方法の開発、(2)2光子カルシウムイメージングによる運動関連ニューロン活動の可視化、(3)パッチクランプによる回路内シナプス結合の定量的解析、(4)光活性型分子の光刺激による細胞活動と運動制御のための実験法の実行を行う。従来、覚醒動物を対象とする運動準備・開始・実行に関する神経機構の研究は、主として電気生理学的な単一ニューロン活動の記録法によって行われてきたために多くの制約があったが、本研究では、光イメージング法と光分子制御法を駆使することにより、運動関連脳皮質のニューロンが細胞集団として担う運動情報コーディングのメカニズムを明らかにすることが可能となる。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況及び研究成果の現状

本研究チームは研究代表者のグループと玉川大学の礒村グループにより構成されており、前者が主として光イメージング法と光分子制御法の実験を担当し、後者は電気生理学的研究を担当している。両グループは共同して、頭部固定動物における自発運動課題の開発とそれらを光イメージングおよび電気生理学的実験に活用するための諸技術の開発を効率的に進めている。

これまでの重要な成果は、マウス前肢レバー引き内発性運動課題を開発し、課題遂行中に 2 光子カルシウムイメージング法により、大脳皮質一次運動野(M1)および高次運動野(M2)の 2/3 層で、課題関連ニューロン群を同定し、レバー引き期間中にこれらのニューロン群のポピュレーション活動が空間的にクラスター化すること、およびクラスター内細胞集団はより多くのレバー引き運動情報をもつことを見出したことである。この結果は、運動課題実行中に運動野局所回路内で回帰性シナプス結合等により機能クラスターが動的に形成されることを示唆する。また、ウイルスベクター(AAV)使用による蛍光タンパク質カルシウム指示薬(GCaMP)の導入により、第 5 層ニューロンからの長期的カルシウムイメージングが可能となり、学習過程における 2/3 層、5 層ニューロンの活動再編過程を追跡する研究を開始している。一方、礒村グループは、運動課題遂行中のラット M1、M2 全層の運動関連ニューロン発火活動を電気生理学的手法によりミリ秒単位の時間精度で解析し、運動情報処理における M1 と M2 の機能連関を明らかにする研究、および運動課題遂行中の運動野ニューロンからのホールセル膜電位記録法の開発を着実に進めている。

4-2. 今後の研究に向けて

これまでの研究では、マウスまたはラットの自発運動課題の開発、頭部固定・覚醒動物における安定的な 2 光子イメージング法の確立、AAV-GCaMP 導入による深層ニューロンからの長期・安定的カルシウムイメージング法の開発など種々の先端的技術開発が行われた。今後は、この方法を活用して、特に、随意運動発現における M1 と M2 の動作原理を明らかにすることが本研究課題の課題である。

大脳皮質の第 2/3 層の細胞群活動のクラスター化は重要な皮質機能のメカニズムを担っている可能性を示しているので、今後見出された「現象」がどのような機能の基盤となるのかを明らかにすることが望まれる。具体的には、M1 では特定の筋肉や筋肉群を支配している錐体細胞があることが知られているが、レバー引きなどの運動指令を皮質下に出力する 5 層錐体細胞の活動を生み出すために、(1)2/3 層の細胞集団がどのような皮質内、

皮質間そして視床入力情報を担い、それらを統合しているのか、(2) 2/3 層および 5 層の活動特性は、随意運動の実行や学習によってどのように再編成されるのか、などについて具体的な答えを与えることが期待される。

また、研究提案がされた当初から、随意運動の発現に当たっての、M1 と M2 の機能分担の解明が注目されていたが、現在のところ研究代表者グループの 2 光子カルシウムイメージングの実験結果と磯村グループの電気生理学的解析のいずれにおいても、機能的に大きな差異を見出していない。むしろ、げっ歯類の M1 と M2 においては、霊長類の運動前野と一次運動野に見られるような機能分化はなく、両者は協調して運動情報処理を行っている可能性が示唆されている。この課題の解決には、2 光子イメージングと電気生理学的解析の併用による M1 と M2 の全層のニューロン活動の解析のほかに、M1 と M2 の運動関連ニューロンの神経結合(局所回路内、M1/M2 間、および視床、線条体、皮質下諸核などとの神経結合)を明らかにすることが必要である。この点については、チャネルロドプシン 2 の発現後の 2 光子刺激による運動関連ニューロン間の機能結合の解析が計画されているが、この分野の解剖・生理学的研究で優れた実績をもつ川口チームとの共同研究の発展に期待する。

4-3. 総合評価

当初の研究目標の達成のためには、新しい方法論の開発が必須であり、時間を要してきたが、この研究方法の開発は高いレベルで達成された。方法論の開発を除くと、現在までの成果としては、M1 および M2 の 2/3 層で、課題関連ニューロン群を同定し、レバー引き期間中にこれらのニューロン群のポピュレーション活動が空間的にクラスター化することを見出したことが主なものであり、M1、M2 の機能連関の解明という点で、計画達成にやや遅れが見られる。しかしながら、GCaMP の遺伝子導入で、2/3 層のみならず、5層での細胞活動の継時的なイメージングが可能となり、運動学習期間での皮質ニューロン活動の再編過程を明らかにできる可能性が生まれたことなどにより、今後の研究で、新しい方法論に基づく画期的な成果の生まれることが期待できる。