

論文の内容の要旨

論文題目

脊髄小脳変性症3型トランスジェニックマウスにおける姿勢障害

Postural dysfunction in spinocerebellar ataxia type 3 transgenic mice

氏名 山浦 洋

立位姿勢は中枢神経系の傷害により著しく障害される。中枢神経系において、小脳は姿勢および歩行の適応制御に重要な役割を果たしている。上下肢による様々な動作を行う際、姿勢制御は意識されることはほとんどないが、重要な役割を果たしている。姿勢制御における小脳の機能を調べる研究は、主として小脳疾患患者と健常者とを運動学的に比較することで行われてきた。小脳疾患患者においては、立位姿勢の障害、被験者が直立している台を傾ける等の外乱を与えた際の姿勢制御の障害などが報告されている。これらの研究は床反力から足圧中心あるいは身体重心を解析する、また被験者の体にマーカーを付けて関節角度を計測することにより運動学的に解析している。小脳疾患には遺伝性疾患があり、その主たる疾患が脊髄小脳変性症である。遺伝性疾患は原因遺伝子が同定されている場合が多く、近年、様々な遺伝性小脳疾患のマウスモデルが作製されている。これらのマウスは、神経変性のメカニズムを調べるためおよび疾患の治療法を試験するために用いられている。しかしながら、小脳疾患マウスモデルにおける運動能力評価においては床上歩行での足跡の計測および回転棒課題が簡易的に用いられており、姿勢の厳密な運動学的解析および筋電図解析はほとんど行われていない。

姿勢制御には2つの様式、すなわちフィードバック制御およびフィードフォワード制御がある。立位時や外乱に対する姿勢制御のように体性感覚情報に基づき姿勢を維持し続けるような姿勢制御は、主としてフィードバック制御によるものと考えられる。一方、ヒトが立位時に遠くの物に手を伸ばす際、中枢神経系は手を伸ばす主動作によって引き起こされる内乱および重心動揺を事前に予測し、全身の姿勢を安定させる必要がある。このような随意運動に随伴した姿勢制御は、予測的な姿勢制御でありフィードフォワード制御によるものと考えられる。しかしながら、小脳が随意運動に随伴した姿勢制御にどのように寄与するのかについてはほとんど解明されていない。

本研究では、マウスにおける姿勢課題を新たに構築し、フィードフォワード姿勢制御であると考えられる随意運動に伴った姿勢制御における小脳の役割について小脳疾患マウスモデルを用いて明らかにすることを目的とした。

第2章では、マウスにおける新規の姿勢課題について述べた。マウスの姿勢実験を行うために、実験装置として透明なアクリル製ボックスを製作した。姿勢実験用ボックスにはマウスが水を飲むための水筒を取り付けることができる。姿勢実験用ボックスのマウスを入れる空間の下方には鏡が取り付けられており、マウスの四肢の配置も観察することが可能である。本研究において3つの姿勢課題を構築した。1) マウスが四肢での立位姿勢を維持する課題（安静立位時）、2) マウスが四肢での立位により水筒の飲み口から水を飲んでいる状態で立位姿勢を維持する課題（水飲み時）、3) 四肢での立位姿勢において水筒の飲み口に頸部を背屈させることにより口を運ぶ課題（口の到達動作課題）の3つである。計測は、マウスの右後肢の6箇所（腸骨稜、大転子、膝関節、外果、第5中足骨、つま先）にマーカーを装着し、高速度デジタルカメラを配置し課題時のマウスの動作を側面より撮影した。股関節、膝関節および足関節の関節角度、大転子位置の変動や各関節角度の変動ならびに口先位置の軌跡を解析した。胴体下を撮影することにより後肢間、前肢間の足底間距離を解析した。安静立位時、水飲み時および口の到達動作課題時において、正常マウスは後肢が動いていないことが観察された。

第3章では、新たに構築した姿勢課題を用い、正常マウス、小脳疾患マウスモデルおよび後肢筋萎縮マウスの姿勢を比較した結果について述べた。脊髄小脳変性症の中で最も一般的なタイプが脊髄小脳変性症3型（Spinocerebellar ataxia type 3; SCA3）である。SCA3は原因遺伝子座が同定されており、ヒトのSCA3遺伝子を遺伝子工学的に野生型マウスに組み込んだトランスジェニックマウスが既に作製されている。本研究においては、L7プロモーターを用いることで69回のCAG繰り返し配列をもつ変異 *ataxin-3* を小脳プルキンエ細胞のみに発現させるトランスジェニックマウス（SCA3Tgマウス）を作製した。先行研究において、SCA3患者は高い頻度で筋萎縮を呈することが報告されている。本研究で用いるSCA3Tgマウスも筋萎縮を呈している可能性が考えられた。実際にSCA3Tgマウスは後肢の筋肉の萎縮を呈していた。後肢筋の萎縮が姿勢制御に及ぼす影響についても調査するために、正常マウスの後肢を固定することで後肢筋萎縮マウスを作製した。第2章の姿勢課題を用い、正常マウス、SCA3Tgマウスおよび後肢筋萎縮マウスの姿勢を比較した。安静立位時および水飲み時に関して、後肢の大転子位置の変動および各関節角度の変動について調査したところ、SCA3Tgマウスの後肢の大転子位置の変動および各関節角度の変動が正常マウスに比べ大きかった。口の到達動作課題においてSCA3Tgマウスは口の軌跡が著しく変動し、その際のSCA3Tgマウスの後肢の大転子位置および各関節角度の変動は正常マウスに比べ大きかった。安静立位時、水飲み時および口の到達動作課題において、後肢筋萎縮マウスはSCA3Tgマウスのような後肢の大転子位置および各関節角度の著しい変動を示さなかった。安静立位時および水飲み時のSCA3Tgマウスの後肢の変動として表れた姿勢障害は

小脳疾患患者の姿勢障害と類似したものであった。口の到達動作課題において、SCA3Tg マウスは後肢の各関節角度が変動し各関節を固定することができないことから、随意運動に伴った姿勢制御が障害されていることが示唆された。後肢筋萎縮マウスが SCA3Tg マウスのような姿勢障害を示さなかったことから、SCA3Tg マウスの姿勢障害は後肢筋の萎縮が原因で生じているのではなく、小脳の機能障害が主な原因であると考えられた。

第4章では、口の到達動作課題時の正常マウスおよび SCA3Tg マウスの筋電図解析について述べた。ヒトおよびネコにおける随意運動に伴った姿勢制御の研究では筋電図解析が適用されている。本研究で新たに構築した口の到達動作課題は、マウスにおいて随意運動に伴った姿勢制御を調査するのに適した課題であると考えられる。また、SCA3Tg マウスは小脳プルキンエ細胞特異的な L7 プロモーターを用いているため中枢神経系の傷害は小脳に限られている。本章は、随意運動に伴った姿勢制御に小脳がどのように寄与するのか明らかにするために、口の到達動作課題時の正常マウスおよび SCA3Tg マウスの筋電図解析を行った。正常マウスおよび SCA3Tg マウスにおける口の到達動作課題時の頸部および後肢（腓腹筋、前脛骨筋、大腿二頭筋、外側広筋）の筋電図を双極ワイヤー電極を用いて記録・解析した。口の到達動作開始に着目したとき、正常マウスは頸部と後肢の各筋の活動が同期して生じ、SCA3Tg マウスにおいては後肢の各筋の活動が頸部の筋活動より遅延していた。マウスにおける口の到達動作課題は、口を水筒の飲み口に到達させる頸部の筋活動に伴って四肢の筋活動の適切な発現により姿勢を安定させる必要がある。正常マウスとの比較により、SCA3Tg マウスは随意運動に伴った姿勢制御に関わる筋活動の発現を適切に行えていないことが示唆された。

第5章では総括論議として、姿勢制御における小脳の役割について議論した。安静立位時および水飲み時において、SCA3Tg マウスは正常マウスのように姿勢を安定に維持することができなかった。安静立位時および水飲み時の姿勢維持は主として体性感覚受容器からの求心性情報に基づいてフィードバック制御されていると考えられる。小脳は背側脊髓小脳路を介して体性感覚情報を受け取り、脊髓小脳ループが姿勢維持のための制御に重要な役割を果たしていることが示唆される。口の到達動作課題において、正常マウスと比べ、SCA3Tg マウスは著しい後肢の変動を示し、頸部の筋の活動開始を基準とした後肢筋の活動開始時刻が遅延した。随意運動に伴った姿勢制御に小脳が重要な役割を果たしていることが示唆された。姿勢制御に重要な役割を果たす領域である小脳虫部は、大脳皮質運動野からの投射を受けることが先行研究において示されている。口の到達動作課題においては、主働筋である頸部の筋の運動指令は大脳皮質運動野から脊髓へと送られ、その一方で、小脳虫部へは大脳皮質運動野から橋核を介して頸部の筋の運動指令の遠心性コピーが送られるのではないかと推測される。小脳虫部は頸部の筋への運動指令の遠心性コピーに基づいて、網様体脊髓路および前庭脊髓路等を介して、随意運動に伴った後肢の筋活動の調節、すなわち姿勢のフィードフォワード制御に寄与していると推測される。

まとめとして、本研究においては、マウスの姿勢課題を構築し、運動学的解析および筋電図解

析を行った。安静立位時および水飲み時における SCA3Tg マウスの姿勢障害はヒトの小脳疾患患者の特徴と同様であった。したがって、SCA3Tg マウスはヒトの小脳疾患患者における姿勢障害のモデルとなり得ると結論する。また、口の到達動作課題時の正常マウスおよび SCA3Tg マウスの筋電図解析より、小脳からの下行性出力は筋活動を発現するタイミングを適切に制御し、随意運動に伴った姿勢制御に重要な役割を果たしていることを示した。本研究において得られた結果は、小脳疾患の治療方法を検討する際に貴重な知見を提供できると考える。