

様式1-5-1

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
平成15年度共同研究者派遣実施報告書 [研究分野: ②]

1. 所属機関・職名・氏名: 基礎生物学研究所・助手・木津川尚史
2. 研究課題名: 運動学習における大脳皮質－基底核連関の電気生理学的解析
3. 米国側研究機関・共同研究者:
Department of Brain and Cognitive Sciences,
Massachusetts Institute of Technology,
Professor, Ann M. Graybiel
4. 派遣期間: 平成15年 7月15日 ～ 平成16年 3月24日

5. 研究の概要, 成果および意義(1000字):

基礎生物学研究所において開発したホイール走行装置をアメリカに輸送し、この装置内で走行しているマウスの大脳皮質および線条体から神経活動を記録して、複雑な走行運動が脳内でどのようにコードされるかを解析することが共同研究の目的である。本派遣期間では、共同研究の初期段階としてお互いの理解の深化と装置のセットアップに重点を置いた。

ホイール走行装置はマウスのステップパターン(足取り)を制御するために開発された装置で、この装置を用いると実験者はマウスに任意の連続したステップを行わせることが可能であり、マウスにさまざまなステップパターンを学習させることができる。このような連続運動、パターン学習には線条体が関与していると考えられているが、その神経基盤には不明な点が多い。

派遣先の Graybiel 研究室は大脳皮質－基底核連関の構造解明、機能解析を進めてきた研究室であり、従来の組織化学的手法に加え、近年は行動中の動物の脳から神経活動を記録する電気生理学的手法を導入して成果をあげている。ホイール走行装置において一定のステップパターンで走行するマウスの線条体から神経活動を記録することにより、線条体がどのように運動、特にパターン運動をコードしているかについて知見を得ることが可能ではないかと考え、Graybiel 研究室と共同研究を開始することになった。

現地では、まずホイール装置を電気生理学的解析に使用できるようにするにはどのような改良が必要か討論し、マウスの走行状況およびマウスがそのとき走行しているペグ(マウスの足場)の配列をリアルタイムで把握できるように装置を改造することになった。具体的には、赤外線センサーをホイールの5ヶ所に設置して、マウスの位置とペグの進行状況をモニターできるようにした。また神経活動の記録に必要なコード類をホイール内に導入できるようにするなどの変更を装置に加えた。このように改造したホイール走行装置を用いて線条体にテトロードを導入したマウスを走行させ、神経活動とペグ配列を比較した。その結果、ペグの配列に関係するような興味深い神経活動をいくつか観察することができた。

今後はさらにデータ数を増やすとともに、得られた神経活動がどのようなイベント(ペグ配列など)によって引き起こされたものであるかを詳細に解析することが必要と考えている。この研究により線条体の運動制御機構の一端を明らかにできると考えている。

6. その他(実施上の問題点, 特記事項)

マウス走行運動学習装置について および 背景

筆者らは基礎生物学研究所において、運動の学習を担う神経回路を明らかにすることを目的として、マウスを用いた走行運動学習装置であるホイール走行装置を作製してきた。この装置ではマウスは一定のスピードで回転するホイール中を、報酬となる水を摂取するために走行する。マウスの足場はホイール内に差し込まれたペグで形成されており、その配列は実験者が任意に組むことができる。マウスは水を飲み続けるためにはペグの配列パターンに従って走行しなければならない。したがって、実験者はペグパターンを規定することによりマウスのステップパターンを決定できる。マウスの走行パフォーマンスを、ペグから足を踏み外した時間の測定により解析したところ、ペグの配列パターンを変更した直後にパフォーマンスが低下し、その後徐々に改善していくことが観察された。このような結果から、マウスはペグの配列パターンを学習していると考えている。

基礎生物学研究所においては、パターン変更時に特異的に活動する神経回路を同定するために、この装置で走行したマウスの脳を c-Fos の発現を指標としていくつかの組織学的手法を組み合わせて解析を進めてきた。組織学的手法は神経回路を同定する上で多くの利点を持っており、実際この手法を用いてペグパターン変更時に特徴的に活動性が高まる神経回路をいくつか同定することができた。

しかしながら、そのように同定された神経回路がどのような情報を持っているのか、また機能は何なのかについて解析するには組織学的手法には限界があり、電気生理学的手法を用いた解析を導入する必要性を感じていた。

そんな折にオーランドで開催された北米神経科学会(2002)で Graybiel 教授と知己を得てホイール走行装置を紹介する機会があり(私のポスターの隣が Graybiel 研のポスターだった)、パターン運動をつくりだす運動学習系として高く評価していただいた。学会後に電気生理学的解析をさせてほしいとお願いして話が急激に進み共同研究をするに至った。アメリカへわざわざ出かけてまでポスター発表もしてみるものだなあと本当に思った。

ホイール走行装置のセットアップに関して

共同研究を行った Graybiel 研究室の現在の実験手法の主流は覚醒動物(マカク、ラット、マウス)を用いた電気生理学であり、行動中のマウスから神経活動を記録する手法を確立している世界的に見ても数少ない研究室の一つである。電極、ヘッドステージの作製から神経活動の記録まで、電気生理実験について学ぶことは非常に多く時間もかかったが、全体的にかなりシステム化されており、ホイール走行装置を走るマウスに適用するのにそれほど大きな問題は起こらなかった。もちろんラボの人々の多大な協力あってこそである。

一方、相当に手を加えねばならなかったのはホイール走行装置のほうであった。ホイール走行装置はもともと電気生理学的解析を念頭において作製したものではないため、時間的精密さが求められる電気生理実験に適用するために多くの点で改良する必要があった。実際には、日本から輸送した実験装置を改造して周辺装置類をセットアップすることに派遣期間の大半が費やされた。実際にホイール装置を見てもらいながら討論した結果、前述のように、赤外線センサーを用いてマウスの走行状態、ペグの進行状況をモニターすることになったが、どのように作業を進めるかについては難しい点もあった。

ホイール走行装置は基礎生物学研究所において作製したものであるが、実際の作製は小原医科産業(東京)となかば共同作業のようにして作り上げてきたものである。装置の改造は一步間違

うと取り返しのつかないロスが出る恐れがある。そこで、赤外線センサーについても装置を熟知している小原医科産業に作製をお願いした。行動モニター用のコンピュータプログラムを組みながら試行錯誤しつつ装置を改造していったので、小原医科産業への注文も何回かやりとりしながら進められた。日本との情報のやりとりや装置類の送付など時間のロスがでることもあったが、総合的に見て結局はこの方法で装置を改造して正解だったと思う。

その他

Graybiel 研究室は脳皮質―脳基底核連関について主として組織学的解析により世界をリードしてきた研究室であるが、近年は行動実験下のマカク、ラット、マウスから神経活動を記録して電気生理学的に機能解析を行っている。

私自身が組織化学的手法を主な実験手法として用いていることもあり Graybiel 研究室のイメージは組織化学のラボというものだったが、実際に研究室を訪れてみて研究室の主力が電気生理になっていることを知り驚いた。

私は電気生理学的手法を習いに行ったわけなのでその手法を用いている人が多いことはもちろん好ましいことであつた。しかしそれ以上にラッキーと思ったことは、Graybiel 研がもともと解剖学・組織学をメインとしてきた研究室だけに、私が基礎生物学研究所で得た組織学的解析結果についても十分な理解を得ることができたことである。

私には覚醒動物を用いた電気生理実験の経験が全くなかったので、ある意味で未知の研究分野に飛び込んだことになるが、それほど違和感を感じずに過ごすことができたのはこのような理由からだろうと思う。自分にとってとても良い研究室に行くことができたと思っている。